



**HAL**  
open science

# Développement d'un lab-on-chip pour la mesure d'acidité libre de solutions chargées en cations hydrolysables

José Antonio Neri Quiroz

► **To cite this version:**

José Antonio Neri Quiroz. Développement d'un lab-on-chip pour la mesure d'acidité libre de solutions chargées en cations hydrolysables. Chimie analytique. Université de Lyon, 2016. Français. NNT : 2016LYSE1247 . tel-01586535

**HAL Id: tel-01586535**

**<https://theses.hal.science/tel-01586535>**

Submitted on 13 Sep 2017

**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.



N°d'ordre NNT : 2016 LYSE1247

**THESE de DOCTORAT DE L'UNIVERSITE DE LYON**  
opérée au sein de  
**l'Université Claude Bernard Lyon 1**

**Ecole Doctorale de Chimie, procédés, environnement**

**Spécialité de doctorat : Chimie**

(Arrêté du 25 mai 2016)

Soutenue publiquement le 25/11/2016, par :  
**José Antonio NERI QUIROZ**

---

**Développement d'un lab-on-chip pour la  
mesure d'acidité libre de solutions  
chargées en cations hydrolysables**

---

Devant le jury composé de :

**Demesmay, Claire**

Professeur/ Université Claude Bernard Lyon 1

Présidente du jury

**Delaunay, Nathalie**

Chargée de Recherche CNRS/ ESPCI Paris

Rapporteur

**Chollet, Franck**

Professeur/ Université de Franche-Comté

Rapporteur

**Chevolot, Yann**

Directeur de recherche CNRS/ Ecole Centrale de Lyon

Examineur

**Dugas, Vincent**

Maitre de conférences/ Université Claude Bernard Lyon 1

Directeur de Thèse

**Canto, Fabrice**

Ingénieur-chercheur/ CEA Marcoule

Co-encadrant

**Tison, Erick**

Ingénieur/ AREVA

Invité



# UNIVERSITE CLAUDE BERNARD - LYON 1

## **Président de l'Université**

Président du Conseil Académique

Vice-président du Conseil d'Administration

Vice-président du Conseil Formation et Vie Universitaire

Vice-président de la Commission Recherche

Directeur Général des Services

## **M. le Professeur Frédéric FLEURY**

M. le Professeur Hamda BEN HADID

M. le Professeur Didier REVEL

M. le Professeur Philippe CHEVALIER

M. Fabrice VALLÉE

M. Alain HELLEU

## ***COMPOSANTES SANTE***

Faculté de Médecine Lyon Est – Claude Bernard

Faculté de Médecine et de Maïeutique Lyon Sud – Charles  
Mérieux

Faculté d'Odontologie

Institut des Sciences Pharmaceutiques et Biologiques

Institut des Sciences et Techniques de la Réadaptation

Département de formation et Centre de Recherche en Biologie  
Humaine

Directeur : M. le Professeur J. ETIENNE

Directeur : Mme la Professeure C. BURILLON

Directeur : M. le Professeur D. BOURGEOIS

Directeur : Mme la Professeure C. VINCIGUERRA

Directeur : M. X. PERROT

Directeur : Mme la Professeure A-M. SCHOTT

## ***COMPOSANTES ET DEPARTEMENTS DE SCIENCES ET TECHNOLOGIE***

Faculté des Sciences et Technologies

Département Biologie

Département Chimie Biochimie

Département GEP

Département Informatique

Département Mathématiques

Département Mécanique

Département Physique

UFR Sciences et Techniques des Activités Physiques et Sportives

Observatoire des Sciences de l'Univers de Lyon

Polytech Lyon

Ecole Supérieure de Chimie Physique Electronique

Institut Universitaire de Technologie de Lyon 1

Ecole Supérieure du Professorat et de l'Education

Institut de Science Financière et d'Assurances

Directeur : M. F. DE MARCHI

Directeur : M. le Professeur F. THEVENARD

Directeur : Mme C. FELIX

Directeur : M. Hassan HAMMOURI

Directeur : M. le Professeur S. AKKOUCHE

Directeur : M. le Professeur G. TOMANOV

Directeur : M. le Professeur H. BEN HADID

Directeur : M. le Professeur J-C PLENET

Directeur : M. Y. VANPOULLE

Directeur : M. B. GUIDERDONI

Directeur : M. le Professeur E. PERRIN

Directeur : M. G. PIGNAULT

Directeur : M. le Professeur C. VITON

Directeur : M. le Professeur A. MOUGNIOTTE

Directeur : M. N. LEBOISNE



## Remerciements

---

*Mes premiers remerciements vont à Vincent Dugas, Fabrice Canto, Laurent Guillaume et Alastair Magnaldo pour m'avoir accompagné, conseillé, encouragé ou contredit pendant ces trois années de thèse. Merci pour votre patience, votre disponibilité, votre bonne humeur et surtout merci d'avoir cru en moi.*

*J'exprime également toute ma reconnaissance aux membres du jury, et en particulier à mes rapporteurs Mme. Nathalie Delaunay et M. Franck Chollet, d'avoir accepté de participer au jury de soutenance ainsi que pour ses observations et précieux conseils qui me seront utiles dans la suite de mon travail.*

*Mes remerciements les plus chaleureux sont destinés à ma mère, mon père, ma sœur et mon frère, et le reste de ma famille pour leurs soutiens et leurs encouragements ; qu'ils soient certains de toute ma reconnaissance et de tout mon amour.*

*La curiosité et la motivation sont une chose vitale lorsqu'il s'agit de mener à bien une thèse, mais l'environnement dans lequel on travaille et les personnes que l'on côtoie sont tout aussi importants. C'est pourquoi je voudrais remercier chaleureusement les équipes qui m'ont accueilli à Marcoule. Merci donc à l'équipe de DRCP/SERA/LAMM, à tous mes collègues de bureau, doctorants et stagiaires pour son accueil et sa bonne humeur contagieuse. Merci à ceux que j'ai oublié ici, par distraction ou par manque de place.*

*Au terme de ce travail, mes pensées vont enfin à ceux qui ont accepté de partager leur existence avec moi et donc avec cette thèse. A tout le monde que j'ai pu croiser pendant ces dernières années et qui m'ont donné envie de me réveiller chaque matin et d'aimer la vie.*



---

TITRE en français : Développement d'un lab-on-chip pour la mesure d'acidité libre de solutions aqueuses chargées en cations hydrolysables

---

RESUME en français :

Une étude conjointe du CEA et d'AREVA la Hague a montré qu'une des voies d'amélioration majeure des usines de traitement/recyclage du combustible nucléaire usagé, actuelles et futures, concerné le domaine de l'analyse. En effet, le suivi et le pilotage des procédés déployés dans ces usines nécessitent de nombreuses analyses générant de grandes quantités d'effluents radioactifs. Réduire les volumes mis en jeu lors de ces analyses permettrait donc de réduire la nocivité des échantillons et des effluents et donc d'accroître la sûreté pour le personnel et de réduire l'impact sur l'environnement et le coût de fonctionnement des usines. Parmi toutes les analyses effectuées, la mesure d'acidité libre est la plus fréquente, car c'est un paramètre indispensable pour pouvoir piloter correctement le procédé. C'est pourquoi, ces travaux de thèse ont abouti à l'amélioration de la méthode de mesure via une réduction d'échelle de l'analyse et une automatisation du protocole de mesure. Deux voies ont été étudiées :

- le titrage par injection séquentielle (SIA), qui est un dispositif de 25 L de volume et qui par rapport à la méthode d'analyse de référence, réduit 1000 fois le volume d'échantillon nécessaire à l'analyse, 8 fois le temps d'analyse et 40 fois le volume d'effluents générés.
- le titrage ballist-mix emploie un dispositif microfluidique qui, après intégration et réduction des composants, peut atteindre un volume de 25 mL et offre des performances analytiques comparables à celles obtenues en SIA.

La méthode par SIA a été validée sur des solutions chargées en uranium alors que la technologie utilisée pour développer les titrages ballist-mix est en cours de validation. Cependant le principe opératoire du titrage ballist-mix est plus avantageux puisqu'il simplifie le travail de développement analytique du fait de la possibilité de simuler en avance les phénomènes physicochimiques ayant lieu lors du titrage.

---

MOTS-CLES en français : lab-on-chip ; miniaturisation ; mesure d'acidité ; titrage ; acidité libre ; analyse par injection séquentielle ; titrage ballist-mix ; dispersion de Taylor ; actinides ; procédé PUREX

---

TITRE en anglais : Development of a lab-on-chip for free acidity measurement in aqueous solutions containing hydrolytic cations

---

RESUME en anglais :

A joint study between the CEA and Areva La Hague has shown that chemical analysis is a crucial parameter for achieving a better performance in present and future spent nuclear fuel reprocessing plants. In fact, each plant's process monitoring and control require a significant amount of laboratory analysis leading in overall to a considerable amount of nuclear waste. Hence, reducing the sample's required volume for analysis would reduce its toxicity and subsequent waste, therefore increasing personnel safety, decreasing the environmental impact and the plant's operation cost. Among the process control analytical workload, the free acidity measurement has been identified as a key analysis due to its measurement frequency. For this reason, the main objective of this research has been focused in the improvement of a reference method for free acidity measurement. The following work has been divided in two main studies seeking for the reduction of the sample volume and the automation of the analytical method protocol:

- Sequential Injection Analysis (SIA) titration, whose application requires the employment of a device occupying a 25 L space, and which reduces 1000 fold the sample volume per analysis, 8 times the analysis time and 40 fold the amount of waste generated when compared to the reference analytical method.
- Ballist-mix titration, whose analytical performance is equivalent to the SIA titration, but whose implementation is done inside a microfluidic device occupying a volume as low as 25 mL after integration of all of the elements needed for analysis.

At the present time, the SIA titration has been validated using nitric acid samples containing uranyl cations, whereas the ballist-mix titration is being validated with the same sample conditions. However, this last analytical technique features a simplified operating principle which allows the user to shorten the analytical development process by opening the possibility to simulate the process before any experimentation.

---

MOTS-CLES en anglais : lab-on-chip ; miniaturization ; acidity measurement ; titration ; free acidity ; sequential injection analysis ; ballist-mix titration ; Taylor dispersion ; actinides ; PUREX process

---

DISCIPLINE : Chimie Analytique

---

INTITULE ET ADRESSE DE L'U.F.R. OU DU LABORATOIRE :

Commissariat à l'Energie Atomique et aux Energies Alternatives (CEA), site de Marcoule. Laboratoire d'Analyse et de Métrologie des Matières (LAMM), Bâtiment 166, BP 17171, 30207 Bagnols-sur-Cèze

---



# Liste d'abréviations

---

$A(t)$  = absorbance du colorant en fonction du temps

BBT = bleu de bromothymol

BM = bleu de méthylène

$c(t)$  = concentration du colorant en fonction du temps

CETAMA = Commission d'Etablissement des Méthodes d'Analyse

CHESS = Modélisation géochimique appliquées aux problèmes de qualité des eaux

$D_{th}$  = coefficient de diffusion thermique

$\varepsilon(t)$  = absorptivité du colorant en fonction du temps

FIA = Analyse par injection en flux continu

$Kn$  = nombre de Knudsen

LOC = lab-on-chip

MCFIA = Analyse par FIA multi-commutée

MOX = Mélanges d'Oxydes

NF = normalement fermé

NO = normalement ouverte

PEEK = polyétheréthercétone

$Pe$  = nombre de Péclet

PMMA = polyméthacrylate de méthyle

PTFE = polytétrafluoroéthylène

$Re$  = nombre de Reynolds

REP = Réacteurs à Eau Pressurisée

RMN = Résonance Magnétique Nucléaire

RSD = l'écart-type relatif

SIA = Analyse par Injection séquentielle

TAP = technologie d'analyse des procédés

tNatU = Tonnes d'uranium naturel

$\mu$ TAS = microsystemes d'analyse totale

$U_x$  = vitesse linéaire moyenne de l'écoulement



# Sommaire

<b>INTRODUCTION ET CONTEXTE .....</b>	<b>1</b>
RÉFÉRENCES.....	6
<b>CHAPITRE 1 : DEFINITION ET ETUDE DE LA PROBLEMATIQUE D'UNE REDUCTION D'ECHELLE DES SYSTEMES D'ANALYSE VOLUMETRIQUE DANS LE MILIEU NUCLEAIRE .....</b>	<b>8</b>
1. INTRODUCTION : ENJEUX DE LA MINIATURISATION DES SYSTEMES D'ANALYSE CHIMIQUE.....	10
2. EVOLUTION DES SYSTEMES DE TITRAGE VOLUMETRIQUE .....	11
2.2. <i>Systèmes automatisés pour des titrages volumétriques en continu</i> .....	13
2.2.1. Systèmes de détermination de pH par mélanges hétérogènes de réactif .....	14
2.2.1.1. Analyse par Injection en Flux continu (Flow Injection Analysis ou FIA).....	14
2.2.1.2. Analyse par Injection Séquentielle (Sequential Injection Analysis ou SIA).....	18
2.2.1.3. Analyse par FIA multi-commutée (MCFIA).....	21
2.2.1.4. Analyse par FIA-on-chip .....	22
2.2.2. Systèmes de détermination de pH par gradients de concentration linéaires de réactif.....	24
2.2.2.1. Titration volumétrique par ajout triangulaire.....	24
2.2.2.2. Titration par systèmes à dilution combinatoires .....	26
2.2.2.3. Système de titration par gradients linéaires de réactif générés par diffusion.....	28
2.2.2.4. Système de titration par gradients linéaires de réactif générés par dispersion .....	30
3. CRITERES TECHNIQUES A SATISFAIRE POUR LE TITRAGE VOLUMETRIQUE DE L'ACIDITE LIBRE D'ECHANTILLONS IRRADIES .....	34
4. CHOIX DE LA TECHNOLOGIE EN FONCTION DU CAHIER DES CHARGES DU PROJET .....	40
REFERENCES.....	45
<b>CHAPITRE 2 : DEVELOPPEMENT D'UNE METHODE ANALYTIQUE SIA POUR LA MESURE DE L'ACIDITE LIBRE A L'ECHELLE MILLIMETRIQUE .....</b>	<b>49</b>
1. INTRODUCTION .....	51
2. ETUDE DE FAISABILITE POUR LA CREATION D'UNE METHODE SIA ADAPTEE A LA MESURE DE L'ACIDITE LIBRE DE SOLUTIONS CONTENANT DES CATIONS HYDROLYSABLES.....	55
2.1. <i>Analyse de la mesure d'acidité par titrage SIA</i> .....	61
2.1.1. Expérience 1 : Profil de concentration de l'indicateur coloré en fonction du temps .....	62
2.1.2. Expérience 2 : Variation de l'absorptivité de l'indicateur coloré en fonction du temps.....	64
2.1.3. Apport global d' $\epsilon(t)$ et de $c(t)$ sur la mesure expérimentale d' $A(t)$ .....	66
2.2. <i>Application d'un titrage par SIA pour la mesure d'acidité libre d'un échantillon d'acide nitrique contenant des cations <math>ZrO^{2+}</math></i> .....	67
2.2.1. Définition d'une séquence SIA pour la mesure d'acidité libre d'un échantillon d'acide nitrique contenant des cations $ZrO^{2+}$ .....	70
2.2.2. Optimisation d'une séquence SIA pour la mesure d'acidité libre d'un échantillon d'acide nitrique contenant des cations $ZrO^{2+}$ .....	73
2.3. <i>Conclusions de l'étude de faisabilité sur l'utilisation d'un système SIA adapté pour la mesure de l'acidité libre de solutions de cations hydrolysables</i> .....	75
3. DEVELOPPEMENT D'UNE METHODE SIA ADAPTEE A LA MESURE DE L'ACIDITE LIBRE DE SOLUTIONS CONTENANT DE L'U(VI) .	76
3.1. <i>Optimisation d'une séquence SIA pour la mesure d'acidité libre d'un échantillon d'acide nitrique contenant du cation <math>UO_2^{2+}</math></i> .....	78
3.1. <i>Conclusions au développement d'une méthode SIA adapté à la mesure de l'acidité libre de solutions contenant U(VI)</i> .....	83
REFERENCES.....	85

<b>CHAPITRE 3 : CONCEPTION ET MISE-EN-OEUVRE DU PREMIER MICROSYSTEME D'ANALYSE DEDIE AU TITRAGE VOLUMETRIQUE DE L'ACIDITE LIBRE .....</b>	<b>87</b>
1. INTRODUCTION .....	89
2. ETUDE DE FAISABILITE DU TITRAGE BALLIST-MIX A L'ECHELLE MICRO METRIQUE.....	95
2.1. <i>Description et mis en œuvre d'un prototype expérimental pour le premier titrage ballist-mix .....</i>	<i>97</i>
2.2. <i>Optimisation du premier système microfluidique permettant le titrage ballist-mix à l'échelle micro métrique.....</i>	<i>106</i>
3. DEVELOPPEMENT D'UNE METHODE ANALYTIQUE A MICRO-ECHELLE POUR LE TITRAGE BALLIST-MIX D'UN ECHANTILLON D'ACIDE NITRIQUE.....	111
3.1. <i>Description d'une méthode permettant la mesure d'acidité d'échantillons d'acide nitrique dans un domaine de concentration défini .....</i>	<i>112</i>
3.2. <i>Mise en œuvre du nouveau montage microfluidique pour la formation d'un gradient de concentration linéaire .....</i>	<i>114</i>
3.3. <i>Mise en œuvre du nouveau montage microfluidique et d'une méthode analytique associée pour la mesure d'acidité d'échantillons d'acide nitrique.....</i>	<i>120</i>
3.4. <i>Bilan de la méthode analytique pour la mesure d'acidité d'échantillons d'acide nitrique en utilisant le nouveau montage optique .....</i>	<i>123</i>
4. DEVELOPPEMENT D'UNE METHODE ANALYTIQUE A ECHELLE MICRO POUR LE TITRAGE BALLIST-MIX D'UN ECHANTILLON D'ACIDE NITRIQUE CONTENANT DE CATIONS HYDROLYSABLES : MESURE DE L'ACIDITE LIBRE .....	124
4.1. <i>Etude bibliographique pour l'implémentation d'une étape de mélange à la méthode de titrage ballist-mix.....</i>	<i>125</i>
4.1.1. Description des systèmes de mélange de type passif.....	126
4.1.1.1. Mélangeurs par advection laminaire .....	126
4.1.1.2. Mélangeurs par advection chaotique .....	129
4.1.1.3. Mélangeurs par dispersion.....	133
4.1.2. Conclusion pour les systèmes de mélange de type passif .....	134
4.2. <i>Etude de faisabilité et développement d'un micro-mélangeur par dispersion.....</i>	<i>135</i>
4.2.1. Analyse théorique de la faisabilité de mélanges par dispersion.....	135
4.2.2. Développement d'un montage expérimental permettant de réaliser des mélanges homogènes par dispersion	137
4.2.3. Mise en œuvre du premier micro-mélangeur par dispersion.....	139
4.3. <i>Description d'une méthode permettant la mesure d'acidité d'échantillons d'acide nitrique contenant des cations hydrolysables .....</i>	<i>143</i>
4.4. <i>Conclusions et perspectives pour le développement d'une méthode d'analyse pour la mesure d'acidité d'échantillons d'acide nitrique contenant des cations hydrolysables.....</i>	<i>149</i>
REFERENCES.....	150
<b>CONCLUSIONS ET PERSPECTIVES.....</b>	<b>153</b>
REFERENCES.....	158
<b>ANNEXE 1 : TERMINOLOGIE EN METROLOGIE .....</b>	<b>160</b>
REFERENCES.....	163
<b>ANNEXE 2 : CONSTANTES D'EQUILIBRE CHIMIQUE UTILISES POUR LES CALCULS ASSISTES PAR ORDINATEUR (CHESS) .....</b>	<b>165</b>



# Introduction et contexte

---

Depuis la découverte de la radioactivité aux débuts du XX<sup>ème</sup> siècle et jusqu'à présent, l'évolution de la radiochimie et des sciences associées a été fortement influencée par une multitude d'enjeux géopolitiques et industriels. L'ère du nucléaire a débuté en 1942, au milieu de la deuxième guerre mondiale, lorsque Enrico Fermi et son équipe ont réussi à mettre au point le premier réacteur nucléaire habilité pour accueillir la première réaction en chaîne déclenchée et contrôlée par l'homme, l'objectif étant la production de plutonium de qualité militaire à partir de la fission de l'uranium enrichi [1]. La matière fissile nécessaire, étant un produit secondaire, devait être extraite sélectivement de l'uranium et d'autres produits de fission présents dans le combustible irradié. L'ambitieuse séparation d'actinides a été réalisée en 1947 par Herbert Anderson et Lamed Asprey, en créant le procédé PUREX, le procédé d'extraction de l'uranium et du plutonium le plus performant de l'époque [2]. Après la guerre, en 1946, le président Harry Truman créa aux Etats-Unis le « Atomic Energy Commission » (AEC) afin d'encourager le développement de l'énergie nucléaire pour l'utilisation « pacifique » et « civile » [3]. A ce moment-là les enjeux géopolitiques n'étaient plus les mêmes et donc, en 1951 les premiers réacteurs nucléaires pour la production d'énergie électrique ont vu le jour aux Etats-Unis et peu après en Russie vers 1954 [4]. Suite à une pétition du président américain Eisenhower en 1953, l'Agence Internationale de l'Energie Atomique (IAEA) a été créée au sein des Nations Unies. L'IAEA a obtenu, en 1956, un statut officiel suite à l'adhésion de 81 pays à l'organisme [5], ce qui a permis la démocratisation mondiale des réacteurs nucléaires dédiés à la production d'électricité. L'énergie nucléaire a été accueillie à l'époque comme une énergie économique, écologique et sans danger, ce qui a aidé au développement rapide de l'industrie du nucléaire dans les années 60 [6]. Cependant, l'utilisation croissante d'uranium demandait aussi la mise en place de politiques de traitement/recyclage de combustible irradié afin de réduire la demande en uranium naturel, limiter le volume de déchets à moyenne et haute activité et de minimiser la possibilité de prolifération du plutonium [7]. Les directives relatives au nucléaire, issues de la croissante demande socio-économique, ont entraîné la reprise du procédé de séparation PUREX, pas uniquement pour l'améliorer mais aussi pour l'adapter à l'échelle industrielle, aboutissant en 1958 au démarrage à Marcoule, en France, de la première implantation industrielle dédiée au traitement-recyclage de combustible irradié [8]. Depuis, le procédé PUREX est devenu le procédé de référence pour le recyclage de combustible usé dans le monde [9].

En 2014 dans l'Union Européenne (UE), l'énergie nucléaire représentait plus de la moitié de l'énergie produite à partir d'une source non carbonée et un quart du total de l'énergie électrique produite, malgré cela l'UE doit encore importer près de 50% de ses besoins électriques [10]. Dans ce contexte la Commission Européenne (CE) s'est concentrée sur une stratégie visant à favoriser l'utilisation d'énergie durable, à assurer l'approvisionnement énergétique et à augmenter la

compétitivité de l'énergie produite en interne [11]. En réponse aux besoins énergétiques de l'UE, la Communauté Européenne de l'Energie Atomique (EURATOM) a demandé aux pays membres de cibler leurs efforts sur 3 axes principaux : l'amélioration du procédé d'obtention et fabrication du combustible ; l'amélioration des usines qui seront construites dans le futur et de celles qui sont déjà en opération, surtout en termes de sûreté et robustesse d'opération ; l'amélioration de la gestion de combustible irradié et le gain d'expérience sur le déclassé de centrales nucléaires [12]. Dans ce but, la Commission Européenne prévoit un investissement compris entre 350 et 450 milliards d'euros d'ici à 2050, l'objectif principal est de garder l'excellence technologique au niveau mondial face au développement rapide du nucléaire en dehors de l'UE [13].

En 2014 il y avait 131 réacteurs nucléaires en opération dans l'UE, parmi eux 58 réacteurs étaient placés sur le territoire Français [14] pour générer près de 75% de l'énergie du pays avec une consommation annuelle estimée à 8000 tonnes d'uranium naturel (tNatU), chiffre auquel il faut ajouter 880 tNatU équivalents de combustible à base de Mélanges d'OXydes (MOX) et 600 tNatU équivalents d'uranium traité et recyclé. Les besoins de la France en matière d'uranium naturel sont couverts majoritairement par l'importation, mais peuvent également être produits (jusqu'à 1700 tNatU par an) à partir de combustible irradié ainsi que par la production de combustible MOX (jusqu'à 1200 tNatU équivalents par an) commercial [15]. L'usine d'AREVA La Hague, s'occupant du retraitement du combustible irradié, recycle aussi bien du combustible national qu'étranger. L'usine d'AREVA à Marcoule, est la seule unité en France ayant le droit de fabriquer du combustible MOX dédié à usage interne ou à l'exportation. En 2008, la France avait produit deux tiers du combustible MOX vendu dans l'UE [16]. Néanmoins, les nouvelles politiques de développement économique en Europe ainsi que les nouvelles exigences environnementales et de sûreté développées suite à l'incident de Fukushima, demandent la réévaluation de l'état actuel des usines liées au nucléaire pour les rendre plus sûres, plus économiques et énergétiquement durables d'ici à 2040 [17].

Une étude menée conjointement par AREVA La Hague et le CEA a permis de tracer les besoins des usines de traitement-recyclage du combustible nucléaire en opération ainsi que de celles du futur. Parmi ces nouveaux besoins il apparaît qu'il est nécessaire de faire évoluer les techniques d'analyse chimique et les mesures physicochimiques vers des systèmes plus simples [18]. Le but étant d'une part de pérenniser les performances actuelles et d'autre part d'atteindre des gains significatifs en termes *de sûreté du personnel, de développement durable, d'impact sur l'environnement et de coût de fonctionnement des usines* [19]. La simplification des systèmes analytiques s'applique aux analyses menées dans le laboratoire centralisé pour le contrôle et le suivi de l'usine, et sur l'ensemble des analyses nécessaires à l'étude R&D de nouveaux procédés [20]. Le procédé PUREX étant l'activité principale dans les usines de traitement-recyclage, il a été identifié par les exploitants que la concentration de l'acide nitrique est un des paramètres les plus souvent mesurés pendant l'extraction. En effet, le procédé PUREX peut être résumé en 3 étapes ; (1) l'extraction d'U (VI) et du Pu (VI), (2) la séparation d'U(VI) du Pu(IV) et (3) le décapage final

d'U (VI). Dans chacune de ces étapes la concentration en acide doit être connue avec précision pour pouvoir piloter correctement le procédé [21]. La mesure en soit, nommé titrage de l'acidité libre, est un titrage volumétrique entre l'acide nitrique et une base titrante au cours duquel il faut prendre en compte la présence des ions actinides en solution. En effet, lors de la titration, l'équilibre entre les différentes formes chimiques des ions actinides (U, Pu, Am, etc.) est déplacé, ce qui favorise leur réaction d'hydrolyse et donc la production d'ions  $H^+$  amenant à une surestimation de l'acidité dans la solution [22]. A titre d'exemple pour l'hydrolyse du  $Pu^{4+}$ , la réaction est :



Pour une quantification précise de la concentration de l'acide nitrique (appelé acidité libre) il faut donc trouver le moyen d'éviter la réaction d'hydrolyse. Pour cela, il existe plusieurs façons de faire, liées à la nature des ions présents, comme par exemple l'ajout d'une étape de complexation, de précipitation ou encore d'extraction des cations hydrolysables en amont du titrage volumétrique [23]. Dans le cas des actinides tels que l'U(VI) et le Pu(IV), la méthode de complexation la plus amplement utilisée dans le milieu industriel emploie un sel d'oxalate [24]. A l'usine d'AREVA La Hague, c'est également une méthode d'ajout d'oxalate de sodium qui est utilisée pour complexer l'U(VI) avant le titrage volumétrique de l'acide nitrique avec de la soude. Cette méthode a été mise au point par la Commission d'Etablissement des Méthodes d'Analyse (CETAMA) de Marcoule.

L'objectif principal de cette thèse consiste à améliorer l'actuel procédé d'analyse de l'acidité libre. Les améliorations proposées doivent être en accord avec le cahier des charges défini par AREVA La Hague, concernant les besoins analytiques des usines actuelles et du futur. En effet, la mesure de l'acidité libre est une des analyses effectuées par le laboratoire d'analyse et contrôle, et qui fait partie des 220 000 analyses mises en œuvre par an pour la sûreté et suivi du procédé.

- *Le cahier des charges du projet :*

*Le premier des paramètres du cahier des charges est lié aux contraintes de rendu, il est attendu que le délai de l'analyse entre le prélèvement et le rendu des résultats soit inférieur à 1 poste (< 8h). Actuellement, l'automatisation partielle des analyses d'acidité soulage la charge analytique du laboratoire de contrôle de marche. Cependant, les analyses prennent toujours du temps malgré leur automatisation. Même si pour l'avenir le cas idéal serait le développement d'une méthode de mesure en ligne, à court terme les laboratoires d'analyse déportés pourraient bénéficier d'une procédure simplifiée, pouvant être complètement automatisable.*

*Le deuxième paramètre du cahier des charges est lié à la pérennité des équipements. Celle-ci sera affecté par l'hostilité de l'environnement nucléaire engendré par les rayonnements ionisants et la manipulation de fortes acidités (<5 mol/L) en présence d'Uranium et de Plutonium. De façon habituelle, les systèmes analytiques sont soumis à une procédure qui a pour objectif leur*

*transposition vers une ambiance dite « nucléaire » et qui concerne la réorganisation d'un appareil de mesure vers une forme plus adaptée et mieux protégée des agressions de l'environnement. Cela permet le durcissement des composants électroniques, des moyens de transport du signal, et encore de faciliter leur télé-opération et maintenance. Les exigences analytiques ainsi que le coût de la nucléarisation seront fortement dépendants de l'hostilité du milieu. Les rayonnements nucléaires provoquent une dégradation prématurée des matériaux qui composent la chaîne de mesure, pouvant induire une action sur l'électronique du capteur. La composition chimique du milieu est aussi susceptible de provoquer des dégradations de matériaux par corrosion, dissolution ou adsorption.*

*Le troisième paramètre du cahier des charges est l'incertitude sur la mesure de l'acidité libre, qui est fixée à 10% de la valeur vraie. La nucléarisation d'une mesure physico-chimique se traduit souvent par une perte de performances. Il est donc indispensable que cette perte de performances, les dégradations du matériel, les rayonnements ionisants et les grandeurs thermodynamiques d'ambiance (pression, température) à l'intérieur de l'enceinte nucléarisée, ne se traduisent pas par des dérives ou des biais de mesure qui, ajoutés à l'incertitude sur la mesure, amènent à dépasser le seuil d'incertitude espéré.*

*Enfin, le dernier paramètre du cahier des charges concerne la réduction des volumes d'échantillons nécessaire à une analyse et le volume d'effluents générés. En 1923 Fritz PREGL a reçu le prix Nobel en chimie pour ses travaux qui ont montré qu'une diversité de phénomènes négligeables en analyse macroscopique deviennent significatifs lorsqu'une substance est analysée au sein d'échantillon de taille de plus en plus réduite. La réduction d'échelle lui a permis dans un premier temps, d'analyser des substances organiques pouvant être synthétisées à de très faibles quantités et, dans un deuxième temps, de déterminer les propriétés physico-chimiques des substances analysées méconnues à l'époque [25]. Actuellement l'intérêt de miniaturiser les dispositifs analytiques va bien au-delà de ce que M. PREGL et ses collaborateurs avaient envisagé, les progrès en électronique dans la première moitié du 20<sup>ème</sup> siècle ont ouvert les portes à l'analyse quasi-automatique et/ou instrumentale. En effet, aujourd'hui la microélectronique et les méthodes de fabrication associées nous laissent aspirer à des objectifs plus ambitieux tels que la microanalyse portative ou l'analyse en ligne par exemple [26]. Au-delà d'une analyse in-situ, travailler à une échelle réduite permet d'utiliser un volume plus petit de réactifs, ce qui est bénéfique dans le cas d'échantillons contenant des radionucléides puisque la radiation émise sera proportionnellement réduite, simplifiant ainsi les besoins de radioprotection. Par exemple, réduire par 1000 le volume d'un échantillon réel d'acide nitrique utilisé pour dissoudre du combustible irradié, pourrait permettre de l'analyser sans dilution préalable dans une boîte à gants et non plus dans un confinement blindé avec télémanipulation [27].*

Ainsi, le premier chapitre de la thèse est consacré à une étude bibliographique détaillant les systèmes d'analyse volumétrique existants, et sur la façon dont ils pourraient être utilisés pour effectuer une mesure d'acidité libre miniaturisée en présence d'agents complexants (ions oxalate). De cette étude bibliographique, en accord avec le cahier des charges établi, découle le choix des systèmes d'analyse envisagés permettant l'amélioration de la méthode actuelle de mesure de l'acidité libre. Les chapitres 2 et 3, quant à eux, présentent la conception et le développement de méthodologies de mesure miniaturisée d'acidité libre, adaptée aux systèmes de titrage volumétrique choisis. Le premier développement concerne la mise au point d'un procédé dimensionné à l'échelle millimétrique associé à une détection spectrophotométrique *in-situ*. Ce développement représente, de façon simplifiée, la mise en œuvre d'une méthode d'analyse chimique classique et éprouvée (à l'échelle d'un bécher) vers une échelle miniaturisée. Cette réduction d'échelle est basée sur l'utilisation d'une méthode de mélange par injection séquentielle des réactifs dans une boucle fluide (SIA). La réaction de titrage est suivie par un indicateur coloré qui est détecté en sortie de boucle fluide. La validation de cette méthode a ensuite été mise à profit afin de réduire encore les volumes d'échantillon et de déchets conduisant à la seconde approche présentée chapitre 3. La seconde méthode étudiée utilise judicieusement des phénomènes contrôlables à l'échelle micrométrique pour réaliser le mélange des réactifs, voire la dilution de l'échantillon dans un canal fluide. A la fin de ce document, ils seront résumés les résultats obtenus pendant de la thèse, ainsi qu'une synthèse de l'état d'avancement et les perspectives d'évolution des techniques analytiques développés pour leur mise en œuvre dans un laboratoire de radio analyse et contrôle industriel.

## Références

1. ASSOCIATION, W.N., *History of Nuclear Energy*, in *World Nuclear Association*. 2014.
2. ANDERSON, H.ASPREY, L., *Solvent Extraction Process for Plutonium*. 1947: Etats Unis.
3. BUCK, A. *The Atomic Energy Commision*. US Energy.
4. SOCIETY, E.N. *Nuclear Power Plants World-Wide*. ENS, European Nuclear Society ; Available from: <https://www.euronuclear.org/info/encyclopedia/n/nuclear-power-plant-world-wide.htm>.
5. FISCHER, D. *History of the International Atomic Energy Agency, the First 40 Years*. International Atomic Energy Agency—History. I. International Atomic Energy Agency.
6. ENERGY, U.D.o. *The History of Nuclear Energy*. Nuclear Energy.
7. *Processing of Used Nuclear Fuel*, in *World Nuclear Association* 2015.
8. TNP, F. *Marcoule Up1 Spent Fuel Reprocessing Plant*. France TNP - Traité sur la non prolifération des armes nucléaires.
9. RENOUVELABLES, C.à.l.E.A.e.a.E., *Spent Fuel Reprocessing - a Fully Mastered Pathway*, in *CLEFS CEA*. 2005-2006.
10. COMMISSION, E. *Cadre Stratégique Pour Une Union De L'énergie Résiliente*. European Commission, 2015.
11. COUNCIL, E. *Conclusions on 2030 Climate and Energy Framework*. European council, 2014.
12. COMMISSION, E. *Nuclear Illustrative Program*. European Commission, 2016.
13. COMMISSION, E. *Nuclear Illustrative Programme Presented under Article 40 of the Euratom Treaty for the Opinion of the European Economic and Social Committee*. European Commission, 2016.
14. EDF, *Nucléaire - Accès Direct À Nos Centrales*, in *EDF*. 2016, EDF.
15. AGENCY, O.N.E., *Uranium 2014: Resources, Production and Demand*, in *OECD Nuclear Energy Agency*. 2014, OECD Nuclear Energy Agency.
16. IAEA, *Spent Fuel Reprocessing Options*. 2008, IAEA: Viena.
17. ASSOCIATION, W.N., *Nuclear Power in the European Union*, in *World Nuclear Association*. 2016, WNA.
18. BAUMGÄRTNER, F.ERTEL, D., *The Modern Purex Process and Its Analytical Requirements*. 1980. **58** : p. 11-28.
19. VERBRUGGEN , A., LAES , E.LEMMENS, S., *Assessment of the Actual Sustainability of Nuclear Fission Power*. Renewable and Sustainable Energy Reviews, 2014. **32** : p. 16-28.
20. GIROUXA, M., GRYGIELA, J.M., BOULLISB, B., *et al. The Back-End of the Fuel Cycle in France: Status and Prospects*. Spent Fuel Reprocessing Options, 2008.
21. PAIVA, A.P.MALIK, P., *Recent Advances on the Chemistry of Solvent Extraction Applied to the Reprocessing of Spent Nuclear Fuels and Radioactive Wastes*. Journal of Radioanalytical and Nuclear Chemistry, 2004. **261** : p. 485-496.
22. AHMED, M.K., SURYANARAYANA, D.S.SABHARWAHL, K.N., *Potentiometric Determination of Free Acidity in U(Vi) and Pu(Iv) Solutions in a Sequential Determination of Uranium*. 1985. **57** : p. 2358-2360.
23. SRINIVASAN, T.G.VASUDEVARAO, P.R., *Free Acidity Measurement – a Review*. Talanta, 2014. **118** : p. 162-171.
24. WICK, O.J., *Plutonium Handbook : A Guide to the Technology*. Vol. 1. 1980, La Grange Park, Illinois, Etats Unis: The American Nuclear Society.
25. *Fritz Pregl - Nobel Lecture: Quantitative Micro-Analysis of Organic Substances*. Nobelprize.org, 2014.
26. WORKMAN, J.J., LAVINE, B., CHRISMAN, R., *et al., Process Analytical Chemistry*. Analytical Chemistry, 2011. **83** : p. 4557-4578.
27. MAENHOUT, J.G., *The Benefits of Applying Microsystems in Radiochemistry*. Nanotechnology Perceptions, 2007. **3** : p. 183-192.



# CHAPITRE 1

---

**Définition et étude de la problématique d'une réduction  
d'échelle des systèmes d'analyse volumétrique dans le  
milieu nucléaire**



## 1. Introduction : Enjeux de la miniaturisation des systèmes d'analyse chimique

Par définition dans ce manuscrit, la microanalyse ou chimie analytique miniaturisée comprend les instruments et les méthodes pour séparer, identifier et quantifier une faible quantité de matière (<10 mg ; <1mL). Outre la définition générale, il faut encore distinguer trois branches différentes selon le type d'information obtenue à partir de l'analyse : l'analyse est dite qualitative si l'information permet d'identifier les constituants d'un échantillon, quantitative si l'information permet de les quantifier et ponctuelle ou « spot » si l'information peut être obtenue à partir d'un dispositif n'ayant pas besoin d'instrumentation particulière telle que le papier pH par exemple. L'idée de travailler avec de petits volumes d'échantillon n'est pas récente, dès 1758 Sigismund MARGGRAF a posé les bases de la spectrophotométrie de flamme pour l'analyse qualitative de sels de sodium et de potassium dans le sel et la lavande [1]. En 1837 Giovanni BATTISTA-AMICI a suffisamment avancé sur la fabrication de lentilles hémisphériques pour obtenir la première image microscopique avec un grossissement de 6000 [2]. Vers 1911, Fritz PREGI a utilisé la première microbalance (< 1 gr.) pour quantifier des substances organiques difficiles à obtenir ou synthétiser [3]. Peu après, en 1921, Fritz FEIGLE a défini les bases de l'analyse « spot » en travaillant avec des papiers imprégnés par un indicateur chimique [4].

Depuis, l'industrie s'est intéressée non seulement à réduire la taille des systèmes d'analyse mais aussi à leur instrumentation pour réussir une analyse automatisée. D'un point de vue pratique, l'utilisation d'un volume de réactifs plus faible est une opportunité de diminuer les coûts d'opération et la quantité de déchets issus de la chaîne analytique. Ceci est d'autant plus important quand les réactifs sont coûteux, dangereux ou difficiles à obtenir [5]. De plus le contrôle (semi-)automatique d'un système d'analyse instrumenté facilite la gestion des données, augmente la reproductibilité sur les mesures et minimise le contact des laborantins avec des échantillons dangereux ou nocifs [6]. Sur le plan législatif, les règlements de l'Union européenne tel que l'initiative d'Enregistrement, Evaluation, Autorisation et Restriction des substances CHimiques (REACH), exigent de la part des industriels d'adopter de nouvelles méthodes et procédés afin de mieux protéger la santé humaine et l'environnement contre les risques liés à l'utilisation de substances chimiques, tout en favorisant bien entendu, la compétitivité de l'industrie chimique au sein de l'UE [7].

Au-delà de l'objectif industriel d'amener les systèmes d'analyse à l'échelle millimétrique, puis à l'échelle micrométrique et encore à l'échelle nanométrique, il faut s'interroger sur les moyens technologiques disponibles de nos jours permettant un redimensionnement de l'analyse. Ce chapitre sera donc consacré à une étude bibliographique détaillant les différents systèmes d'analyse volumétrique actuellement disponibles, et sur la façon dont ils pourraient être adaptés pour une mise-en-œuvre miniaturisée de la méthode de mesure de l'acidité libre par ajout

d'oxalates. En conclusion de ce chapitre, le choix des systèmes d'analyse volumétrique à utiliser pour l'amélioration de méthode actuelle d'acidité libre sera justifié en s'appuyant sur le cahier des charges du projet.

## 2. Evolution des systèmes de titrage volumétrique

Le monde du XVIIIème siècle a été transformé par un phénomène connu sous le nom de première révolution industrielle, et qui était caractérisé par le développement du capitalisme, l'invention de nouveaux moyens de communication et la conception des premières techniques de production de masse [8]. La croissante industrialisation demandait des procédés plus rapides et fiables. Dans le cas de l'industrie chimique la détermination rapide de l'acidité, la basicité, les carbonates et les hypochlorites dans des échantillons a été le fil conducteur pour le développement du premier titrage volumétrique [9]. Dans le même contexte, le français François-Antoine-Henri DESCROIZILLES a fabriqué la première burette afin d'effectuer le premier titrage volumétrique de l'histoire, mais il a fallu attendre quelques années de plus pour que Joseph Louis Gay-Lussac popularise les titrages volumétriques en utilisant les termes « burette » et « pipette ». Aux alentours de 1850, une méthodologie pour les titrages volumétriques a été établie par Karl Friedrich Mohr dans son ouvrage « *Lehrbuch der chemisch-analytischen Titrimethode* » [10]. C'est finalement au cours de l'année 1914 que S.P.L. SORENSEN a publié un livre où il a introduit le terme de pH, et décrit en plus la procédure de calcul des courbes de titrage et de l'erreur associée lorsque le suivi du titrage est fait avec un indicateur coloré. Finalement, en 1926 Izaak KOLTHOFF a publié son livre « *Volumetric Analysis* » où, en 3 volumes, il a détaillé les méthodes de titrage volumétrique existant à l'époque, et qui deviendront le début contextuel des titrages volumétriques en tant que technique analytique universelle [11].

Depuis, la titrimétrie ou titrage volumétrique a été définie comme une technique utilisée en chimie analytique afin de déterminer la concentration d'une espèce chimique en solution, appelée le « soluté ». Cette technique consiste à ajouter graduellement un volume contrôlé de réactif de concentration connue, appelé le « titrant », à un échantillon contenant une concentration inconnue de soluté jusqu'au point de neutralisation, c'est-à-dire, jusqu'à l'obtention d'une réaction complète [12]. On distingue deux approches pour faire un titrage volumétrique. Le titrage jusqu'au point d'équivalence où le titrage est arrêté lorsque l'analyte et le réactif sont présents en quantité stœchiométrique, et le titrage jusqu'à la fin de la réaction de neutralisation, où le réactif ou titrant est ajouté jusqu'à ce que la fin de la réaction soit observée (Figure 1) [13].

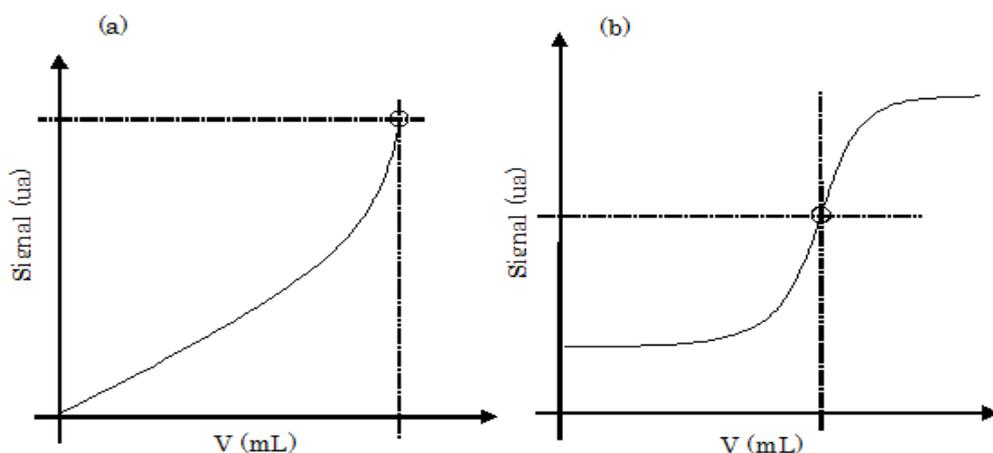


Figure 1 : Schémas de principes illustrant les différentes approches pour faire un titrage volumétrique ; a) titrage jusqu'au point d'équivalence ; b) titrage jusqu'à la fin de la réaction de neutralisation [13]

Lors du titrage, le point de neutralisation peut être suivi par plusieurs techniques (tableau 4).

Tableau 1 : Les différentes techniques pour détecter le point de neutralisation lors d'un titrage volumétrique [14]

Techniques	Description
<b>Indicateurs colorés</b>	Un indicateur coloré est un composé chimique qui présente des propriétés acido-basiques, comme un changement de couleur, selon qu'il est sous forme acide ou basique. Le paramètre le plus important à prendre en compte lors du choix d'un indicateur est son pKa (variable qui définit l'intervalle de pH où l'indicateur change de couleur). C'est en étudiant la colorimétrie de l'indicateur qu'un pH approximé de la solution peut être obtenu au point d'équivalence.
<b>Conductance</b>	La conductivité d'une solution est dépendante du nombre d'ions qu'elle contient et de leur nature. Lors d'un titrage volumétrique, la réaction entre les ions $H_3O^+$ et les ions $OH^-$ pour former la molécule neutre $H_2O$ , ainsi que l'interaction entre d'autres ions présents fera changer la conductivité de la solution selon la mobilité des ions et de leur force ionique.
<b>Changement de couleur</b>	Quelques réactions déclenchent un changement de couleur sans l'ajout d'un indicateur coloré. Tel est le cas de titrages REDOX, où un composé chimique change de couleur en solution selon son état d'oxydation.
<b>Précipitation</b>	Si le produit de neutralisation est un solide, la présence de précipités devient un indicateur du point d'équilibre de la réaction.
<b>Titration calorimétrique isotherme</b>	Cette technique mesure la chaleur produite ou consommée lors de la réaction pour déterminer le point d'équivalence. Pour que l'analyse soit effective, il faut garder la température du milieu constante.
<b>Titration thermométrique</b>	Contrairement au titrage calorimétrique isotherme, cette technique consiste à mesurer le changement de température lors du titrage.
<b>Spectroscopie</b>	La spectroscopie peut être utilisée pour mesurer la lumière absorbée par la solution lors du titrage, dans le cas où le spectre de l'analyte, du titrant ou du produit est connu et spécifique.
<b>Titration ampérométrique</b>	Dans cette technique le point d'équivalence est déterminé par la mesure de la variation de courant produit lors du titrage.
<b>Titration potentiométrique</b>	les titrages potentiométriques impliquent de réaliser une réaction en solution pour déterminer le titre (la concentration) de la solution inconnue. Il est alors envisageable, selon le cas, de mettre en œuvre une réaction acido-basique, d'oxydoréduction, de complexation ou de précipitation. La plupart du temps ces réactions sont suivies par titrage potentiométrique à courant nul.

De nos jours les systèmes de titrage volumétrique « modernes » sont des systèmes automatisés. La communication de ces systèmes instrumentés avec des outils informatiques, tels que les bases de données, a ouvert la possibilité de traiter et gérer les résultats d'analyse presque en temps réel, ce qui facilite le fonctionnement des laboratoires de contrôle de routine [15]. Les systèmes de titrage volumétrique vendus dans le commerce peuvent être classés en fonction de la dynamique de la réaction chimique. Si le système travaille avec un volume défini d'échantillon et que le volume de réactif nécessaire pour neutraliser la totalité de l'échantillon est mesuré, il s'agit d'un titrage répétitif ou en batch. Par contre, si le système travaille avec un débit (ou flux) fixe d'échantillon et que le débit de réactif nécessaire pour neutraliser totalement ou partiellement l'échantillon est mesuré, alors il s'agit d'un titrage en continu ou gradient [16].

Il faut noter que les systèmes de titrage en continu se rapprochent plus de ce qui est attendu dans le cahier des charges défini par AREVA puisqu'il est souhaité que le microsystème de titrage volumétrique soit capable d'effectuer des mesures en continu. Ce qui est important pour offrir la possibilité dans l'avenir, de faire évoluer le système vers un dispositif de mesure en ligne. De plus, du fait de la nature de l'analyse où il y a toujours un réactif en écoulement, les systèmes en continu sont caractérisés par des procédures d'échantillonnage et de rinçage simplifiées par rapport aux systèmes de titrage en batch [17], ce qui peut représenter un avantage lorsque l'échantillon à analyser est dangereux ou nocif. Pour cette raison, la bibliographie est principalement centrée sur les systèmes de titrage en continu.

### **2.1. Systèmes automatisés pour des titrages volumétriques en continu**

L'analyse en continu est définie comme une procédure analytique où l'échantillon est traité et mesuré en tant qu'écoulement. Si à l'origine l'échantillon n'est pas sous la forme d'un écoulement alors il faut le convertir avant l'analyse [18]. Le schéma le plus simple d'une analyse en continu est celui comportant deux canaux en configuration « T ». D'un côté est injecté un flux constant d'échantillon et de l'autre un flux variable de réactif. Le point d'équivalence entre l'échantillon et le réactif va être atteint en faisant varier le débit de réactif. Le système fluidique est couplé à un système de détection pour indiquer lorsque le point de titrage est atteint. De cette façon, la concentration de l'échantillon peut être calculée par une relation de proportionnalité existante entre les deux flux (Figure 2) [19].

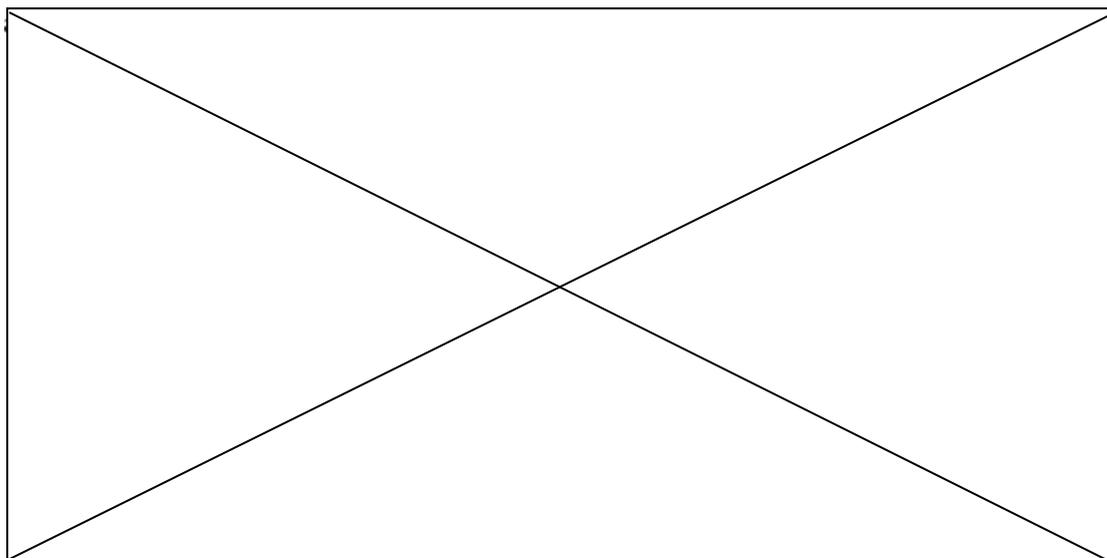


Figure 2 : Exemple d'un schéma de principe de titrage volumétrique en continu. a) Schéma bloc d'un système de titrage comportant deux canaux en configuration T; b) Graphique de détermination du point d'équivalence pour une analyse en continu [19]

Le système de mesure en continu présente deux avantages : la facilité d'automatiser le système de transport de fluide et le système de détection permettant une lecture directe et continue. Quelques limitations sont aussi liées à ce type de mesure analytique, notamment le temps nécessaire pour atteindre l'état stationnaire et le volume mort entre l'introduction de l'échantillon et la détection, ces deux facteurs dépendent de la taille du système [20]. Dès l'introduction du titrage volumétrique en continu, plusieurs méthodes ont été développées afin de rendre la technique capable de répondre aux exigences d'une industrie ayant besoin d'un soutien analytique rapide et fiable. Parmi les méthodes développées les plus répandues dans l'industrie figurent les systèmes de titrage par mélanges hétérogènes de réactif et les systèmes de titrage volumétrique par génération de gradients de réactif linéaires.

## 2.2.1. Systèmes de détermination de pH par mélanges hétérogènes de réactif

### 2.2.1.1. Analyse par Injection en Flux continu (Flow Injection Analysis ou FIA)

L'analyse par injection en flux continu est une technique analytique introduite en 1975 par Ruzicka et Hansen et fait partie des techniques d'analyse chimique en continu. L'analyse FIA n'est pas en soi une technique de titrage volumétrique, puisqu'il n'est pas nécessaire de connaître avec précision la quantité d'échantillon injecté dans le système, par contre il est nécessaire de respecter 3 principes : 1) Injection contrôlée de l'échantillon ; 2) Reproductibilité de la mesure analytique ; 3) Dispersion contrôlée. Si la combinaison des 3 principes mentionnés auparavant est

respectée, l'analyse par injection séquentielle permettra d'estimer la concentration d'un soluté contenu dans un échantillon ainsi que d'autres variables nécessaires à l'analyse chimique [21].

Le mode opératoire est simple, une quantité précise d'échantillon ( $<50 \mu\text{L}$ ) est injectée dans un canal ( $< 1\text{mm}$  de diamètre) contenant un fluide en mouvement ( $<3 \text{ mL min}^{-1}$ ) [22]. Ce liquide « porteur » est généralement le réactif. L'échantillon est alors « étalé » dans le réactif en fonction de la vitesse d'écoulement de ce dernier. Plus l'écoulement est rapide, plus la dispersion de l'échantillon dans le réactif sera importante. Le liquide porteur, qui se déplace de façon continue, n'est pas segmenté, et la zone formée par l'injection répétée de l'échantillon est ainsi transportée vers un détecteur afin d'enregistrer les variations d'un paramètre physique ou physico-chimique caractéristique de l'échantillon ou, le plus souvent, de l'un de ses éléments constitutifs [23]. Ce principe de dispersion permet d'enregistrer un signal transitoire, correspondant à une concentration non homogène de soluté, lorsqu'il passe devant le détecteur. A ce stade, il est important de souligner que la mesure est effectuée hors équilibre puisque ni l'homogénéité du mélange ni l'équilibre chimique ne sont atteints au moment de la détection. Pour cette raison l'analyse par FIA et les techniques qui en sont dérivées sont considérées comme des méthodes cinétiques en mode d'analyse résolu dans le temps [24].

Généralement, les éléments principaux d'un système d'analyse par FIA sont (i) des pompes péristaltiques pour introduire l'échantillon et les réactifs, (ii) une série de tubes en plastique pour le transport et mélange de solutions, (iii) un système de vannes d'injection pour introduire dans le système un volume constant d'échantillon ou de réactifs, et enfin (iv) un système de détection en ligne (Figure 3).

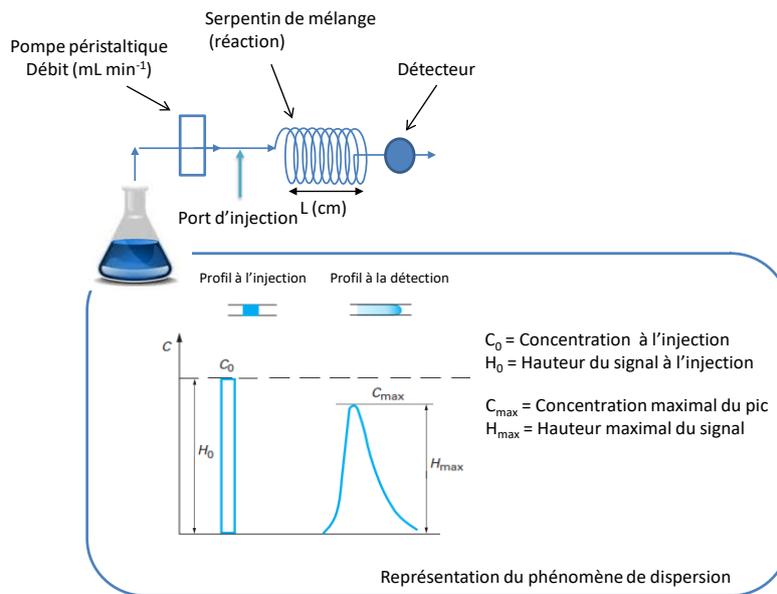


Figure 3 : Schéma de principe d'un système d'analyse par FIA et représentation du profil de distribution de l'échantillon injecté adapté de Technique de l'ingénieur [25] et [26]

Comme mentionné précédemment, la technique est basée sur la combinaison de trois facteurs :

- *L'injection de l'échantillon* : l'objectif ultime d'un système FIA est d'introduire un volume précis d'échantillon dans un canal contenant un ou plusieurs réactifs en écoulement stationnaire. La précision de l'injection doit permettre de toujours avoir un même volume d'injection et une zone occupée par l'échantillon dans le réactif après l'injection reproductibles.
- *La reproductibilité dans le temps* : l'intégralité du système doit être conçue de telle sorte que le temps de résidence de l'échantillon et des réactifs dans le canal de mesure soit toujours le même. Cela permet d'avoir un temps de réaction et de détection identique entre les différents échantillons à analyser.
- *La dispersion contrôlée* : la clé de l'analyse par FIA est le contrôle de la dispersion d'un échantillon qui est injecté dans un écoulement de débit constant. En effet, dans une analyse FIA le mélange de réactifs ne doit pas être homogène entre le point d'injection et le point de détection. Pour cela, en faisant varier le volume d'échantillon injecté, la distance entre le point d'injection et le point de détection, ou en modifiant le débit du réactif, il est possible de changer le profil de concentration de l'échantillon passant par le détecteur (Figure 4).

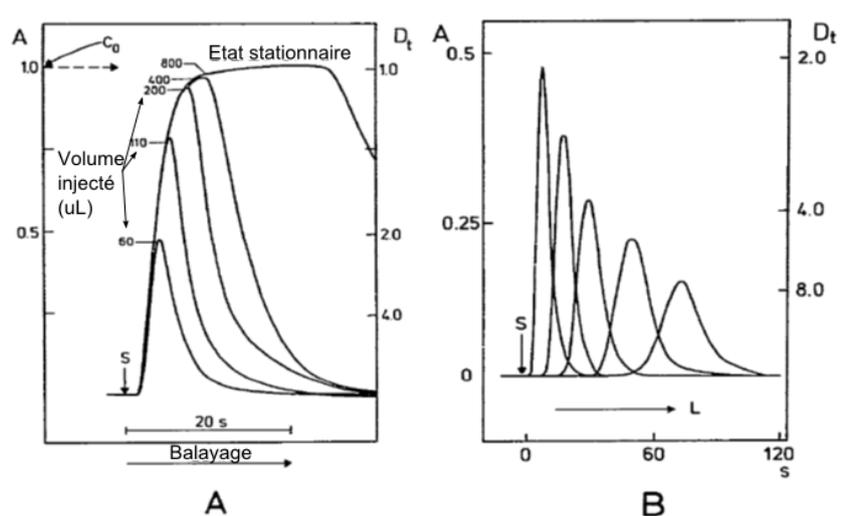


Figure 4 : Représentation de la réponse absorbométrique typique d'une analyse FIA. A) Courbes d'absorbance en fonction du volume d'échantillon, la hauteur du pic d'absorbance augmente avec le volume d'échantillon injecté jusqu'à atteindre un état stationnaire. B) Dispersion d'un échantillon injecté en fonction de la longueur du canal traversé après injection [26].

Le principe décrit ci-dessus peut être appliqué à la mesure d'acidité d'un échantillon par suivi spectrophotométrique. Dans ce cas en particulier, lors de la mesure d'un échantillon, la valeur de l'absorbance sera enregistrée à une longueur d'onde et pendant un intervalle de temps définit. De cette façon, pour une série de mesures sur des échantillons ayant une concentration différente, chaque échantillon mesuré aura une courbe caractéristique représentant la variation de l'absorbance en fonction du temps, et donc une aire sous la courbe, bien définie. L'objectif principal est de montrer qu'il existe une relation linéaire entre les différentes aires des courbes et la concentration dans l'échantillon afin de permettre l'établissement d'une droite d'étalonnage. Le pH n'est donc pas mesuré directement sur l'échantillon mais indirectement à partir d'une droite d'étalonnage, cette technique est appelée titrage par FIA.

Le fonctionnement normal d'une machine FIA consiste à injecter un échantillon dans un réactif en écoulement (Figure 3), le nombre de réactifs pouvant être augmenté par l'ajout d'autres voies et pompes au système (Figure 5) [27]. Ceci sera important pour l'adaptation de la mesure de l'acidité libre par ajout d'oxalates, pour laquelle il sera envisagé d'injecter l'échantillon liquide dans une solution d'oxalate de sodium porteur en écoulement, puis d'ajouter de l'hydroxyde de sodium dopé avec un indicateur coloré pour rendre le mélange visible via un spectrophotomètre.

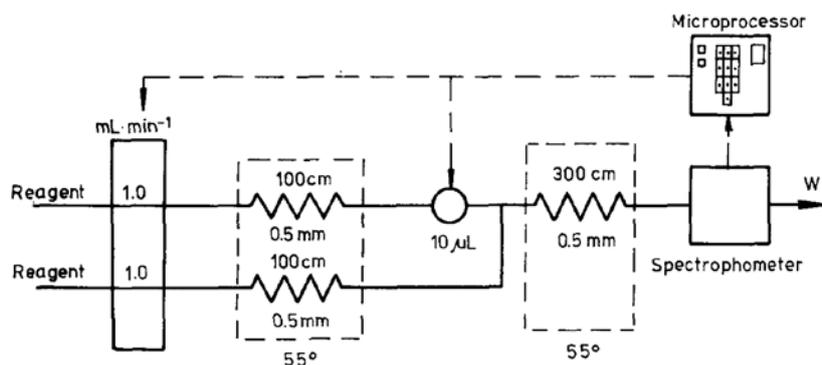


Figure 5 : Schéma d'un système FIA partiellement automatisé et permettant le mélange de deux réactifs avec l'échantillon [27].

Dès son invention en 1975 l'analyse par FIA présentait de nombreux avantages tels que la rapidité d'analyse, la répétabilité et l'automatisation partielle des différents éléments du système. Cela est un avantage considérable pour l'analyse d'échantillons dont la manipulation est dangereuse ou présente un coût élevé. Pour cela, la FIA et son concept ont été amplement utilisés pour le développement des méthodes d'analyse de solutés dans différents domaines de la chimie, de l'agronomie, des sciences de l'environnement, de la biochimie et de la microbiologie. Il faut mentionner que l'analyse d'enzymes, de polluants dans l'eau, de l'acidité d'un échantillon parmi d'autres ont été réalisées grâce à l'adaptation de la technique à une diversité de techniques de détection telles que la colorimétrie, la spectrométrie d'absorption atomique, la spectrométrie de masse à plasma à couplage inductif (ICP-MS), réfractométrie, la chimioluminescence, et l'électrochimie [28].

L'inconvénient majeur des méthodes par mélange hétérogène de réactifs tels que la FIA, est la difficulté de développer des procédures d'analyse du fait de la complexité du mélange réactionnel. En effet, déterminer le volume, le débit, et l'ordre d'injection de chaque réactif dans le système est compliqué du fait de la non-linéarité du mélange qui est formé dans le canal [29]. Cela implique d'une part, que les mélanges sont si complexes que les protocoles analytiques associés ne sont finalement applicables qu'à un système chimique en particulier, et d'autre part, que la complexité de la mécanique des fluides de mélanges rend compliquée la simulation assistée par ordinateurs. Faute de maîtriser la façon dont les réactifs sont mélangés, le temps de développement analytique est rallongé à chaque fois que le volume, l'ordre d'injection ou un des réactifs est modifié.

### 2.2.1.2. Analyse par Injection Séquentielle (Sequential Injection Analysis ou SIA)

L'analyse par SIA est une technique développée dans les années 90 dans le but d'améliorer les performances et de corriger les défauts de l'analyse par FIA. Le principe d'opération de l'analyse par SIA est toujours basé sur un mélange hétérogène de réactifs mais contrairement à la FIA l'analyse SIA est basée sur un débit discontinu des réactifs. Ceci permet le développement de

méthodes complètement automatisées en utilisant une quantité d'échantillon réduite ( $< 50 \mu\text{L}$ ). La rapidité des analyses ( $< 20$  par heure), la réduction du volume des déchets ( $< 3\text{mL}$ ), le faible volume de réactifs utilisés, la reproductibilité entre les mesures et la polyvalence de la machine pour la création de méthodes programmables ont permis à l'analyse par SIA de se faire une place dans le monde de l'analyse industrielle [30]. Un instrument de SIA intègre une pompe bidirectionnelle, un hélicoïde de mélange, une vanne multi-position (lab-on-valve) et un détecteur (Figure 6), chacun des éléments pouvant être programmable de façon indépendante et précise par un langage de programmation de type « liste d'instructions ».

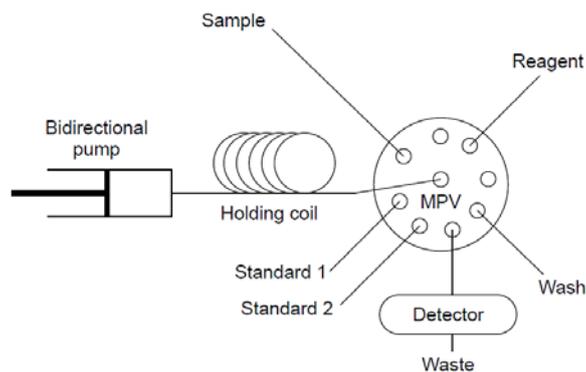


Figure 6 : Schéma de principe présentant les éléments constituant une machine SIA [30]

Le potentiel d'automatisation et le principe d'opération d'une analyse par SIA sont similaires à ceux de la FIA. Dans les deux cas, l'analyse est dépendante d'un contrôle de la dispersion de l'échantillon. Cependant, contrairement aux systèmes FIA, où chaque réactif en écoulement a besoin d'être connecté au canal de mélange, dans les systèmes SIA une seule vanne multi-position centralise l'arrivée des réactifs et les empile séquentiellement dans le canal de mélange, permettant ainsi la manipulation de plusieurs réactifs dans la même méthode (Figure 7) [31]. L'utilisation d'une vanne multi-position ayant au moins 4 entrées et 1 sortie pourrait permettre l'injection des réactifs (oxalate, NaOH, indicateur coloré et échantillon d'acide) nécessaires pour la mise en place d'une mesure de l'acidité libre par ajout d'oxalates.

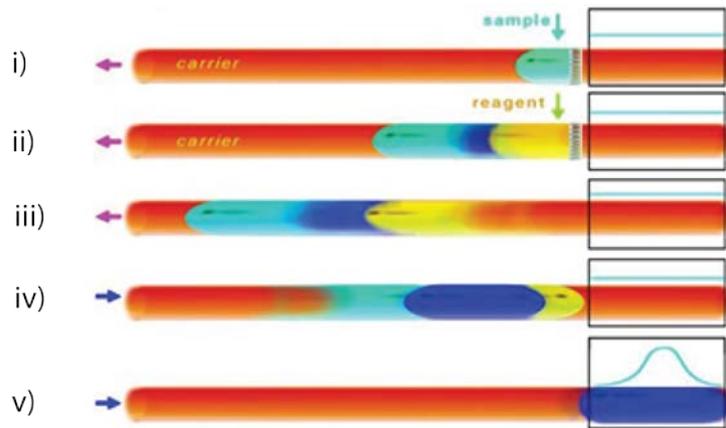


Figure 7 : Représentation schématique d'une injection discontinue de réactifs pendant une analyse par SIA. i, ii et iii) empilage de réactif R et soluté S dans un canal de rétention ; iv) mélange des réactifs suite à une inversion de flux, ce qui donne lieu à la formation d'une zone de produit P ; v) détection [31].

De plus, les pompes péristaltiques utilisées en FIA sont remplacées par des pompes seringues. Les pompes offrent une plus grande précision sur les volumes manipulés et un meilleur contrôle du débit des réactifs. Cette fonctionnalité a ouvert la possibilité d'échanger les canaux fluidiques et les systèmes de détection conventionnels par d'autres composants afin d'augmenter le nombre d'opérations unitaires réalisables par un système SIA. Il est donc possible d'intégrer en amont de l'analyse une étape de pré-concentration, de dilution, de diffusion, d'extraction liquide-liquide, d'extraction gaz-liquide, d'extraction en phase solide ainsi que de réactions chimiques et biochimiques (Figure 8) [32].

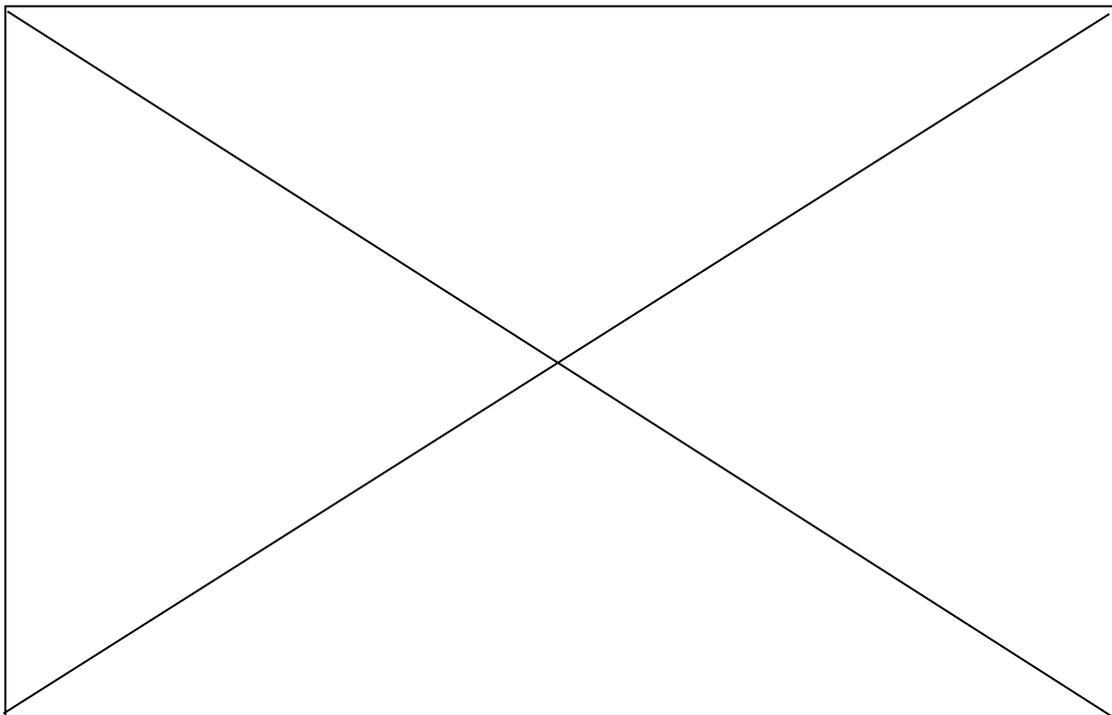


Figure 8 : Schéma d'un système SIA présentant la diversité de composants pouvant amplifier le nombre d'opérations unitaires accessibles [32].

L'utilisation d'une vanne multi-position qui centralise l'injection des réactifs/échantillons est l'avantage majeur des systèmes SIA. Premièrement parce que le volume d'échantillon n'est plus limité à la taille de la vanne d'injection, comme c'est le cas de l'analyse par FIA. Deuxièmement celle-ci évite l'écoulement continu des réactifs et par conséquent, limite le volume de déchets (radioactifs dans notre cas) issus d'une analyse. Cependant, comme pour la FIA, la mise en œuvre de mélanges hétérogènes de réactifs est encore le facteur limitant pour le développement rapide d'une méthode d'analyse.

### ***2.2.1.3. Analyse par FIA multi-commutée (MCFIA)***

De la même manière que pour la FIA conventionnelle, les méthodes d'analyse par MCFIA sont basées sur une dispersion contrôlée et un mélange hétérogène de réactifs. Néanmoins, par rapport à la FIA, cette technique ne mesure pas le volume d'échantillon injecté dans le système mais le temps d'injection, ce qui ajoute un facteur de plus sur la répétabilité entre les mesures puisque la répétabilité du système n'est pas uniquement associée à la stabilité de la pompe péristaltique, mais aussi à la précision de la mesure du temps d'injection d'un échantillon [33].

L'autre élément principal d'un système MCFIA est la vanne solénoïde à 3 positions. Celle-ci agit comme un switch indépendant qui est contrôlé automatiquement par ordinateur. De cette façon l'injection des réactifs (<500  $\mu\text{L}$ ) est faite par le contrôle de l'activation de la vanne se trouvant initialement soit dans une position normalement ouverte (NO) soit dans une position normalement fermée (NF) (Figure 9) [34]. Dans le cas de la mesure de l'acidité libre par ajout d'oxalates et des besoins analytiques qui en découlent, l'utilisation de ce type d'arrangement de vannes pourrait permettre l'injection de l'échantillon acide, de la base, du complexant et encore d'autres réactifs de façon indépendante. Cependant, par rapport à l'analyse SIA où les réactifs sont introduits dans le canal de mélange par un seul pousse-seringue, dans le cas de la MCFIA la mise en écoulement de chacun des réactifs nécessite une pompe péristaltique (< 2  $\text{mL min}^{-1}$ ) et plusieurs vannes trois voies, ce qui augmente le nombre d'éléments électromécaniques à nucléariser, sans compter la difficulté technologique (ou complexité) liée à la réduction de la taille de ces deux éléments [35].

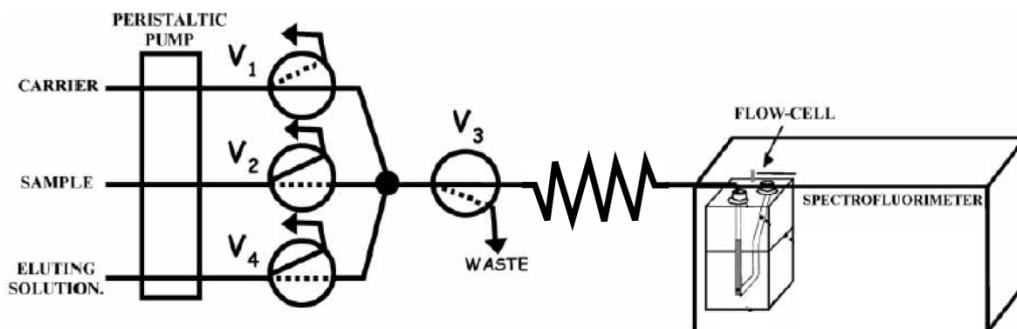


Figure 9 : Schéma d'un système MCFIA conventionnel. Les vannes V1, V2, V3 et V4 sont des vannes à trois voies et permettent le passage sélectif des réactifs vers le boucle de mélange [34].

#### 2.2.1.4. Analyse par FIA-on-chip

La R&D orientée vers la miniaturisation des systèmes analytiques est à la base de l'évolution technologique des systèmes FIA vers l'élaboration des microsystèmes sur puce. Ces systèmes appelés « FIA-on-chip » ont un format portable. De plus, la dimension interne des canaux de quelques dizaines de micromètres ( $< 250 \mu\text{m}$ ) minimise la consommation de réactifs, les besoins énergétiques et la quantité de déchets issus par analyse. Les systèmes FIA sur puce ont un débit de fonctionnement aux alentours de  $20 \mu\text{L min}^{-1}$  pour des volumes d'injection d'échantillon de moins de  $10 \mu\text{L}$  (Figure 10) [36].

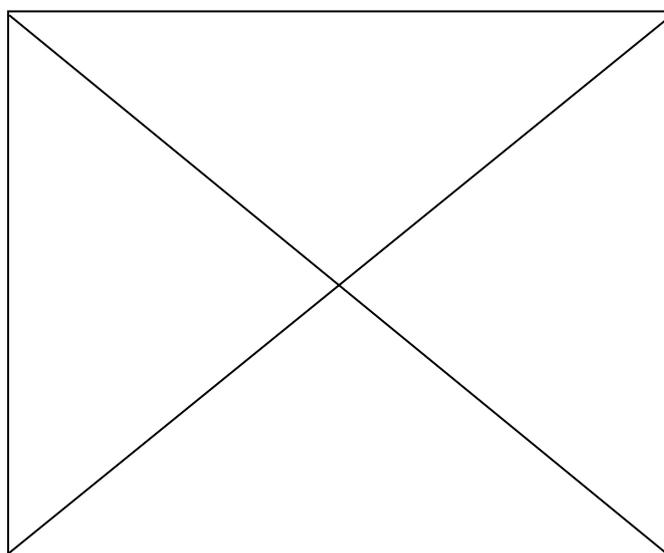


Figure 10 : Exemple d'une FIA-on-chip. Deux puces en parallèle sont utilisées pour effectuer l'oxydation d'une molécule pharmaceutique, la détection est faite par chimioluminescence [36].

Par rapport aux systèmes à plus grandes dimensions tels que la FIA, la SIA et la MCFIA, la FIA sur puce offre la possibilité de déporter les différents éléments de contrôle (pompe, vannes, détecteur) et de tout intégrer dans une seule puce. Dans le cas des détecteurs, les nouvelles techniques de micro-fabrication ont ouvert la voie à des matériaux conducteurs permettant

l'intégration de microélectrodes pour une détection électrochimique [37]. Les progrès dans le micro-usinage ont été utilisés pour la fabrication de micro canaux sur des supports polymères présentant des propriétés mécaniques et physicochimiques particulières (par exemple, des matériaux donnant lieu à une déformation des canaux selon le passage d'un composé chimique, ou par application externe au capillaire d'un débit de fluide perpendiculaire à l'écoulement). Quel que ce soit le cas, la déformation du canal joue le rôle de vanne [38]. Finalement, les pompes intégrées, mieux connues sous le nom de pompes passives, utilisent l'énergie potentielle et l'énergie de surface pour le déplacement du fluide. Une pompe passive, par exemple, n'a pas de pièces amovibles et ne nécessite pas l'apport d'une énergie externe pour maintenir un débit de fluide. Dans ce cas, le fluide est entraîné par les propriétés de surface des canaux, la géométrie du canal, la pression de colonne du réservoir contenant les réactifs ainsi que les propriétés physicochimiques des réactifs [39] (Figure 11).

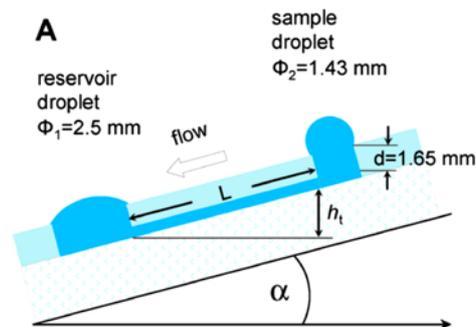


Figure 11 : Pompe passive intégrée dans une FIA sur puce. La relation entre le débit d'écoulement d'un réactif et la pression hydrostatique est déterminée par l'angle d'inclinaison «  $\alpha$  » du canal [39].

Actuellement, les applications des systèmes de FIA sur puce se concentrent sur la biochimie, notamment pour mettre en œuvre des réactions enzymatiques et d'immunologie. Leur application pour la mesure de l'acidité n'a pas encore été décrite dans la bibliographie, même si visiblement ces versions miniatures ont les mêmes avantages que la FIA, et qui utilisent encore moins d'échantillon par rapport à cette dernière. L'application des puces microfluidiques pour la mesure de l'acidité libre par ajout d'oxalates ne semble pas envisageable suite à la nature de leurs matériaux de fabrication. Les microvannes intégrées au microsystème par exemple, sont normalement fabriquées en polydiméthylsiloxane (PDMS) [40], matériau connu pour subir de forts effets de dégradation par radiolyse [41]. Pour cela, en vue de l'analyse de solutions à forte acidité et contenant de la matière radioactive, il faudrait plutôt utiliser des microsystèmes fabriqués à partir de matériaux plus résistants tels que le verre ou le polyétheréthercétone (PEEK). A savoir que selon l'application, la fabrication de microsystèmes avec ce type de matériaux n'est pas triviale.

## 2.2.2. Systèmes de détermination de pH par gradients de concentration linéaires de réactif

### 2.2.2.1. *Titration volumétrique par ajout triangulaire*

De façon à simplifier le travail de compréhension des phénomènes à l'intérieur du canal de mélange, NAGY et FEHER ont proposé en 1977 le titrage par ajout triangulaire. Cela représente la première technique de titrage volumétrique en continu utilisant un gradient de concentration linéaire. L'avantage de cette technique est la justesse de la mesure, qui est basée sur un vrai titrage volumétrique. Contrairement aux méthodes FIA, où il est ciblé un mélange hétérogène de réactifs dans le canal afin d'obtenir un signal transitoire à évaluer dans le temps, dans le titrage par ajout triangulaire l'objectif est de favoriser l'homogénéité du mélange entre les réactifs jusqu'à la détection du point d'équivalence chimique entre les réactifs.

Le principe opératoire de cette technique est le même que celui d'un titrage volumétrique mais celui-ci est adapté pour fonctionner avec un écoulement continu de réactifs ( $< 1 \text{ mL min}^{-1}$ ). Dans un titrage volumétrique classique, un volume variable de réactif est ajouté à un volume fixe d'échantillon pour atteindre le point d'équivalence chimique. Ici, un débit variable de réactif rejoint un débit fixe d'échantillon à l'entrée d'un hélicoïde de mélange (rayon  $< 250 \text{ }\mu\text{m}$ ) suffisamment long pour s'assurer d'atteindre un mélange homogène à la sortie du mélangeur. Si un détecteur chimique est placé en sortie du canal de mélange et que le débit massique d'un des réactifs peut être augmenté graduellement, alors l'état d'avancement du titrage pourra être suivi ponctuellement jusqu'au point d'équivalence. La concentration de départ de l'échantillon est déterminée par la relation entre le débit massique du réactif et celui de l'échantillon à l'arrivée au point équivalent du titrage. De plus, les auteurs ont proposé de mesurer le temps de passage d'un débit initial jusqu'au débit au point d'équivalence, puis d'effectuer la même mesure en faisant varier le débit de retour au débit initial. Le double passage donnant lieu à un graphique triangulaire, permet de minimiser l'erreur sur la justesse de la méthode provenant du délai entre le temps d'introduction et de détection du réactif, ainsi que l'effet de dilution engendré par le taux de variation du débit de réactif (Figure 12) [42].

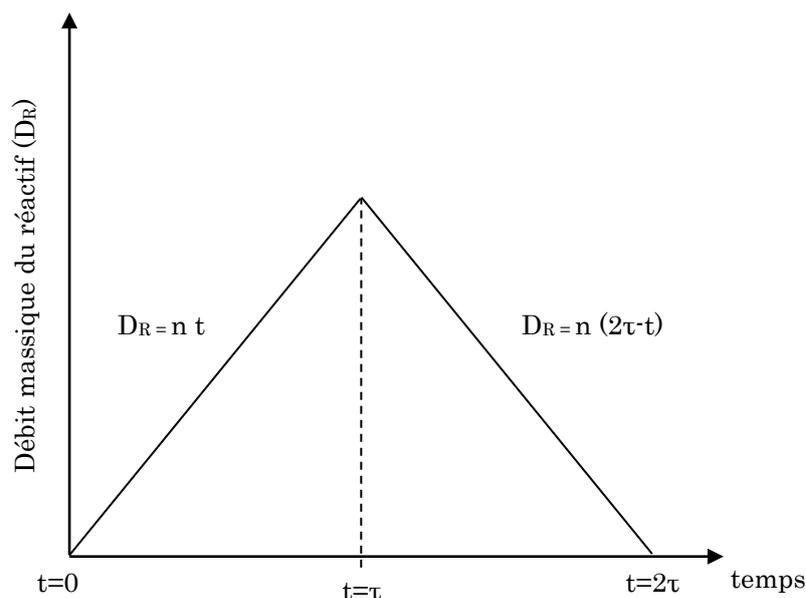


Figure 12 : Description graphique du programme d'addition triangulaire de réactifs pour le titrage volumétrique en continu d'un échantillon.  $D_R$  = Débit massique du réactif ;  $n$  = constante ;  $t$  = temps ;  $2\tau$  = durée totale du programme [42].

D'un point de vue pratique, le protocole analytique pour un titrage par ajout triangulaire contient trois éléments principaux : le taux de variation du débit du réactif, le débit de l'échantillon et le temps pendant lequel le débit du réactif augmentera jusqu'au point d'équivalence. De cette manière, pour développer une méthode d'analyse mettant en œuvre cette technique il faut prendre en compte deux aspects d'importance :

- Premièrement, il faut un système de détection en continu adapté à la taille du système et aux caractéristiques chimiques de la phase liquide. De plus, la réponse du détecteur doit être linéaire par rapport à la concentration du réactif d'intérêt et sélective envers les sous-produits indésirables.
- Deuxièmement, il est nécessaire de définir un taux d'ajout de réactif afin d'assurer un débit de travail en accord avec un système de détection. Il faut ajouter que, puisque le taux de variation du débit du réactif est constant, la procédure revient à générer un gradient de concentration linéaire [43]. De plus, ces gradients de concentration sont générés par des micro-pompes contrôlés automatiquement par ordinateur.

L'avantage de la technique est l'utilisation d'une électronique embarquée pour minimiser le temps de réponse du système ainsi que pour effectuer une auto-calibration des pompes. Ces deux facteurs garantissent la fiabilité entre la puissance imposée à la pompe et le débit réel des fluides.

Du côté instrumental et mécanique, la mise en œuvre des titrages triangulaires peut également être faite en utilisant un système FIA, du fait de la ressemblance des principes d'opération (l'écoulement de deux réactifs en parallèle qui s'unifient dans un canal de mélange muni d'un détecteur). (Figure 13) [44].

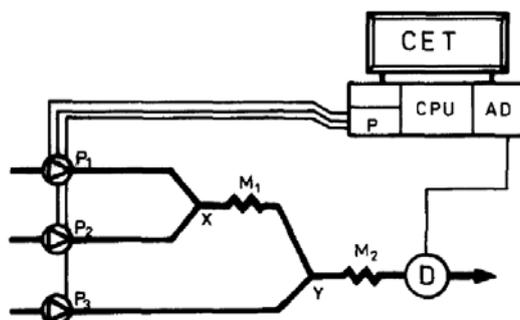


Figure 13 : Schéma d'un système de titrage volumétrique par ajout triangulaire. La ressemblance avec un système FIA permet l'adaptation simple de ces systèmes pour les titrages triangulaires [44].

Les avantages mentionnés précédemment permettent d'envisager l'utilisation du principe des titrages triangulaires pour la mesure de l'acidité libre par ajout d'oxalates. Comme montré dans la figure 13, l'écoulement des réactifs peut être adapté pour former, à débit constant, un premier mélange entre l'échantillon acide et l'oxalate de sodium. Ensuite, la solution obtenue sera mélangée à nouveau, avec un écoulement variable, cette fois-ci, d'hydroxyde de sodium dopé avec un indicateur universel. Un des inconvénients de la technique est l'obligation d'avoir un écoulement continu d'échantillon (dès la formation du premier mélange et jusqu'à l'obtention du point équivalent du titrage par variation du débit de la base), ce qui se traduit par un plus grand volume d'échantillon nécessaire pour l'analyse par rapport aux techniques FIA (où le volume d'échantillon nécessaire est fixé au volume de la vanne d'injection). Néanmoins, utiliser un gradient de concentration linéaire facilite le développement d'une méthode d'analyse, puisqu'il suffirait de faire varier linéairement le débit de la base pour atteindre le point équivalent du titrage et donc, remonter à la concentration initiale de l'échantillon d'acide.

#### ***2.2.2.2. Titration par systèmes à dilution combinatoires***

Les systèmes de dilutions combinatoires comportent un réseau de canaux embarqués (rayon < 250  $\mu\text{m}$ ), configurés géométriquement de telle manière, que deux ou plusieurs réactifs s'écoulant en parallèle (<100  $\mu\text{L min}^{-1}$ ) soient partiellement mélangés à leur passage par le réseau de canaux par transport convectif et diffusif. Les dilutions obtenues, ayant chacune une concentration de réactifs différente, sont aussi considérées comme des gradients de concentration, bien qu'elles ne soient pas linéaires, elles sont reproductibles et constantes dans le temps [45]. En général, les gradients de concentration dans ce type de systèmes varient en fonction de deux paramètres, le

débit d'introduction des réactifs et la configuration des canaux. Ce dernier paramètre revêt un caractère innovant dans cette technique, puisque l'arrangement entre les canaux peut prendre une forme linéaire, radiale ou encore un mélange entre les deux (Figure 14). Finalement, les systèmes à dilution combinatoire sont normalement utilisés pour l'étude rapide de systèmes de réactions chimiques, dont les réactions acido-basiques. Ceci est dû au fait de la polyvalence du système pour modifier le gradient de concentration, ou le ratio molaire entre les réactifs lorsque le débit d'au moins une des espèces vari.

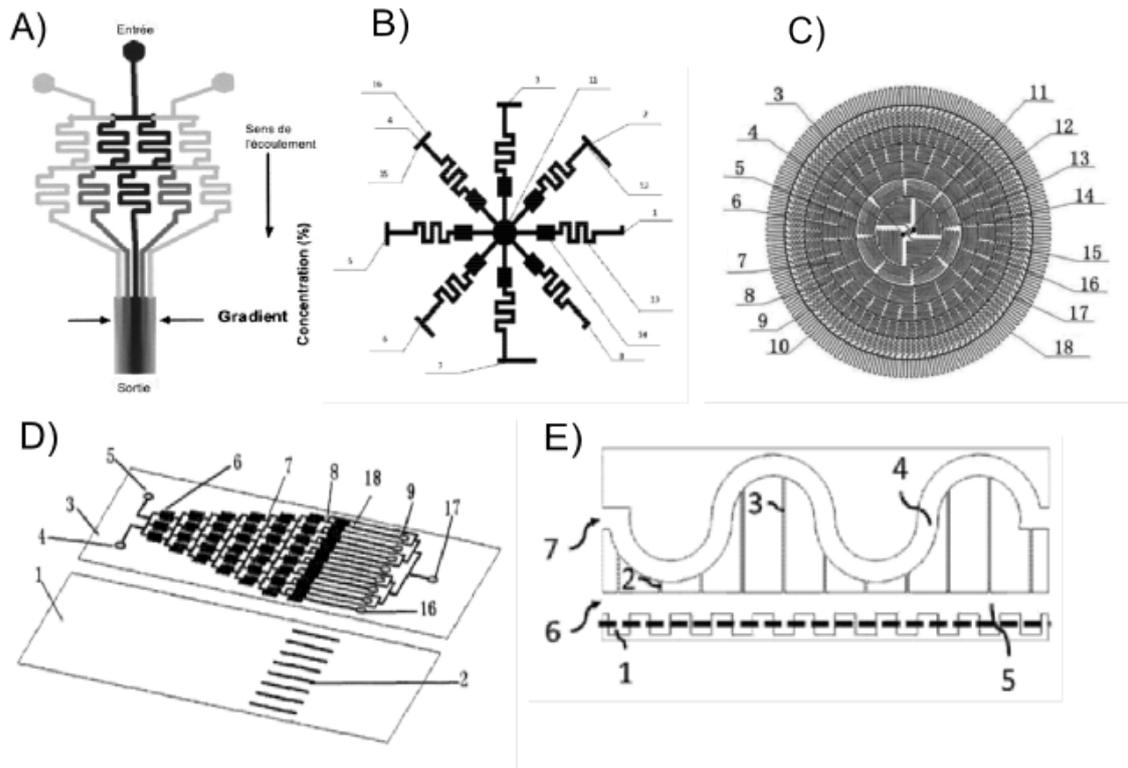


Figure 14 : Exemple de systèmes de titrage à dilution combinatoire. A) Système de génération de gradients de concentration paraboliques [46]; B et C) Système de génération de gradients de concentration radial, l'entrée dans le système est faite par l'extérieur et la détection est concentrique [47], [48]; D) Système de génération de gradients de concentration linéaires, l'entrée est faite par 4 et 5 et le gradient de concentration linéaire est détecté à l'extrémité du microsystème entre 16 et 9 [49]; E) Système de génération de gradients par pontage de canaux, les canaux perpendiculaires 2 et 3 permettent le transfert de matière entre les fluides coulant à travers les canaux 7 et 5 [50].

L'avantage majeur des systèmes mettant en œuvre une dilution combinatoire est la possibilité d'étudier plusieurs rapports réactif / soluté instantanément. En effet, cela devient possible lorsqu'un gradient de concentration linéaire est généré dans la largeur du microsystème (Figure 14; D). Si ce principe est appliqué à une réaction acido-basique chaque point du gradient représente un rapport acide-base spécifique et si le suivi de la réaction est effectué par colorimétrie il suffit alors de regarder pour quel rapport de concentration acide-base l'indicateur universel change de couleur.

La sensibilité de la mesure dans ce type de titrage est donnée principalement par le nombre de points du gradient, c'est-à-dire, par la quantité de canaux en parallèle à travers lesquels le

gradient se crée, mais aussi par l'étude pratique du système permettant de déterminer le rapport acide-base qui existe dans chaque micro-canal pour un débit déterminé.

L'inconvénient de ces systèmes de titrage est que la précision de l'écoulement est dépendante de « l'homogénéité » de la géométrie des micro-canaux, paramètre qui sera plus ou moins compliqué à régler selon les dimensions des micro-canaux et la nature du matériau de fabrication du micro-système [51].

### ***2.2.2.3. Système de titrage par gradients linéaires de réactif générés par diffusion***

Il a été montré que les gradients de concentration linéaires facilitent la compréhension des phénomènes de mélange à l'intérieur d'un canal [52]. Cela est important afin de faciliter l'étude de systèmes de réaction acide-base, dans le cadre du développement de véritables titrages volumétriques en continu [17]. Cependant, faire varier la vitesse d'ajout du réactif ou l'utilisation d'un réseau embarqué de canaux ne sont pas les seules techniques existantes pour former un gradient. Il existe d'autres méthodologies mettant en œuvre des régimes de dispersion et de diffusion spécifiques. Par exemple, ATENCIA et son équipe ont développé une « palette micro-fluidique » intégrant deux phénomènes de transport complètement découplés. Aux extrémités du micro-système a lieu le transport convectif des réactifs afin de créer une source à concentration constante, alors qu'au centre du micro-système est implémenté un micro-canal où un gradient de concentration linéaire est généré par diffusion simple (Figure 15) [53]. La méthode mise-en-œuvre nécessite plus d'une heure pour stabiliser le système eau-tampon-fluorescéine, et plus d'un quart d'heure pour la formation d'un gradient de concentration linéaire constant dans le temps. MOSADEGH et son équipe ont développé un autre micro-système capable de générer 3 profils de gradients différents (Figure16) [54].

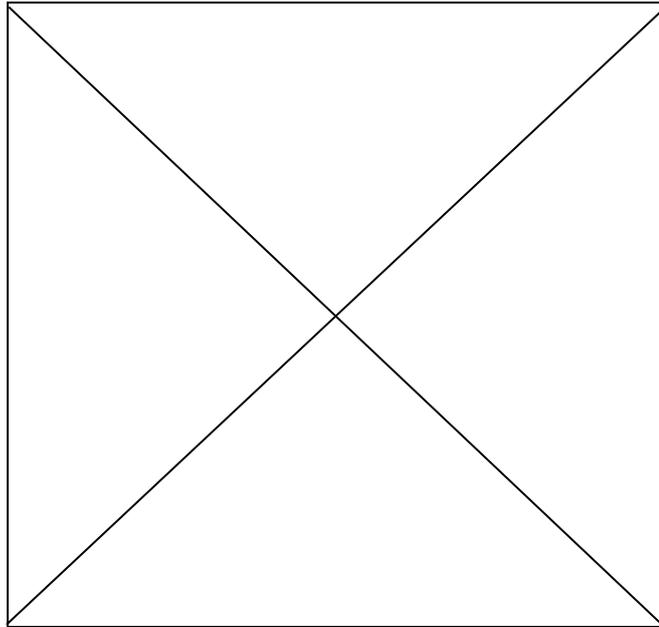


Figure 15 : Générateur de gradient par diffusion 1-D et 2-D. a) Schéma de principe d'un générateur de gradient par diffusion 1-D, la diffusion est produite à l'interface entre le canal de convection et le canal de diffusion en faisant correspondre les débits d'entrée et de sortie ; b) Schéma de principe d'un générateur de gradient par diffusion 2-D [53].

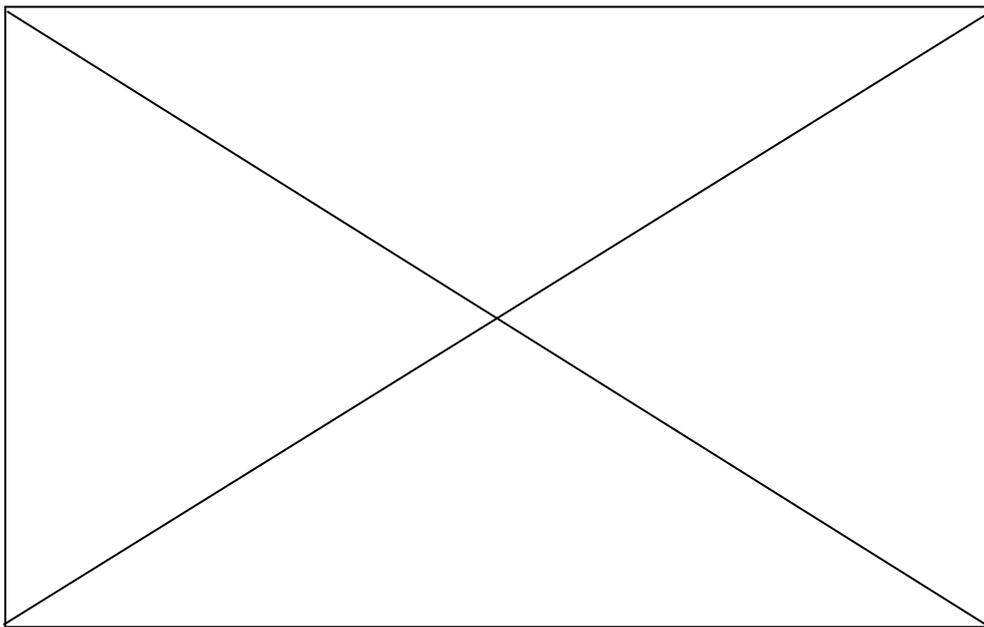


Figure 16 : Principe de fonctionnement d'un générateur de gradient par diffusion 1-D. a) Schéma pour l'obtention d'un gradient de concentration non-linéaire « a1 » par diffusion 1-D. La diffusion est produite à l'interface entre les canaux de dispersion « sink » et « source » ; b) Schéma pour l'obtention d'un gradient de concentration linéaire « b1 » ou non linéaire « b2 » par diffusion 1-D [54].

La faible vitesse de formation du gradient obtenu par diffusion simple, permet la gestion et le traitement d'échantillons dans le domaine de la biochimie et la biologie. En effet, le débit obtenu par les techniques dispersives risque d'endommager les cellules, les enzymes ou d'autres échantillons à membranes fragiles [55]. Néanmoins, les réactifs à utiliser dans le contexte de la

thèse sont insensibles à la vitesse volumétrique. De plus, les réactions acido-basiques sont en général de l'ordre de quelques microsecondes [56]. La formation d'un gradient en plus d'une heure n'est pas compatible avec les exigences du cahier de charges du projet. Ce délai par analyse est en effet un facteur limitant pour la vitesse de fonctionnement d'un laboratoire d'analyse de routine.

#### ***2.2.2.4. Système de titrage par gradients linéaires de réactif générés par dispersion***

Une autre innovation dans la formation de gradients de concentration linéaires via des phénomènes dispersifs et diffusifs a été développée en 2003 par MAGNALDO et DAVIN. Le brevet de principe résultant de leurs travaux utilise une pompe péristaltique pour introduire l'échantillon, et un pousse-seringue de 500  $\mu\text{L}$  pour délivrer une solution de soude dopée avec du bleu de bromothymol (BBT) (Figure 18). L'échantillon et la solution de soude arrivent de façon perpendiculaire vers un embranchement en forme de T qui conduit à la sortie vers un capillaire droit de 500 $\mu\text{m}$  de diamètre et 20 cm de longueur. La mise en application du brevet est donnée par (1) l'écoulement de l'échantillon acide noté « E » jusque dans le capillaire droit de sortie et (2) l'injection instantanée d'une quantité fixe de soude venant du pousse-seringue dans le même capillaire de sortie. Une telle procédure permet la génération d'un gradient de concentration tout au long du capillaire de réaction. A partir de cela, deux différentes zones peuvent être identifiées sur la longueur du capillaire selon le pH du mélange, une zone jaune de pH acide et bleu de pH basique. La réaction le long du capillaire est enregistrée au cours du temps par une barrette de photodiodes. Après l'étalonnage de la réponse entre le signal détecté et la couleur du BBT il est possible de remonter à une valeur de l'acidité de l'échantillon. Cela simplifie le travail de compréhension des phénomènes à l'intérieur du canal de mélange et permet, pour la première fois, le développement de procédures analytiques génériques (Figure 17) [57].

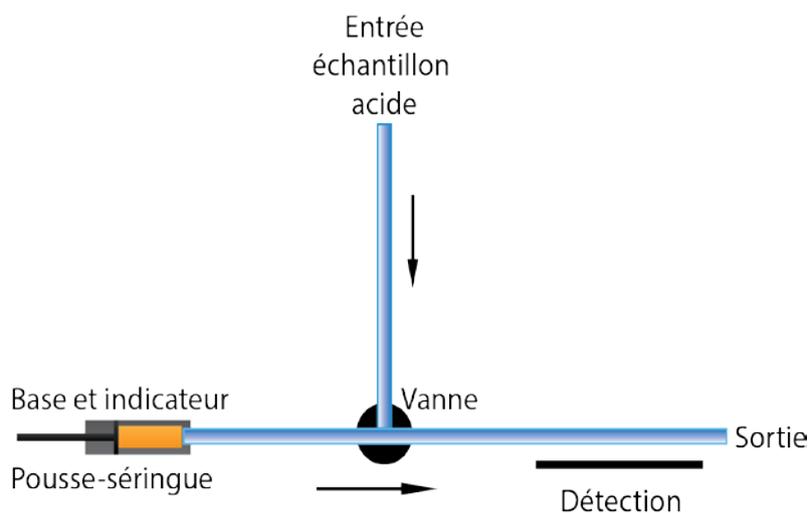


Figure 17 : Exemple de montage pour un titrage volumétrique par dispersion de Taylor – Aris [57].

Le brevet peut être expliqué par la nature de l'écoulement à l'échelle microfluidique. En dehors des effets électrocinétiques, les écoulements microfluidique se caractérisent par une forte dispersion de vitesse dans la section centrale des canaux. Par exemple, pour un écoulement entre deux plans parallèles et avec un faible nombre de Reynolds ( $Re = \text{Forces d'inertie} / \text{Forces visqueuses} < 100$ ) le profil de vitesse est parabolique. Dans ce cas particulier, la vitesse au centre est 1,5 fois plus grande que la vitesse moyenne, alors que la vitesse au niveau des parois est quasi-nulle (Figure 18). Ce profil de vitesse parabolique a été étudié par Taylor en 1953, qui a mis en écoulement une espèce coloré à l'intérieur d'un tube capillaire préalablement rempli d'eau. Cela afin de déterminer s'il y a de possibles interactions entre le profil de vitesse de l'écoulement et le transport de matière de l'espèce colorée. A la fin, les résultats qu'il a publiés ont été les bases de ce qui est connu aujourd'hui sous le nom de dispersion de TAYLOR-ARIS, qui considère que la relation entre profil de vitesse et le transport de matière est donnée par un coefficient de diffusion effectif, et qui est appliqué à toute espèce aqueuse en écoulement dans un canal droit. En effet, ce coefficient est la somme du coefficient de diffusion thermique de l'espèce plus et d'un coefficient relatif au rapport entre le transport dispersif et le transport diffusif (Equation 1) [58]. De cette manière, il décrit que lorsque la vitesse de l'écoulement est très élevée, le coefficient de diffusion effectif de l'espèce est dominé par le terme du transport dispersif de l'équation. Ce qui veut dire que la dispersion liée au transport de matière sera gouvernée par le profil de vitesse généré par l'écoulement. Dans le cas contraire, lorsque la vitesse de l'écoulement est très faible, le coefficient de diffusion effectif sera dominé par le terme diffusif, ce qui veut dire que le transport de matière sera fait uniquement par diffusion simple. A la fin, la conclusion la plus importante des travaux de TAYLOR est qu'il est possible de calculer la vitesse d'écoulement, et donc un temps, pour lequel le transport de matière est uniquement dispersif, phénomène qui donne comme résultat la formation d'un gradient de concentration linéaire au long du capillaire. Dans le cas du montage expérimental utilisé par TAYLOR, qui comprend d'un capillaire cylindrique de 0,25 millimètres

de rayon interne ( $h$ ) et 75 cm de longueur ( $L$ ), pour qu'une solution de permanganate de potassium (coefficient de diffusion thermique ;  $D_{th} = 0,7 \times 10^{-5} \text{ cm}^2 \text{ s}^{-1}$ ) soit uniquement transportée par convection, il faut que celle-ci soit transportée à une vitesse plus élevée que  $12 \text{ cm s}^{-1}$  ( $U_x > L D_{th} 3,8^2 / h^2$ ). Or, étant donné que la longueur du capillaire et la vitesse sont liés par le temps, cette équation peut être aussi exprimée en temps et donc il faudrait que le transport du permanganate se fasse dans un temps plus court que 6,2 s ( $t < h^2 / 3,8^2 D_{th}$ ). Pour des vitesses d'écoulement plus faibles que  $12 \text{ cm s}^{-1}$ , ou des temps de transport plus élevés que 6,2 s, le transport du permanganate sera fait par un mélange entre diffusion et dispersion et il ne sera pas possible de le faire disperser de telle sorte qu'il forme un gradient de concentration linéaire (Figure 19) [59].

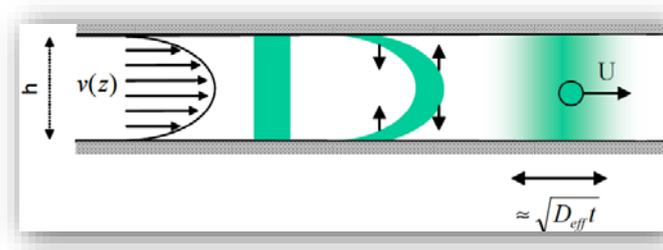


Figure 18 : Couplage entre la dispersion de vitesse et la diffusion selon la théorie de dispersion de Taylor-Aris pour un écoulement de Poiseuille [58].

$$D_{eff} = D_{th} + \frac{1}{210} \frac{U^2 h^2}{D_{th}} = D_{th} + D$$

Équation 1 : Coefficient de diffusion effectif.  $U$  = vitesse moyenne ;  $h$  = hauteur ;  $D_{th}$  = coefficient de diffusion d'origine thermique de l'espèce [58].

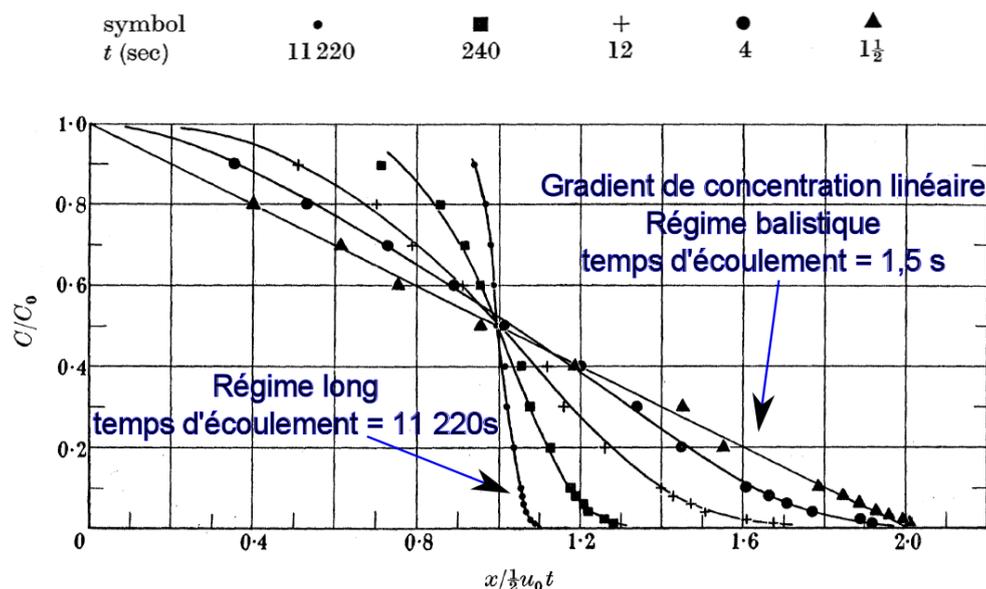


Figure 19 : Illustration de la dispersion de TAYLOR publiée en 1953, qui montre la relation entre la vitesse de l'écoulement avec le transport de matière. L'axe des ordonnées montre le profil de concentration relative du colorant dans le capillaire. L'axe des abscisses est une normalisation entre les profils de concentration afin de pouvoir comparer entre les différents régimes (temps) d'écoulement. Dans toutes les expériences le colorant a été laissé couler jusqu'à la fin du capillaire, dans tous les cas la vitesse moyenne de l'écoulement et le temps d'arrivée à la fin du capillaire ont été enregistrés ;  $x$  = position dans le capillaire où la mesure du colorant a été faite ;  $t$  = temps d'écoulement total ;  $\frac{1}{2} U_0$  = vitesse moyenne de l'écoulement. Dans le graphique est montré le transport d'une espèce colorée le long d'un capillaire de 1 mm de diamètre interne et 75 cm de longueur. Dans un régime balistique ( $t < 0,43 h^2/Dth = 6,2$  secondes) l'espèce colorée parcourt la totalité du capillaire en 1,5 secondes, à cette vitesse le transport dispersif est dominant et l'espèce est transportée avec le profil de vitesse de l'écoulement. Dans un régime long, l'espèce colorée parcourt la moitié du capillaire en 11 220 secondes, à cette vitesse le transport de matière est fait majoritairement par diffusion simple. Les autres courbes sont des régimes intermédiaires et où le coefficient de diffusion effectif est une combinaison entre un transport diffusif et dispersif [59].

Souvent les systèmes analytiques avec circulation permanente de réactifs, comme les systèmes FIA, les méthodes par ajout triangulaire ou les systèmes à dilutions combinatoires, ne peuvent pas être utilisés de façon systématique à cause de leur grande consommation de liquide vecteur et de réactif. En effet, cette consommation continue génère une grande quantité d'effluents pouvant présenter, dans certains cas, des risques pour l'homme, comme les solutions radioactives ou certaines solutions biologiques. De plus, ces systèmes nécessitent l'utilisation de vannes, d'une chambre de mélange ou d'un réseau multiple de canaux, ce qui nécessite une étape technologique supplémentaire non-triviale pour leur fabrication et leur miniaturisation. Le principe d'opération des titrages par dispersion est semi-continu et ne nécessite pas l'emploi d'un liquide vecteur pour l'écoulement des réactifs, ce qui apporte une solution technique aux problèmes de surconsommation d'échantillon et de réactifs. De plus, comme pour le titrage triangulaire, les titrages par dispersion proposés par MAGNALDO et DAVIN peuvent être adaptés à des systèmes FIA ou SIA. Malgré les avantages que présente la génération rapide de gradients de concentration linéaire pour effectuer des titrages volumétriques, seul le concept a été démontré. Aucun système d'analyse et aucune technique d'analyse ne sont pas encore existants pour le titrage acide-base à l'échelle micrométrique. Enfin, sachant que les gradients de concentration sont formés uniquement dans un canal droit, il faudrait également développer un moyen

d'adapter le principe de ce type de titrage à la mesure de l'acidité libre par ajout d'oxalates, où la mise en œuvre nécessite l'injection dans le système et, plus précisément, dans le mélange, d'un échantillon acide, d'une base, d'un indicateur coloré et d'un complexant.

### **3. Critères techniques à satisfaire pour le titrage volumétrique de l'acidité libre d'échantillons irradiés**

Habituellement, avant le développement de toute méthode d'analyse il est nécessaire de définir également la propriété intensive ou extensive de l'échantillon à mesurer, tout comme le type d'analyse, qualitatif ou quantitatif, qui est requis pour couvrir les besoins du laboratoire. Cependant, dans le cas de l'industrie radiochimique, une étape complémentaire qui consiste en une étude permettant de montrer qu'il est effectivement possible d'utiliser le système analytique choisi pour un travail dans un environnement radioactif est requise. L'étude en question doit permettre de s'assurer que :

- Les dimensions du système analytique sont compatibles avec l'espace où il sera confiné
- Les matériaux de fabrication du système ont une résistance suffisante aux phénomènes radiologiques auxquels la machine sera exposée
- La quantité d'échantillon nécessaire pour l'analyse est cohérente avec la quantité qui est disponible ou encore avec la quantité de matière avec laquelle il est possible de travailler (sûreté nucléaire)
- Les performances analytiques de la technique, une fois celle-ci nucléarisée, restent en accord avec les attentes.

Le défi que représente l'utilisation d'une technique analytique dans le milieu radioactif impose d'aborder très tôt le sujet dans les phases de développement analytique.

Dans le cas de la thèse, l'objectif est de mesurer l'acidité libre d'un échantillon provenant du procédé de retraitement de combustible irradié (contenant des cations hydrolysables), notamment de l'étape de dissolution. Le parc de réacteur nucléaire Français étant essentiellement constitué de Réacteurs à Eau Pressurisée (REP), le combustible essentiellement utilisé est constitué de dioxyde d'uranium 238 ( $UO_2$ ) et est enrichi en uranium 235. Après avoir été consommé dans les réacteurs la teneur en uranium 238 se voit réduite à 94%, le cumulé restant est constitué d'environ 1% d'uranium 235, 1% de plutonium et des impuretés telles que l'américium, le technétium, neptunium et des terres rares [60].

Avant d'extraire les impuretés et de ne récupérer que l'uranium avec le plutonium, les pastilles de combustible irradiés doivent d'abord être dissoutes dans un bain d'acide nitrique ayant une concentration initiale de  $8 \text{ mol L}^{-1}$ , et sous une température d'opération comprise entre 70 et 110 °C [61]. Pendant cette étape de dissolution, le dioxyde d'uranium est oxydé en nitrate

d'uranyle et la solution finale contient généralement de l'acide nitrique concentré à 3 mol L<sup>-1</sup>, du nitrate d'uranyle à 1 mol L<sup>-1</sup> plus une diversité de produits de fission ayant une concentration inférieure à 1 mol L<sup>-1</sup> [62]. Néanmoins, dans le cadre de la thèse, pour faciliter le développement de la méthode et avant l'analyse d'échantillons de « type procédé », les premiers travaux ont été réalisés sur des échantillons ne contenant que 1 mol L<sup>-1</sup> de dioxyde d'uranium sous sa valence VI (UO<sub>2</sub><sup>2+</sup>) dissous dans de l'acide nitrique 3 mol L<sup>-1</sup> fournis par la Commission d'Établissement des Méthodes d'Analyse de Marcoule (CETAMA). Reconnaître la nature chimique des échantillons à analyser, a été la première étape de la thèse et a permis la délimitation du domaine d'analyse pour lequel seront développées les solutions à l'échelle milli et micro.

Bien avant le choix du système analytique à mettre en œuvre, il est nécessaire de comprendre les enjeux chimiques autour de la mesure de l'acidité libre. En effet, les cations d'uranyle en tant que puissants acides de Lewis, sont capables de dissocier un proton H<sup>+</sup> de la molécule d'eau pour former des complexes avec les ions OH<sup>-</sup> résultant de la dissociation, les ions H<sup>+</sup> dissociés s'ajoutent aux ions H<sup>+</sup> de l'échantillon de départ et représentent une source d'erreur systématique vis-à-vis de la mesure d'acidité de ce type d'échantillon. Ce phénomène mieux connu sous le nom d'hydrolyse du dioxyde d'uranium a été observé dans la littérature dans une large gamme de pH comprise entre 3 et 12. L'hydrolyse est d'autant plus favorisée que la concentration en uranyle ou que la force ionique de la solution sont élevées (Figure 20) [63, 64].

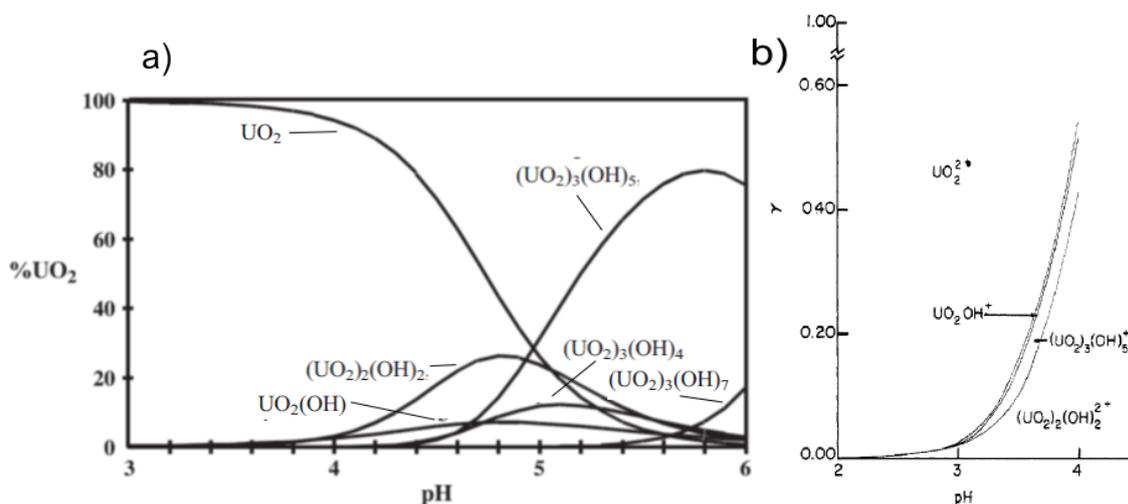
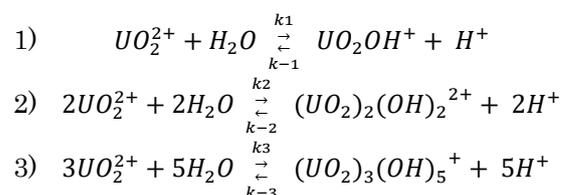


Figure 20 : Diagramme de distribution des espèces hydrolytiques de l'U(VI) lorsqu'il est dissous dans l'eau à différents pH et à 25 °C, a) Système à faible concentration d'uranyle,  $C_{UO_2} = 0.001 \text{ mol l}^{-1}$  ;  $C_{Sels} = 0.5 \text{ mol l}^{-1}$  [63] ; b) Système à moyenne concentration d'uranyle.  $C_{UO_2} = 0.01 \text{ mol l}^{-1}$  ;  $C_{Sels} = 0.5 \text{ mol l}^{-1}$  [64].

L'échantillon de départ étant de l'uranyle dissous dans l'acide nitrique 3 mol L<sup>-1</sup>, dans ces conditions le pH de la solution est inférieur à 3 et aucune réaction d'hydrolyse ne se produit. Cependant, lors d'un titrage volumétrique une base est normalement ajoutée jusqu'à atteindre le

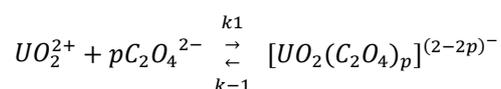
point d'équivalence chimique à pH = 7, et comme indiqué dans la littérature, plusieurs produits d'hydrolyse seront formés entre pH 3 et 7 (Réaction 1) [64].



*Réaction 1 : Réactions d'hydrolyse ayant lieu dans une solution aqueuse contenant du dioxyde d'uranium (VI) à un pH inférieur à 6. Parmi les différents produits d'hydrolyse, c'est le  $(\text{UO}_2)_2(\text{OH})_2^{2+}$  qui prédomine avec une vitesse de formation moyenne de  $k_2 = 116 \pm 6 \text{ mol}^{-1} \text{ s}^{-1}$  dans Un milieu chimique  $\text{NaClO}_4$  à  $25^\circ\text{C}$  [64, 65]*

Pour minimiser l'influence de l'hydrolyse des cations sur la mesure d'acidité, il a été proposé dans la littérature soit de faire précipiter ou de complexer les cations d'uranyle par ajout d'anions complexants [66, 67], soit de les extraire sur colonne d'échange d'ions [68]. Néanmoins, dans la pratique c'est bien la méthode, par complexation, (méthode G.23 de la CETAMA) qui est actuellement utilisée dans l'usine de retraitement d'AREVA La Hague. La méthode en question fonctionne selon le même principe opératoire que la méthode proposée par MAYANKUTTY [69], qui permet de mesurer l'acidité libre de solutions de nitrate d'uranyle par ajout d'anions oxalate en tant qu'agents complexants.

Le choix de la méthode d'ajout d'oxalates n'est pas aussi trivial, il est connu que les ions actinide dont l'uranyle, forment des complexes forts avec les anions oxalate lorsque le milieu chimique est placé entre un pH 0 et 6, ce qui favorise la complexation des ions actinides lors du titrage de l'échantillon acide avec une base. (Réaction 2) [70].



*Réaction 2 : Réaction de complexation ayant lieu majoritairement dans une solution aqueuse contenant du dioxyde d'uranium (VI) à un pH compris entre 0 et 6. Le complexe prédominant est le  $\text{UO}_2(\text{C}_2\text{O}_4)_2^{2-}$  avec une vitesse de formation moyenne de  $k_1 = 1600 \pm 0.025 \text{ mol}^{-1} \text{ s}^{-1}$  en milieu chimique  $\text{NaClO}_4$  à  $25^\circ\text{C}$  [70] [71]*

En faisant une comparaison entre les zones de pH permettant la réaction d'hydrolyse et de complexation, il est évident qu'entre pH 3 et 6 les deux réactions peuvent avoir lieu et il doit donc exister un équilibre chimique favorisant une réaction plutôt que l'autre. Au-delà du fait que les complexes uranyle-oxalate sont très stables dans le temps et qu'ils sont formés au moins 10 fois plus rapidement que les produits d'hydrolyse [71], MANFREDI a démontré expérimentalement qu'il existe aussi une corrélation entre le pH, le rapport des concentrations (oxalate)/(uranyle) et la quantité de produits d'hydrolyse formés. De forme généralisée, MANFREDI a montré que

l'oxalate doit être au moins 5 fois plus concentré que l'uranyle pour éviter la formation de produits d'hydrolyse dans une solution ayant un pH compris entre 3 et 6 (Figure 21) [72].

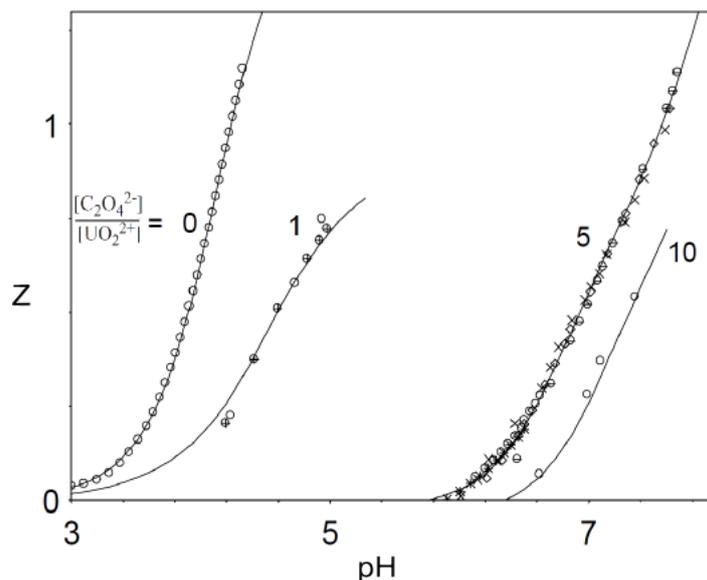


Figure 21 : Diagramme indiquant la relation existante entre le pH, le rapport Oxalate / Uranyle et les produits d'hydrolyse. Un rapport oxalate / uranyle de 5 est suffisant pour éviter la formation de produits d'hydrolyse pour des pH < 6. Z = nombre moyen d'ions OH couplés par cation  $[UO_2]^{2+}$  totale [72].

En plus de l'étude bibliographique décrivant la relation entre le pH de la solution et la concentration des réactifs avec les différentes espèces en solution formées, un logiciel de spéciation spécifiquement développé pour la simulation de l'état d'équilibre de systèmes aqueux complexes (CHESS) [73] a été utilisé afin de mieux caractériser l'environnement chimique qui favorise la réaction de complexation et qui évite la formation de produits d'hydrolyse. Pour effectuer les calculs d'équilibre chimique assistés par ordinateur, il a été utilisé la méthode numérique de Newton-Raphson, ainsi que le modèle de Davies pour la correction des constantes d'activité. Tout de même, les constantes d'équilibre chimique pour les équations 2 et 3 ont été obtenues à partir d'une base de données d'études expérimentales internes au CEA (Annexe 2).

Ainsi, deux études ont été identifiées comme indispensables pour s'assurer du bon fonctionnement de la méthode d'analyse de l'acidité libre par ajout d'oxalates, proposée par MAYANKUTTI. La première des études concerne, à partir des concentrations des réactifs défini au préalable par l'auteur de la méthode analytique, la définition du rapport des concentrations [oxalate]/[uranyle] nécessaire pour complexer un minimum de 99% des ions uranyle présents dans l'échantillon (Figure 22). La figure 22 présente l'erreur relative sur la mesure de l'acidité libre liée au défaut de complexation des ions uranyle. Cette première série de simulation montre qu'il faut conserver un rapport molaire supérieur à 3 pour conserver une complexation quantitative des ions uranyle et limiter l'erreur sur la mesure d'acidité libre liée à l'hydrolyse des ions uranyle libres dans la solution.

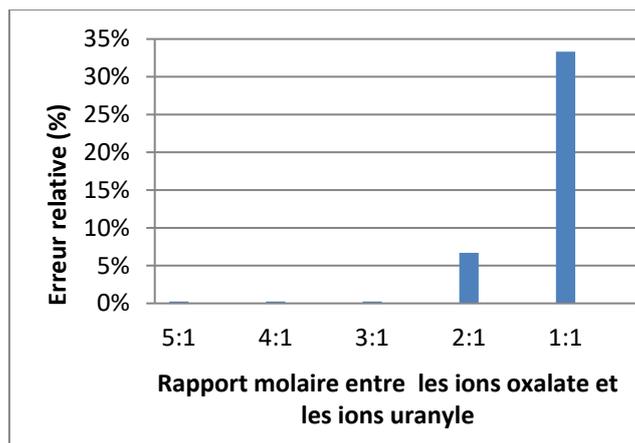


Figure 22 : Erreur relative sur la mesure de l'acidité libre lors de la variation du rapport entre les anions oxalate et les cations uranyle. La concentration d'oxalate a été fixée à  $[C_2O_4]^{2-} = 0,25 \text{ mol L}^{-1}$  et les valeurs  $[UO_2]^{2+}$  ont été adaptées à cette concentration. Dans la méthode par ajout d'oxalates, le point de titrage est fixé à  $pH=5,6$ .

La seconde série de simulations, quant à elle, concerne l'influence du pH de la solution sur le rendement de la réaction de complexation entre l'uranyle et l'oxalate (Tableau 2). En effet, nous avons pu voir que la mise en œuvre d'une solution de titrage miniaturisé en système fluide impose de passer par des étapes de mélange non homogène, pendant lesquelles des gradients de concentration et de pH linéaires et non linéaires peuvent coexister. Il est donc important de connaître les conditions limites pour s'assurer d'un titrage d'acidité libre sans interférence des ions uranyle. Le tableau 2 résume pour des pH allant de 3 à 8 la forme prépondérante des espèces uranyle en solution et le pourcentage de cations complexés.

Tableau 2 : Résultats de la simulation CHES montrant l'influence du pH sur le rendement de la complexation entre l'uranyle et les oxalates. La concentration totale des réactifs dans la solution simulée, est celle définie par MAYANKUTTI et contient  $[HNO_3] = 0,15 \text{ mol L}^{-1}$ ,  $[UO_2]^{2+} = 0,05 \text{ mol L}^{-1}$  et  $[C_2O_4]^{2-} = 0,25 \text{ mol L}^{-1}$  (pour un rapport oxalate : uranyle de 5 : 1). Le tableau montre uniquement les dérivés d'uranyle les plus abondants.

pH de la solution	Espèces chimiques	$[UO_2^{2+}]$ ( $\text{mol L}^{-1}$ )	% de cations complexés
3	$UO_2(C_2O_4)_2^{[2-]}$	0,0498	99,8
	$UO_2(C_2O_4)$	0,0001	
4	$UO_2(C_2O_4)_2^{[2-]}$	0,0498	99,8
	$UO_2(C_2O_4)$	0,0001	
5	$UO_2(C_2O_4)_2^{[2-]}$	0,0499	99,8
	$UO_2(C_2O_4)$	0	
6	$UO_2(C_2O_4)_2^{[2-]}$	0,0499	99,8
	$UO_2(C_2O_4)$	0	
7	$UO_2(C_2O_4)_2^{[2-]}$	0,047	93,28
	$Na_2U_2O_7$ (solide)	0,0041	
8	$UO_2(C_2O_4)_2^{[2-]}$	0,0033	6,7
	$Na_2U_2O_7$ (solide)	0,023	

Les résultats obtenus par simulation sont en accord avec la littérature. En règle générale, pour maximiser la quantité d'ions uranyle complexés il faut travailler à un pH inférieur à 6 et veiller à conserver un rapport de concentrations  $[C_2O_4]^{2-} / [UO_2]^{2+} \geq 5$ . Ne pas respecter ces conditions de travail entraîne la formation de produits d'hydrolyse ou encore la formation de précipités solides (tableau 2 ; pH 8). Un point faible de la méthode par oxalates réside dans le fait que le sel d'oxalate utilisé (l'oxalate de sodium) n'est soluble qu'à une concentration  $\leq 0,25 \text{ mol L}^{-1}$  en milieu aqueux. Cela implique qu'un échantillon normal de procédé ayant  $[UO_2]^{2+} = 1 \text{ mol L}^{-1}$  devra être dilué au moins 20 fois pour garder un rapport de concentration de 5 pendant l'analyse.

***En conséquence, une étape supplémentaire de dilution de l'échantillon doit être ajoutée en amont de la complexation et du titrage.***

#### 4. Choix de la technologie en fonction du cahier des charges du projet

L'étude bibliographique développée dans ce chapitre délimite le panorama des moyens technologiques disponibles de nos jours pour revisiter la méthode de mesure de l'acidité libre utilisée dans les usines de retraitement/recyclage des déchets nucléaires. L'objectif ultime est de simplifier les opérations et automatiser l'analyse tout en réduisant les volumes de réactifs et d'effluents mis en jeu. Pour arriver à cela, il a fallu appréhender la technique actuelle et déterminer les systèmes d'analyse existants sur lesquels l'adaptation de la mesure de l'acidité libre est possible ou proposer les développements techniques permettant cette adaptation. Dans ce contexte la mesure de l'acidité libre par ajout d'oxalates a été identifiée comme la méthode d'analyse à faire évoluer pendant les travaux de thèse. Cela est lié à la capacité de l'oxalate à complexer les ions uranyle en milieu acide. Cette méthode se déroule en 2 étapes, une première étape appelée inhibition de l'hydrolyse, où les cations d'uranyle sont complexés avec de l'oxalate de sodium, suivie de l'étape de titrage de l'acide nitrique par l'ajout d'hydroxyde de sodium. A partir d'une étude sur l'inhibition de la réaction d'hydrolyse, il a été déterminé que la méthode analytique développée doit être capable de conserver un rapport 5 entre la concentration d'ions oxalate et uranyle, ainsi que de travailler en dessous de pH 6 afin de complexer plus du 99% de l'uranyle contenu dans l'échantillon. Le système d'analyse devra également être suffisamment polyvalent pour permettre la dilution d'une fraction de l'échantillon avec de l'oxalate de sodium, qui sera ensuite re-mélangé avec une quantité d'hydroxyde de sodium, évoluant progressivement, jusqu'au point équivalent du titrage. De plus, les volumes de travail du système d'analyse doivent être compatibles avec le dispositif utilisé pour la détection et la mesure de l'acidité de la solution.

Ainsi, les différentes techniques et systèmes analytiques décrits dans ce chapitre ont été analysés en partant du cahier des charges du projet et des exigences mécaniques, méthodologiques et physicochimiques liés à la méthode par ajout d'oxalates.

Tableau 3 : Forces et faiblesses des différents systèmes d'analyse pour la mesure d'acidité en continu

Système d'analyse	Forces	Faiblesses
Analyse FIA	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Couramment utilisée en industrie pour des analyses offline, at-line et online.</li> <li>• Opération automatique, simple et robuste</li> <li>• Utilisation ne nécessitant pas de qualification particulière de l'utilisateur</li> <li>• Rapidité de l'analyse (&lt; 5 min en moyenne)</li> <li>• Matériel résistant aux conditions d'opération industrielles</li> <li>• Utilise de basses pressions d'opération</li> <li>• Peut combiner plusieurs opérations unitaires en série</li> <li>• Volume d'échantillon &lt; 50 µL</li> <li>• Débit des réactifs &lt; 3 mL min<sup>-1</sup></li> <li>• Taille des canaux &lt; 1 mm</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Le débit et la précision de l'analyse dépendent de la pompe péristaltique</li> <li>• Le volume d'échantillon minimal est dépendant du volume de la vanne à deux voies utilisée pour l'injection</li> <li>• La dilution est faite par dispersion de l'échantillon, et est générée par des gradients de concentration non-linéaires</li> <li>• Le système fluidique doit être changé si jamais un réactif est ajouté à la méthode d'analyse</li> <li>• Il y a un débit de liquide vecteur en continu pendant la durée de l'analyse</li> </ul>
Analyse SIA	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Mêmes avantages que l'analyse FIA.</li> <li>• Un pousse seringue remplace la pompe péristaltique, ici la précision est dépendante de la position de la seringue et non plus de la stabilité du débit de la pompe. Ce qui permet un gain en précision sur la mesure</li> <li>• Une vanne multi-position remplace la vanne à deux voies pour l'injection de l'échantillon et de tout autre réactif. Pour augmenter le nombre de réactifs à injecter il suffit de changer le programme d'injection et non plus le système fluidique</li> <li>• Réduction des volumes d'échantillon et de déchet par analyse</li> <li>• Plusieurs types de détecteur peuvent être adaptés en sortie du système</li> <li>• Le liquide vecteur n'est plus en écoulement continu</li> <li>• Volume d'échantillon &lt; 50 µL</li> <li>• Débit des réactifs imposé par une pompe seringue</li> <li>• Volume de déchets par analyse &lt; 3 mL</li> <li>• Taille des canaux &lt; 500 µm</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• La méthode d'analyse fonctionne par une injection séquentielle des réactifs, afin de générer des zones de mélanges complexes à caractériser</li> <li>• La précision est donnée par la précision et la vitesse de rotation de la vanne multi-position, ainsi que par le volume mort de cette vanne.</li> </ul>
Analyse MCFIA	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Le volume de ce système est encore plus petit que pour la FIA et la SIA, ce que minimise le volume de réactifs et de déchets par analyse.</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Le débit et la précision de l'analyse sont dépendants de la pompe péristaltique</li> <li>• Il y a un débit de liquide vecteur en continu pendant la durée de</li> </ul>

	<ul style="list-style-type: none"> <li>• La vanne à deux voies est remplacée par une vanne multi-commutant pour une opération plus précise, un volume d'injection d'échantillon modulable, et moins de volumes morts dans la vanne.</li> <li>• Plusieurs vannes peuvent être placées en parallèle pour augmenter le nombre de réactifs à injecter dans le système.</li> <li>• Volume d'échantillon &lt; 500 µL</li> <li>• Débit des réactifs &lt; 2 mL min<sup>-1</sup></li> <li>• Taille des canaux &lt; 500 µm</li> </ul>	l'analyse
FIA-on-a-chip	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Ce système fonctionne sous le même principe de la FIA conventionnelle mis à part la taille réduite du système qui permet le travail avec quelques microlitres, voire nano litres d'échantillon et de réactif.</li> <li>• L'augmentation du nombre de réactifs ou d'opérations unitaires nécessaires à l'analyse peut être effectué simplement par l'ajout en parallèle ou en série de plusieurs puces FIA.</li> <li>• Volume d'échantillon &lt; 10 µL</li> <li>• Débit des réactifs &lt; 20 µL min<sup>-1</sup></li> <li>• Taille des canaux &lt; 250 µm</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Le polymère utilisé pour la fabrication des systèmes et des micro-vannes limite la nature chimique des réactifs pouvant être utilisés pour l'analyse</li> <li>• Le système est utilisé offline en laboratoire mais aucune application industrielle n'a encore été décrite dans la littérature</li> </ul>
Analyse par ajout triangulaire	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Le développement analytique est simple et n'implique qu'une variation du débit d'échantillon ou de réactif</li> <li>• Depuis son invention dans les années 70 plusieurs applications industrielles ont été développées</li> <li>• La rapidité de l'analyse (&lt; 5 min)</li> <li>• Plusieurs types de détecteurs peuvent être adaptés en sortie du système</li> <li>• Volume d'échantillon &lt; 50 µL</li> <li>• Débit des réactifs &lt; 1 mL min<sup>-1</sup></li> <li>• Taille des canaux &lt; 500 µm</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• La précision sur la mesure est dépendante de la finesse du contrôle du débit</li> <li>• Au moins un des réactifs ou l'échantillon est en écoulement continu.</li> <li>• Le système fluidique doit être changé si le nombre de réactifs augmente pour une analyse déterminée</li> </ul>
Analyse par dilution combinatoire	<ul style="list-style-type: none"> <li>• La taille miniaturisée du système, permet le travail avec quelques microlitres, voire nano litres d'échantillon et de réactif</li> <li>• Les titrages sont obtenus grâce à la formation d'un gradient de concentration linéaire</li> <li>• La dilution linéaire de l'échantillon est possible</li> <li>• Une détection électronique (i.e. par impédance) permettrait l'intégration d'un système de mesure</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Le polymère utilisé pour la fabrication des systèmes et des micro-vannes limite le choix dans la nature chimique des réactifs nécessaires pour l'analyse</li> <li>• Une étape de filtration de l'échantillon est impérative afin d'éviter l'entrée de solides pouvant boucher le système.</li> <li>• L'apparition de solides au cours de certains types de réactions mises en œuvre pendant l'analyse peut poser problème</li> </ul>

	<ul style="list-style-type: none"> <li>• La rapidité de l'analyse (&lt; 1 min)</li> <li>• Débit des réactifs &lt; 100 <math>\mu\text{L min}^{-1}</math></li> <li>• Taille des canaux &lt; 500 <math>\mu\text{m}</math></li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Le système est complètement rigide, aucun changement d'entrées/sorties ne peut être effectué sans devoir fabriquer un autre microsystème</li> </ul>
Analyse par diffusion	<ul style="list-style-type: none"> <li>• La taille miniaturisée du système, permet le travail avec quelques microlitres, voire nano litres d'échantillon et de réactif</li> <li>• Les titrages sont obtenus grâce à la formation d'un gradient de concentration linéaire</li> <li>• Volume d'échantillon &lt; 50 <math>\mu\text{L}</math></li> <li>• Durée de l'analyse &gt; 1,25 heures</li> <li>• Taille des canaux &lt; 500 <math>\mu\text{m}</math></li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Seule la détection optique a été décrite dans la littérature pour ce type de systèmes</li> <li>• Le développement analytique est simple, cependant le traitement de données après l'analyse est compliqué</li> <li>• L'analyse est reproductible mais nécessite un temps d'analyse considérable (1h &lt;)</li> <li>• Aucune application industrielle n'a encore été décrite dans la littérature</li> </ul>
Analyse par dispersion de Taylor-Aris	<ul style="list-style-type: none"> <li>• La taille miniaturisée du système, permet le travail avec quelques microlitres, voire nano litres d'échantillon et de réactif</li> <li>• Les titrages sont obtenus grâce à la formation d'un gradient de concentration linéaire</li> <li>• La rapidité de l'analyse (&lt; 1min)</li> <li>• Le développement analytique est simple et n'impliquerait qu'une variation du débit d'échantillon ou de réactif</li> <li>• Le système est flexible et permettrait l'ajout d'un ou plusieurs réactifs sans contraintes</li> <li>• Plusieurs types de détecteurs peuvent être adaptés au système</li> <li>• Volume d'échantillon &lt; 50 <math>\mu\text{L}</math></li> <li>• Débit des réactifs &lt; 3 <math>\text{mL min}^{-1}</math></li> <li>• Taille des canaux &lt; 500 <math>\mu\text{m}</math></li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Aucune application industrielle n'a encore été décrite dans la littérature</li> <li>• Aucune méthode d'analyse n'a encore été décrite dans la littérature</li> <li>• Une étape de filtration de l'échantillon est impérative afin d'éviter l'entrée de solides pouvant boucher le système.</li> <li>• L'apparition de solides au cours de certains types de réactions mises en œuvre pendant l'analyse peut poser problème</li> </ul>

Deux techniques de titrage ont été retenues parmi celles qui ont été décrites dans cette section : le titrage par SIA et le titrage par création d'un gradient linéaire dans un canal droit en utilisant la dispersion de Taylor-Aris. Bien que la première ne soit pas un titrage volumétrique et que l'autre n'en soit encore qu'à une étape de développement, les deux systèmes présentent l'avantage de fonctionner en écoulement semi-continu, ce qui limite la consommation de liquide vecteur et de réactif, ce point étant primordial dans l'industrie du nucléaire. De plus, le développement d'une méthode SIA pourrait être utilisée à court terme pour une application industrielle puisque c'est un système déjà connu pour sa robustesse d'opération même dans un environnement hostile. D'autre part, le système de titrage de type Taylor-Aris présente un fort potentiel, notamment en offrant la possibilité de simplifier le processus de développement analytique tout en travaillant dans des volumes très réduits de réactif. Les deux solutions proposées permettent de diminuer les risques pour les laborantins de par leur manipulation automatisée et le volume réduit d'échantillon et de réactif (matériel radioactif) mis en œuvre.

En conclusion, les travaux de thèse concernent le développement en parallèle de :

- a. L'adaptation et la mise en œuvre de la méthode de mesure de l'acidité libre dans une machine SIA. Le développement s'est déroulé en 2 étapes. Dans un premier temps la faisabilité du projet a été menée en développant une méthode pour la mesure d'acidité libre sur des échantillons contenant des cations (non-radioactifs) de dioxyde de zirconium ( $ZrO^{2+}$ ). Ensuite, le système SIA et la méthode de détermination de l'acidité libre ont été reconditionnés pour le travail avec des échantillons d'uranyle en milieu radioactif.
- b. Et le développement d'un système d'analyse pouvant mesurer l'acidité libre d'un échantillon par la génération de gradients de concentration linéaires dans un canal microfluidique. Ce développement inclut, la conception d'un prototype et la démonstration expérimentale de la formation de gradients de concentration linéaires, l'application de ce principe pour le titrage simple entre un acide et une base et le titrage de l'acidité libre par ajout d'oxalates.

## Références

1. POLLARD, M., BATT, C., STERN, B., *et al.*, *Analytical Chemistry in Archaeology*. 2007, New York: Cambridge University Press.
2. WEISSTEIN, E.W. *Amici, Giovanni*. Eric Weisstein's World of Biography, 2007.
3. STEYERMARK, A., *Quantitative Organic Microanalysis*. 1961, New York: Academic Press Inc.
4. HILLIS, O.M., *The History of Microanalysis*. *Journal of Chemical Education*, 1945. **22** (7).
5. JANASEK, D., FRANZKE, J.MANZ, A., *Scaling and the Design of Miniaturized Chemical-Analysis Systems*. *Nature*, 2006. **442** : p. 374-380.
6. IHDE, A., *The Development of Modern Chemistry*. 1984, New York: Dover Publications Inc.
7. *Understanding Reach*, in *European Chemicals Agency*. 2013, European Chemicals Agency.
8. *Révolution Industrielle*, in *Encyclopedie Larousse*. 2016, Larousse.
9. SZAVADVARY, F., *History of Analytical Chemistry*. 1966, Budapest: Pergamon Press.
10. BUD, R.WARNER, D.J., *Instruments of Science - an Historical Encyclopedia*. 1998, New York: Garland Publishing Inc.
11. BECK, C.M., *A Brief History of Inorganic Classical Analysis*. 1991. **63** (20): p. 993A-1003A.
12. MCNAUGHT, A.D., WILKINSON, A., NIC, M., *et al.*, *Iupac. Compendium of Chemical Terminology, (the "Gold Book")*. 2006, Oxford: Blackwell Scientific Publications.
13. SAWHNEY, S.S., JASSAL, M.BHATIA, B.M.L., *A Textbook of Chemistry Practicals*. 1995, New Dehli: APH Publishing Corporation.
14. *Basics of Titration- Titration History*. 2009, Switzerland: Mettler Toledo.
15. HARVEY, D., *Modern Analytical Chemistry*. 2008, San Francisco: Mc Graw Hill.
16. BLAEDEL, W.J.OLSON, C.L., *Continuous Analysis*. 1963. **40** (8): p. A549-A558.
17. FLEET, B.HO, A.Y.W., *Gradient Titration-a Novel Approach to Continuous Monitoring Using Ion-Selective Electrodes*. 1974. **46** (1): p. 9-11.
18. BLAEDEL, W.J.LAESSIG, R.H., *Continuous Titrations with a Tubular Mercury-Edta Electrode*. 1965. **37** (3): p. 332-336.
19. BLAEDEL, W.J.LAESSIG, R.H., *Continuous Automated, Buretless ' Titrator with Direct Readout*. 1964. **36** (8) : p. 1617-1633.
20. RANGER, C.B., *Flow Injection Analysis : Principles, Technique, Applications, Design*. *Analytical Chemistry*, 1981 **53** (1) : p. 20A-32A.
21. RUZICKA, J.HANSEN, E.H., *Flow Injection Analysis : Part X, Theory, Techniques and Trends*. *Analytica Chimica Acta*, 1978. **99** : p. 37-76.
22. RHEE, J.-S.DASGUPTA, P.K., *Studies on Peak Width Measurement-Based Fia Acid-Base Determinations*. 1985. **3** (pp. 49-64).
23. *Analyse Par Injection En Flux Continu (Fia)*. *Techniques de l'Ingenieur*, 2006.
24. RUZICKA, J.HANSEN, E.H., *Flow Injection Analysis : Principles, Applications and Trends*. 1980. **114** (pp 19-44).
25. *Analyse Par Injection En Flux Continu (Fia)*. *CHROMATOGRAPHIE ET TECHNIQUES SÉPARATIVES*, 2006.
26. RUZICKA, J.HANSEN, E.H., *Flow Injection Analysis : Principles, Applications and Trends*. *Analytica Chimica Acta*, 1980. **114** : p. 19-44.
27. LANDIS, J.B., *Rapid Determination of Corticosteroids in Pharmaceuticals by Flow Injection Analysis*. *Analytica Chimica Acta*, 1980. **114** : p. 155-163.
28. STEWART, K.K., *Flow Injection Analysis : Newtool for Old Assays*. *Analytical Chemistry*, 1983. **55** (9) : p. 931-940.
29. TROJANOWICZ, M., *Advances in Flow Analysis*. 2008, Mörlenbach, Allemagne: Wiley-VCH.
30. ALDSTADT, J.H., OLSON, D.C., WOLCOTT, D.K., *et al.*, *Flow and Sequential Injection Analysis Techniques in Process Analysis*. 2006.

31. BARNETT, N.W., LENEHAN, C.E., LEWIS, S.W., *Sequential Injection Analysis : An Alternative Approach to Process Analytical Chemistry*. 1999. **18** (5) : p. 346,353.
32. MARSHALL, G., WOLCOTT, D., OLSON, D., *Zone Fluidics in Flow Analysis: Potentialities and Applications*. Analytica Chimica Acta, 2003. **499** : p. 29-40.
33. RUIZ-MEDINA, A., LLORENT-MARTÍNEZ, E.J., *Recent Progress of Flow-through Optosensing in Clinical and Pharmaceutical Analysis*. Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis, 2010. **53** : p. 250-261.
34. LLORENT-MARTÍNEZ, E.J., ORTEGA-BARRALES, P., MOLINA-DIAZ, A., *Multi-Commutated Flow-through Multi-Optosensing: A Tool for Environmental Analysis*. Spectroscopy Letters, 2006. **39** : p. 619-629.
35. BORGES, S.S., JAILSON DE SOUZA, P., FERES, M.A., *et al.*, *Downscaling a Multicommutated Flow Injection Analysis System for the Photometric Determination of Iodate in Table Salt*. 2010. **668** : p. 3-7.
36. AL-LAWATI, H., BHARIBI, A., KINDY, A., *et al.*, *High Throughput Method for the Analysis of Cetrizine Hydrochloride in Pharmaceutical Formulations and in Biological Fluids Using a Tris(2,2'-Bipyridyl)Ruthenium(Ii)-Peroxydisulphate Chemiluminescence System in a Two-Chip Device*. 2011. **85** : p. 906-912.
37. BALDWIN, R.P., ROUSSEL, T.J., CRAIN, M.M., *et al.*, *Fully Integrated on-Chip Electrochemical Detection for Capillary Electrophoresis in a Microfabricated Device*. 2002. **74** : p. 3690-3697.
38. MORENO, M., ARACIL, C., QUERO, J.M. *High-Integrated Microvalve for Lab-on-Chip Biomedical Applications*. 2008. Seville, Espagne: Research Gate.
39. CHEN, I.-J., LINDNER, E., *Lab-on-Chip Flow Injection Analysis System without an External Pump and Valves and Integrated with an in Line Electrochemical Detector*. 2009. **80** : p. 9955-9960.
40. STUDER, V., HANG, G., PANDOLFI, A., *et al.*, *Scaling Properties of a Low-Actuation Pressure Microfluidic Valve*. Journal of Applied Physics, 2004. **95** (1): p. 393-398.
41. SEKI, S., TAGAWA, S., ISHIGURE, K., *et al.*, *Observation of Silyl Radical in Radiolysis of Solid Poly(Dimethylsilane)*. Radiation Physics and Chemistry Journal, 1996. **47** (2): p. 217-219.
42. NAGY, G., FEHER, Z., *A Novel Titration Technique for the Analysis of Streamed Samples-the Triangle Programmed Titration Technique*. Analytica Chimica Acta, 1977. **91** (2): p. 87-96.
43. NAGY, G., FEHER, Z., TOTH, K., *et al.*, *A Novel Titration Technique for the Analysis of Streamed Samples-the Triangle Programmed Titration Technique-Part 3*. Analytica Chimica Acta, 1978. **100** : p. 181-191.
44. FUHRMANN, B., SPOHN, U., *Volumetric Triangle-Programmed Flow Titrations Based on Precisely Generated Concentration Gradients*. Analytica Chimica Acta, 1993. **282** : p. 397-406.
45. JEO, N.L., DERTINGER, S.K.W., CHIU, D.T., *et al.*, *Generation of Solution and Surface Gradients Using Microfluidic Systems*. 2000. **16** (pp. 8311-8316).
46. KIRBY, B.J., *Micro and Nanoscale Fluid Mechanics*. 2010, New York: Cambridge University Press.
47. 刘笔锋, 李一伟, 冯晓均, *et al.*, *Device and System for Forming Concentration Gradients*. 2014: Chine.
48. 徐章润, 杨春光, *Solution Gradient Dilution Device with Microfluidic Chip*. 2012: Chine.
49. 朱, 军., 汪, 鹏., 肖丽君, *et al.*, *Valveless Micro-Flow Control Gradient Real-Time Reaction Chip and Reaction Control Method*. 2009: Chine.
50. 岳振峰, 李卓荣, 易长青, *et al.*, *Bridge-Shaped Micro-Fluidic Chip for Generating Concentration Gradients*. 2012: Chine.
51. TANG, S.K.Y., WHITESIDES, G.M., *Chapter 2: Basic Microfluidic and Soft Lithographic Techniques*, in *Optofluidics: Fundamentals, Devices, and Applications*. 2009, Mc Graw Hill: New York.
52. DU, Y., SHIM, J., VIDULA, M., *et al.*, *Rapid Generation of Spatially and Temporally Controllable Long-Range Concentration Gradients in a Microfluidic Device*. 2009. **9** (6): p. 761-767.

53. ATENCIA, J., MORROW, J., LOCASCIO, L.E., *The Microfluidic Palette: A Diffusive Gradient Generator with Spatio-Temporal Control*. 2009. **9** : p. 2707-2714.
54. MOSADEGH, B., HUANG, C., WON PARK, J., *et al.*, *Generation of Stable Complex Gradients across Two-Dimensional Surfaces and Three-Dimensional Gels*. *Langmuir*, 2007. **23** (22): p. 10910-10912.
55. WALKER, G.M., SAI, J., RICHMOND, A., *et al.*, *Effects of Flow and Diffusion on Chemotaxis Studies in a Microfabricated Gradient Generator*. *Lab on Chip*, 2005. **5** (611-618).
56. MATEUSZ, D., VANDEVONDELE, J., HAMM, P., *Speed Limits for Acid-Base Chemistry in Aqueous Solutions*. *International Journal for Chemistry*, 2012. **66** (4): p. 182-186.
57. MAGNALDO, A., DAVIN, D., *Procédé Et Système D'analyse D'un Échantillon Liquide*. 2003: France.
58. GOULPEAU, J., LONETTI, B., TROUCHE, D., *et al.*, *Building up Longitudinal Concentration Gradients in Shallow Microchannels*. 2007. **7** : p. 1154-1171.
59. TAYLOR, G., *Dispersion of Soluble Matter in Solvent Flowing Slowly through a Tube*. *Proceedings of the Royal Society of London A*, 1953. **219** : p. 86-203.
60. GLATZ, J.P. *Spent Fuel Dissolution and Reprocessing Processes*. *Comprehensive Nuclear Materials*, 2012.
61. THOMAS, G.F., TILL, G., *The Dissolution of Unirradiated UO<sub>2</sub> Fuel Pellets under Simulated Disposal Conditions*. *Nuclear and Chemical Waste Management*, 1984. **5** (2): p. 141-147.
62. CARROTT, M.J., COOK, P.M.A., FOX, O.D., *et al.*, *The Chemistry of (U,Pu)O<sub>2</sub> Dissolution in Nitric Acid*. 2012. **7** : p. 92-97.
63. GIANGUZZA, A., MILEA, D., MILLERO, F.J., *et al.*, *Hydrolysis and Chemical Speciation of Dioxouranium(VI) Ion in Aqueous Media Simulating the Major Ion Composition of Seawater*. 2004. **85** : p. 103-124.
64. WHITTAKER, M.P., EYRING, E.M., DIBBLE, E., *Kinetics of Uranyl Ion Hydrolysis and Polymerization*. *The Journal of Physical Chemistry*, 1965. **69** (7): p. 2319-2323.
65. BAES, C.F., MESMER, R.E., *The Hydrolysis of Cations*. 1976, Michigan, Etats Unis: Wiley.
66. RODDEN, C.J., *Analytical Chemistry of the Manhattan Project*. 1950, Indiana, Etats Unis: McGraw-Hill Book Company.
67. NAKASHIMA, T., LLESER, K.H., *Nitric Acid Titration in the Presence of UO<sub>2</sub>(NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub>, Th(NO<sub>3</sub>)<sub>4</sub>, U(NO<sub>3</sub>)<sub>4</sub> or Zr(NO<sub>3</sub>)<sub>4</sub>*. *Radiochimica Acta*, 1986. **39** (pp. 149-153).
68. DIZDAR, Z.I., OBRENOVIC, I.D., *Determination of Free Acid in Uranium (VI) Solutions by Means of Cation Exchangers*. 1959. **21** : p. 560-563.
69. MAYANKUTTY, P.C., RAVI, S., NADKARNI, M.N., *Determination of Free Acidity in Uranyl Nitrate Solutions*. *Journal of Radioanalytical Chemistry*, 1982. **68** (1-2): p. 145-150.
70. FERRI, D., IULIANO, M., MANFREDI, C., *et al.*, *Dioxouranium (VI) Complexes*. 2000. **19** : p. 3460-3466.
71. AAS, W., SZABÓ, Z., GRENTHE, I., *Equilibria and Dynamics in Binary and Ternary Uranyl Oxalate and Acetate/Fluoride Complexes*. 1999(8): p. 1311-1317.
72. MANFREDI, C., FERRI, D., VASCA, E., *et al.*, *On the Hydrolysis of the Dioxouranium (VI) Ion in Oxalate Solutions*. *Annali di Chimica* 2005. **95** (5).
73. *Chemical Equilibrium of Species and Surfaces*. 2015, Ecole des Mines de Paris.



## CHAPITRE 2

---

**Développement d'une méthode analytique SIA pour la  
mesure de l'acidité libre à l'échelle millimétrique**



## 1. Introduction

La compréhension des phénomènes mis en jeu dans les différentes branches de la chimie a influencé depuis plus d'un siècle le développement de la chimie analytique. Depuis, une diversité de techniques d'analyse a vu le jour afin de répondre aux exigences des laboratoires de recherche et de l'industrie. Au cours du temps, les systèmes d'analyse associés aux techniques analytiques ont continué leurs évolutions grâce aux avancements technologiques de l'électronique, de l'informatique et des sciences des matériaux. Le but principal, à savoir obtenir une meilleure identification, caractérisation et quantification des substances d'intérêt, ne change pas. Même si la tendance est généralisée, le niveau d'évolution des différents systèmes d'analyse est dépendant de son domaine d'application. Par exemple, des microsystèmes d'analyse sont désormais utilisés pour améliorer les performances analytiques de la recherche fondamentale, l'expertise légale et le diagnostic médical. En revanche ces systèmes n'ont pas encore trouvé leur place dans le domaine de l'analyse industrielle [1]. Dans ce contexte, ce travail de thèse doit apporter une amélioration à la technologie d'analyse des procédés (TAP). Les développements sont donc destinés au suivi et au contrôle du procédé de retraitement du combustible nucléaire, notamment par une amélioration de la mesure de l'acidité libre de solutions d'acide nitrique contenant des cations d'actinides. Dans ce contexte, l'objectif ultime est d'effectuer la mesure d'acidité au plus près de la ligne afin de limiter/éviter le déplacement d'un échantillon du procédé vers le laboratoire centralisé, ce qui permettrait une réduction du temps d'analyse et donc de raccourcir le temps de réponse du contrôle du procédé. Le résultat de l'augmentation de la fréquence des analyses sera traduit par un meilleur suivi du procédé [2].

Néanmoins, comme évoqué dans le premier chapitre, il n'existe pour l'heure aucun système d'analyse suffisamment avancé pour effectuer un titrage volumétrique de l'acidité au plus près de la ligne. En revanche, il existe déjà une diversité de systèmes permettant la mise en œuvre d'analyses volumétriques automatisées, capables d'effectuer une étape de traitement de l'échantillon en amont de l'analyse. Parmi ces systèmes, l'analyse par injection séquentielle (SIA) a été choisie pour le développement d'une méthode de mesure de l'acidité libre à l'échelle millimétrique. Les avantages de ce système par rapport aux autres est notamment son fonctionnement semi-continu, qui permet d'utiliser une quantité de réactifs de l'ordre de la dizaine de  $\mu\text{L}$ . De plus, la mise en œuvre de la méthode de mesure d'acidité libre par ajout d'oxalates pour ce système est simple du fait de la présence d'une vanne multi-position, permettant l'injection séquentielle des 4 réactifs utilisés dans la méthode (l'échantillon, la base forte (NaOH), l'oxalate de sodium, l'indicateur coloré). Enfin, le système est capable d'effectuer des analyses automatisées à haut débit (>30 par heure) et permet le couplage en amont de plusieurs étapes de préparation d'échantillon [3].

Depuis son développement dans les années 90, l'analyse par SIA a été utilisée en tant qu'instrument d'analyse hors-ligne et en ligne dans des domaines de la chimie tels que l'environnement, la métallurgie, la pharmacie ou les raffineries parmi d'autres. L'intérêt pour ce système est lié à la rapidité des analyses, la réduction des déchets, le faible volume de réactifs utilisés, la reproductibilité entre les mesures et la polyvalence de la machine pour la création de méthodes automatisées [4]. Même si plusieurs variantes d'un même système SIA sont disponibles dans le commerce, la configuration la plus utilisée est celle proposée par CLAREDA et al. [5], comprenant une pompe seringue bidirectionnelle, un hélicoïde de mélange, une vanne multi-position (lab-on-valve) et une détection par spectrophotométrie, chacun des éléments pouvant être programmables de façon indépendante et précise par un langage de programmation de type « liste d'instructions » (Figure 23) [5].

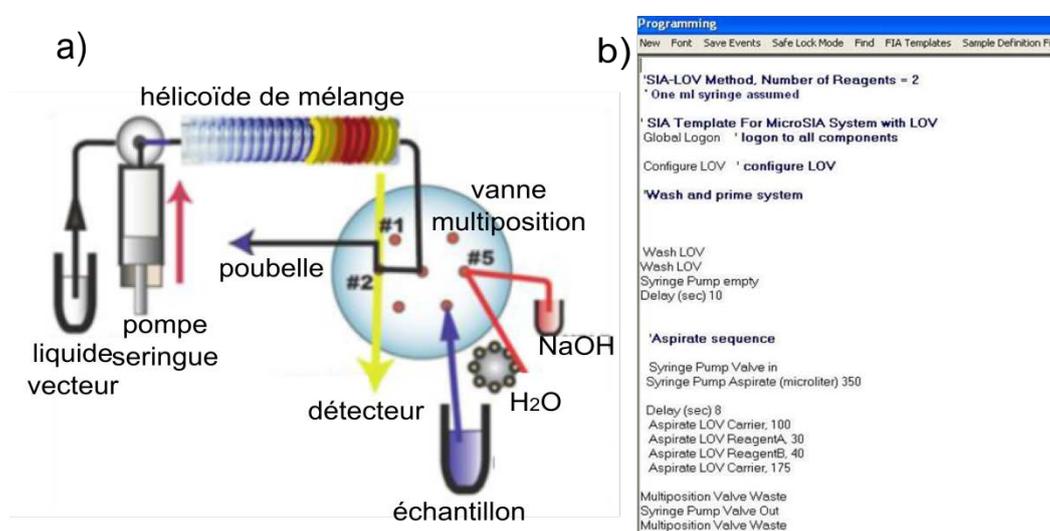


Figure 23 : a) Schéma décrivant les différents éléments du système SIA généralement vendu dans le commerce, cas d'un titrage par SIA d'un acide fort avec une base forte ; b) Modèle de programmation de type « liste d'instructions » pour un système SIA.

En général pour les méthodes d'analyse SIA, il faut d'abord détailler une séquence d'analyse à faire exécuter par la machine. Cela implique la définition d'un ordre et d'un volume d'injection des réactifs correspondant à la combinaison chimique requise par l'analyse. Par exemple, MASKULA et al., ont proposé une séquence de 4 étapes pour l'analyse de l'acide chlorhydrique ( $0,1 \text{ mol L}^{-1} - 3 \text{ mol L}^{-1}$ ) par titrage par SIA (Figure 24) [6] :

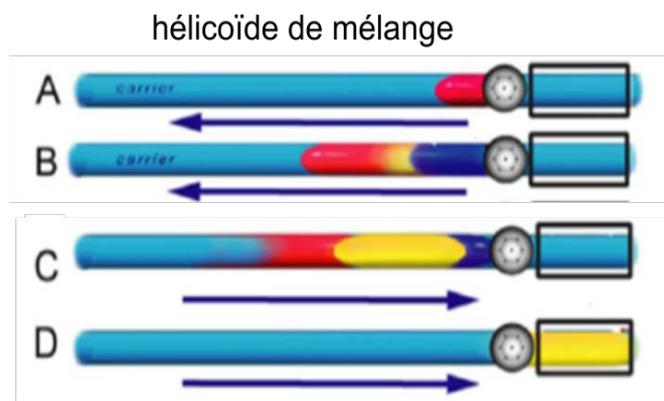


Figure 24 : Schéma représentant les différentes séquences d'injection/éjection lors l'analyse par SIA pour le titrage d'un acide fort

- a) *Injection de l'échantillon* : La vanne multi-position est ouverte dans la direction Hélicoïde-échantillon. En utilisant la pompe seringue, 65  $\mu\text{L}$  d'échantillon (rouge) sont aspirés et stockés dans l'hélicoïde préalablement rempli d'un liquide vecteur (bleu clair).
- b) *Injection d'une solution d'hydroxyde de sodium (NaOH) dopé avec de la phénolphtaléine* : La vanne multi-position est ouverte dans la direction Hélicoïde-NaOH. En utilisant la pompe, un volume de 175  $\mu\text{L}$  de NaOH (bleu) est aspiré et stocké dans l'hélicoïde, ce qui va pousser l'échantillon et l'hydroxyde de sodium à l'intérieur de l'hélicoïde, où ils vont se mélanger et diffuser graduellement tout au long du canal. La solution d'hydroxyde de sodium contient un indicateur sensible au pH (ici, la phénolphtaléine) permettant de suivre le titrage acido-basique par colorimétrie. Si la concentration des ions  $\text{H}^+$  est dominante dans le mélange, la phénolphtaléine prendra une couleur jaune alors que si ce sont les ions  $\text{OH}^-$  qui dominant la phénolphtaléine sera bleue.
- c) *Ejection vers la cellule de détection* : La totalité du mélange est éjectée vers le détecteur. Pendant le parcours de retour, les réactifs et l'échantillon continueront de se mélanger.
- d) *Arrivée du mélange dans la cellule de détection* : Le produit de la réaction est suivi au cours du temps par une détection spectrophotométrique à une longueur d'onde de 650 nm (Figure 25a). La hauteur du pic d'absorbance est corrélée à une concentration de soluté déterminée. Pour que l'analyse par SIA soit efficace, l'ensemble des paramètres de la méthode, c'est-à-dire : l'ordre d'injection, le volume d'injection, la vitesse d'injection, la vitesse d'éjection et les concentrations de réactifs doivent être modifiés jusqu'à trouver une relation linéaire entre les différentes concentrations d'acide et la réponse obtenue par absorption (Figure 25b).

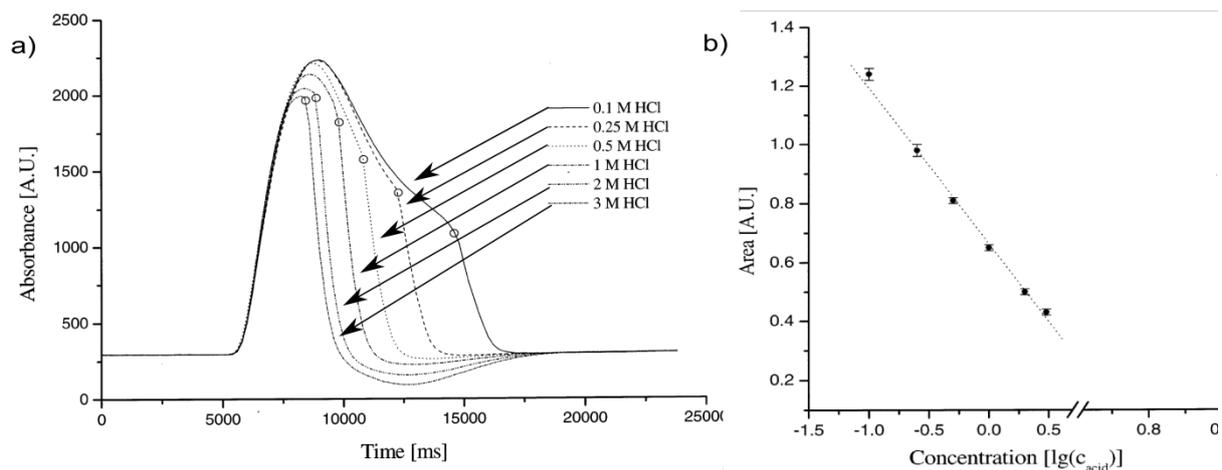


Figure 25 : a) Graphique montrant le profil temporel de l'absorbance pour le titrage de HCl ( $0,1 \text{ mol L}^{-1} - 3 \text{ mol L}^{-1}$ ) avec NaOH  $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ ; b) Relation linéaire entre l'aire des courbes d'absorption et les différentes concentrations de HCl. Le suivi du spectre d'absorption est fait au cours du temps à  $\lambda = 650 \text{ nm} \pm 10 \text{ nm}$  [6].

La méthode d'analyse et la séquence d'exécution décrites précédemment sont valables pour le titrage par SIA d'un acide fort avec une base forte, et représente une bonne piste pour commencer le développement de la méthode SIA pour la mesure d'acidité libre par ajout d'oxalates (où l'acide nitrique, un acide fort est dosé par une base forte, l'hydroxyde de sodium).

Dans ce chapitre, seront donc détaillés les travaux menés pour le développement d'une méthode d'analyse et une séquence d'exécution en SIA, qui intègrent, en plus du titrage acide-base, une étape de complexation des ions uranyle (cela, rappelons-le, afin d'éviter l'erreur systématique sur la mesure provenant de leur réaction d'hydrolyse).

## 2. Etude de faisabilité pour la création d'une méthode SIA adaptée à la mesure de l'acidité libre de solutions contenant des cations hydrolysables

Avant toute expérimentation en milieu radioactif, il est nécessaire d'étudier les moyens techniques et les compétences spécifiques nécessaires au développement d'une méthode SIA. Ceci a pour objectif de s'assurer que l'utilisation d'une méthode SIA est envisageable pour effectuer la mesure de l'acidité libre d'un échantillon radioactif.

A cet effet, un système SIA commercialisé sous le nom de FIALab-3500 (Figure 26) a été utilisé pour tout le développement analytique présenté dans ce chapitre. Le système est constitué d'une pompe seringue de 1000  $\mu\text{L}$  capable de délivrer un débit fixe de réactif de  $24 \mu\text{L s}^{-1}$  et d'une vanne multi-position à 8 ports, ces deux éléments sont interconnectés par un hélicoïde de mélange de 700  $\mu\text{L}$ . L'hélicoïde et les tuyaux de transport de réactifs ont un diamètre interne de 500  $\mu\text{m}$  et sont fabriqués en polytétrafluoroéthylène (PTFE). Le système SIA est connecté à un ordinateur via un port RS-232. « FIALab for windows » est l'interface homme-machine fournie par le fabricant FIALab. Ce logiciel permet le contrôle automatique de chacun des éléments du système.

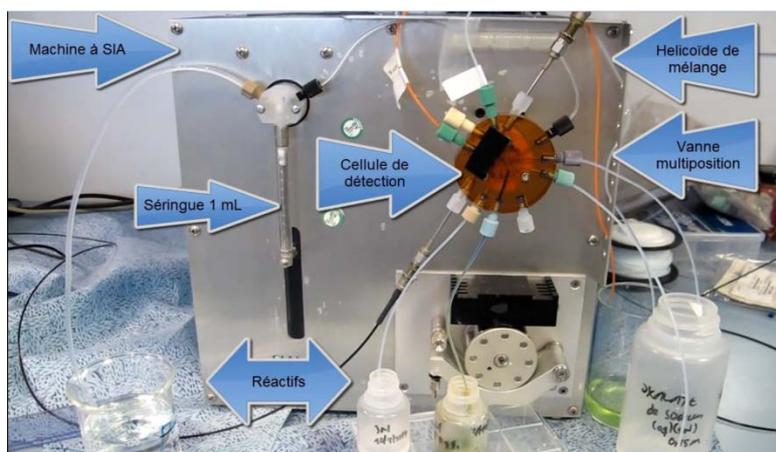


Figure 26 : Représentation du système SIA FIALab-3500 utilisé pour tout développement analytique à l'échelle milli.

La mesure d'absorption est faite via une cellule prévue à cet effet, intégrée au FIALAB-3500, de parcours optique 10 mm. Le spectrophotomètre associé à la cellule est un Acton SP2300 (Princeton Instruments), muni d'un réseau de 150 traits/mm (blazé à 300 nm) couplé à une caméra Pixis 400 (Princeton Instruments) et à une source de lumière blanche. Cette source est une lampe UV-visible halogène (Hamamatsu - L10290 : 200 – 1600 nm). La lampe étant fibrée, celle-ci est connectée à un multiplexeur optique permettant de distribuer la lumière issue d'une fibre sur 2 fibres, de manière à avoir une voie de mesure et une voie de référence. La fibre destinée à la voie de mesure est reliée à l'entrée de la cellule absorptiométrique de la SIA, une autre fibre est connectée en sortie de la cellule pour véhiculer la lumière résultante vers le spectrophotomètre. La fibre destinée à la voie de référence est directement reliée au

spectrophotomètre (Figure 27) et permet de suivre l'évolution du spectre et de l'intensité de la source lumineuse (de manière à détecter tout problème).

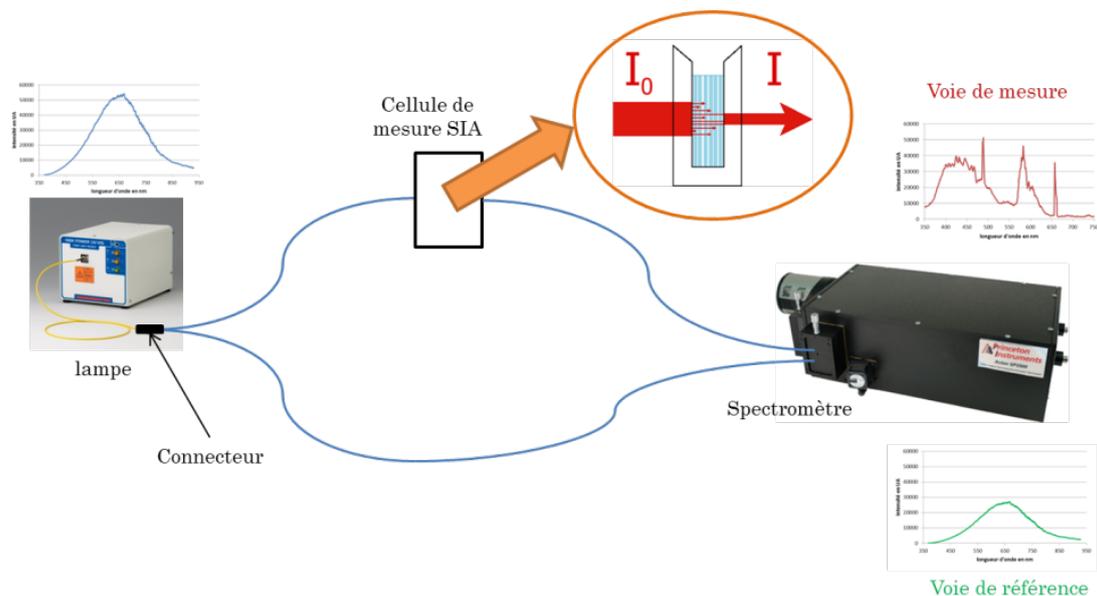


Figure 27 : Schéma de principe du montage expérimental

Dans le cas du système expérimental utilisé, étant donné que les composants mécaniques sont fixes et que le débit d'injection des réactifs ne peut pas être modifié, le degré de mélange est uniquement dépendant du volume et de l'ordre d'injection des réactifs. Cela veut dire que la mise en œuvre d'une analyse par SIA a besoin d'une séquence d'injection des réactifs pour arriver à mesurer l'acidité d'un échantillon.

Pour cette raison, dans un premier temps la séquence SIA détaillée par LENGHOR et al. [7], a été reprise afin de prendre en main le système SIA. Cette séquence mesure l'acidité d'un échantillon d'acide acétique en utilisant de l'hydroxyde de sodium comme titrant (Tableau 4).

Tableau 4 : Séquence SIA décrite par LENGHOR [7] pour la détermination de  $CH_3COOH$  avec  $NaOH$  et phénolphtaléine

Ordre d'injection	Ligne multi-vanne	Composé chimique	Volume aspiré ( $\mu L$ )
1	Liquide vecteur	$H_2O$	100
2	Réactif A	$NaOH$ ( $0,8 \text{ mol L}^{-1}$ )	70
3	Echantillon	$CH_3COOH$ ( $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ - $1 \text{ mol L}^{-1}$ )	50
4	Réactif A	$NaOH$ ( $0,8 \text{ mol L}^{-1}$ )	70
5	Réactif B	Phénolphtaléine ( $0,02 \% w v^{-1}$ )	70
6	Liquide vecteur	$H_2O$	100

Cependant, les différences entre les montages expérimentaux nécessitent certaines adaptations. Par exemple, dans l'étude de LENGHOR et al. le diamètre interne de l'hélicoïde de mélange est de 0,6 mm avec un volume interne estimé de 800  $\mu\text{L}$  alors que notre système SIA possède un hélicoïde de 0,5 mm de diamètre interne et un volume de 700  $\mu\text{L}$ . La séquence SIA détaillée par LENGHOR utilise un débit de mélange de réactifs de 125  $\mu\text{L s}^{-1}$ , qui est un débit 5 fois plus élevé par rapport à ce que peut délivrer notre système. Sachant que les titrages par SIA sont dépendants du mélange hétérogène des réactifs et que ces mélanges sont le résultat d'une combinaison judicieuse de l'ordre d'injection, des volumes et du débit de chaque étape, il a été supposé qu'un transfert de la séquence SIA développée par LENGHOR ne nous amènerait pas aux mêmes résultats pour le titrage de l'acide acétique. Malgré tout, l'ordre et les volumes d'injection tel que décrits par LENGHOR ont été conservés afin de comparer les résultats obtenus avec les deux systèmes d'expérimentation. La réussite du développement d'une méthode SIA se traduit par l'obtention d'une relation linéaire entre le signal détecté et la concentration de l'acide dans l'échantillon. L'objectif attendu était donc d'obtenir une diminution d'absorbance enregistrée par le détecteur en fonction de l'augmentation de la concentration en acide acétique (Figure 28).

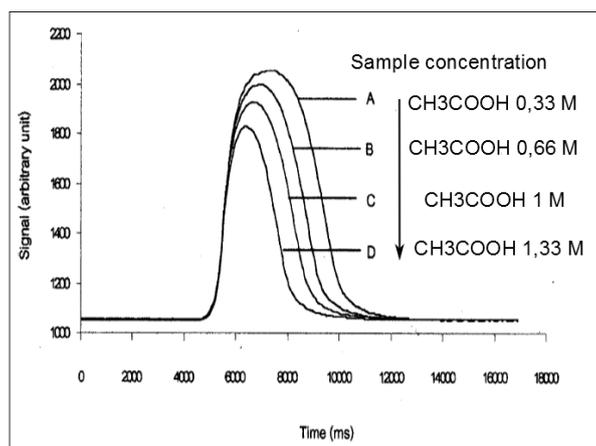


Figure 28 : Graphiques relatifs au titrage par SIA pour la mesure d'acidité d'échantillons contenant du  $\text{CH}_3\text{COOH}$  entre 0,33  $\text{mol L}^{-1}$  et 1,33  $\text{mol L}^{-1}$ . Graphique montrant les résultats obtenus par LENGHOR pour la variation du profil temporel de l'absorbance de la phénolphtaléine contenue dans les différentes concentrations d'acide acétique lors d'un titrage par SIA. La longueur d'onde de mesure est de 480 nm [7].

La Figure 29 présente l'allure des courbes obtenues et le graphique reliant l'évolution de l'intégrale mesurée des courbes d'absorbance expérimentales en fonction de la concentration en acide dans l'échantillon. Les profils temporels d'absorbance obtenus ne varient pas beaucoup en fonction de la concentration en acide.

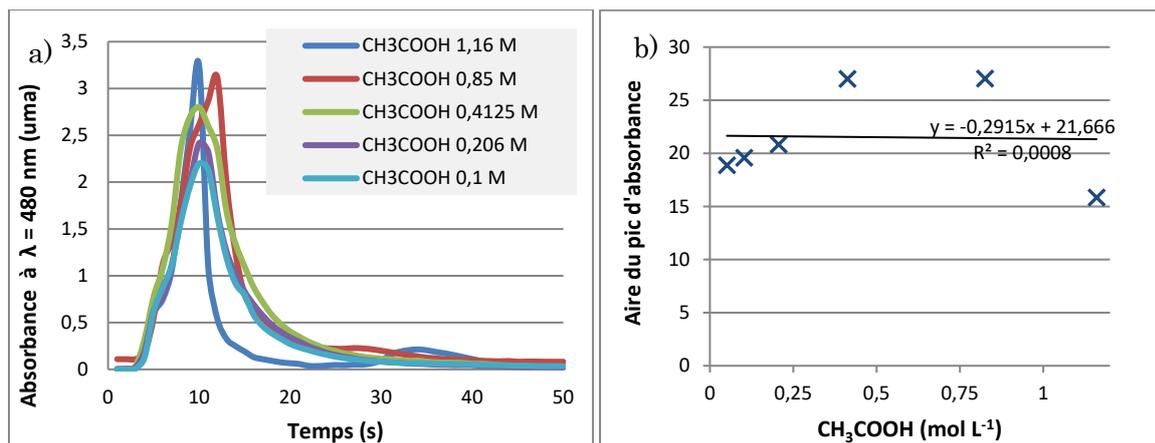


Figure 29 : Graphiques relatifs au titrage par SIA pour la mesure d'acidité d'échantillons contenant du  $\text{CH}_3\text{COOH}$  entre  $0,106 \text{ mol L}^{-1}$  et  $1,16 \text{ mol L}^{-1}$ . a) Graphique montrant les résultats obtenus avec notre système expérimental pour la variation d'absorbance de la phénolphtaléine avec les différentes concentrations d'acide acétique lors d'un titrage SIA. La longueur d'onde de mesure est de  $480 \text{ nm}$  ; b) Droite d'étalonnage pour le titrage par SIA d'échantillons d'acide acétique avec du  $\text{NaOH}$   $0,8 \text{ mol L}^{-1}$ . Cette courbe montre pour chaque concentration en acide, l'intégrale de son pic d'absorbance au cours du temps.

Malgré un nombre considérable d'essais en faisant varier par exemple les volumes d'injection de réactifs la droite d'étalonnage souhaitée n'a pas été obtenue. En effet, l'absence d'évolution du signal mesuré en fonction du volume ou de la concentration en acide semble indiquer que la base, l'acide et l'indicateur ne se mélangent pas avant d'arriver au détecteur, ou que la concentration de la base est trop faible pour arriver à titrer les échantillons d'acide et donc, induire un changement de couleur de l'indicateur. Il est donc nécessaire de modifier la séquence pour obtenir un mélange des réactifs.

Pour cette raison, une étude complémentaire pour le titrage SIA du même couple acido-basique a été initiée. La séquence SIA proposée par MASKULA et. Al. [6] a ainsi été analysée pour nous aider à obtenir une droite d'étalonnage qui pourrait être utilisée pour titrer l'acide acétique avec notre montage expérimental. En effet, la nouvelle étude propose d'utiliser le bleu de bromothymol (BBT) à la place de la phénolphtaléine. Par rapport à la phénolphtaléine, la transition de couleur du BBT est faite dans un domaine de pH plus proche de 7. En conséquence, les mesures d'absorbance seront plus représentatives de la neutralité de la solution en comparaison à celles obtenues avec la phénolphtaléine, dont la zone de transition de couleur est au-delà du pH 8,2. De plus, l'indicateur sera cette fois-ci injecté après l'acide pour favoriser le contact entre ces deux réactifs, ce qui est le cas contraire de la séquence SIA de LENGHOR, où l'indicateur est injecté après la base. Finalement, après un nombre considérable d'essais en faisant varier le volume d'injection des réactifs, une séquence SIA a été optimisée permettant de mesurer l'acidité d'échantillons d'acide acétique. Les conditions optimisées sont données dans le Tableau 5 suivant.

Tableau 5 : Conditions optimisées de la méthode de Maskula [6] pour la détermination de  $\text{CH}_3\text{COOH}$  avec le montage détaillé dans la section 2.1.2. Temps total de l'analyse 50 secondes. Longueur d'onde de mesure =  $566\text{nm} \pm 10\text{ nm}$ . Débit de mélange  $24\ \mu\text{L s}^{-1}$ .

Ordre d'injection	Ligne multi-vanne	Composé chimique	Volume aspiré ( $\mu\text{L}$ )
1	Liquide vecteur	$\text{H}_2\text{O}$	100
2	Echantillon	$\text{CH}_3\text{COOH}$ (0,1 M-1 M)	30
3	Réactif A	$\text{NaOH}$ (0,8 M)	60
4	Echantillon	$\text{CH}_3\text{COOH}$ (0,1 M-1 M)	30
5	Réactif B	Bleu de Bromothymol (0,2%)	10
6	Liquide vecteur	$\text{H}_2\text{O}$	100
7	Liquide vecteur	Rinçage du système avec le liquide vecteur	350

Cette séquence est associée au montage décrit Figure 30.

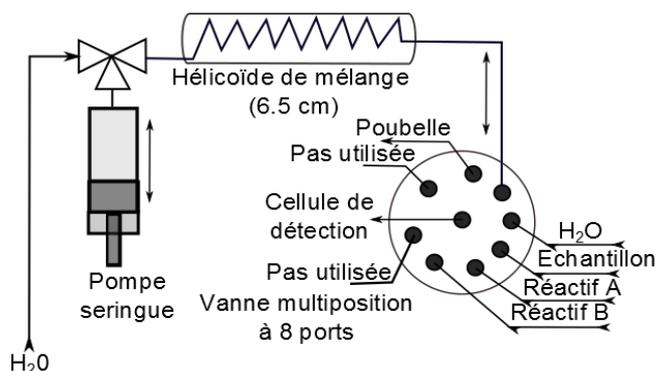


Figure 30 : Schéma de la configuration du système SIA utilisée pour le titrage par SIA d'un échantillon d'acide acétique avec du  $\text{NaOH}$ .

La séquence développée a été validée avec des échantillons d'acide allant de  $0,106\ \text{mol L}^{-1}$  et  $1,16\ \text{mol L}^{-1}$  en concentration. Le suivi du titrage SIA est réalisé en mesurant le profil temporel d'absorbance du bleu de bromothymol passant devant le détecteur (Figure 31 ; a). Ensuite, l'intégrale de chacune des courbes d'absorbance est calculée pour obtenir une droite d'étalonnage qui permettra la mesure d'acidité d'un échantillon d'acide acétique inconnu à partir de son signal d'absorbance enregistré (Figure 31 ; b).

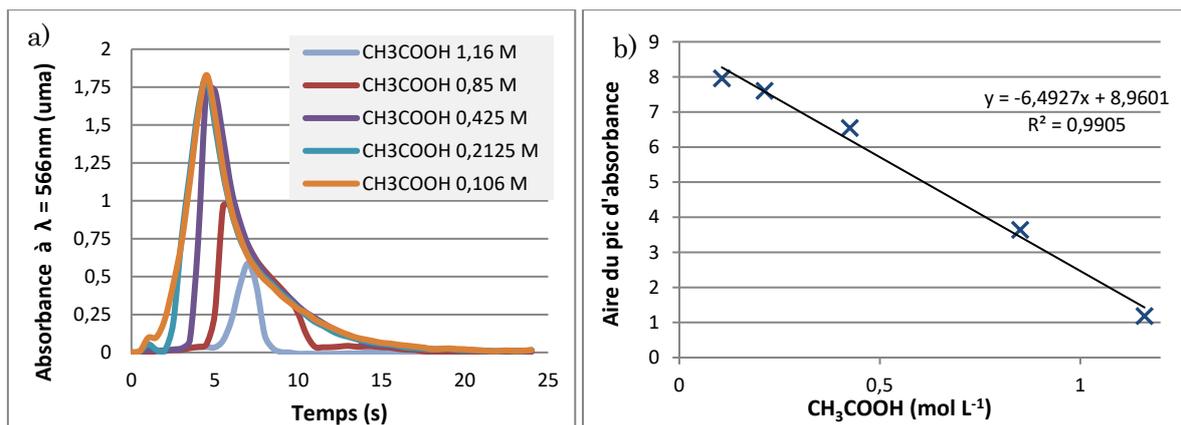


Figure 31 : Graphiques relatifs au titrage par SIA pour la mesure d'acidité d'échantillons contenant du  $\text{CH}_3\text{COOH}$  entre  $0,106 \text{ mol L}^{-1}$  et  $1,75 \text{ mol L}^{-1}$ . a) Graphique montrant la variation du profil temporel d'absorbance du bleu de bromothymol pour les différentes concentrations d'acide acétique. La longueur d'onde de mesure est de  $566 \text{ nm} \pm 5 \text{ nm}$  ; b) Droite d'étalonnage pour le titrage par SIA d'échantillons d'acide acétique avec du  $\text{NaOH } 0,8 \text{ mol L}^{-1}$ . Cette courbe montre pour chaque concentration en acide, l'intégrale de son pic d'absorbance au cours du temps.

Ces études préliminaires ont permis de prendre en main l'ensemble du système d'analyse et de démontrer la faisabilité du développement d'une méthode SIA pour la mesure de l'acidité sur un système modèle simple. Ces résultats nécessaires et indispensables sont à la base du développement d'une méthode SIA adaptée à la titration de l'acidité libre en présence d'ions hydrolysable. La poursuite de l'étude a donc été menée en deux étapes :

- Le retour d'expérience concernant l'étude préliminaire concernant la mesure de la concentration de l'acide acétique par SIA a montré que l'optimisation de la séquence SIA pour l'obtention d'une droite d'étalonnage a été un processus itératif et laborieux. Ceci principalement pour le manque d'éléments logiques permettant d'estimer l'influence de l'ordre et le volume d'injection des réactifs sur la linéarité de la droite d'étalonnage. En effet, il a été considéré que si le développement analytique a été long pour l'analyse d'une réaction acidobasique, le temps de développement d'une méthode de mesure d'acidité libre serait encore plus long, étant donné qu'en plus d'une réaction acidobasique il faut aussi veiller à la complexation des ions d'actinide. Pour cela, d'un point de vue méthodologique, appréhender le principe permettant l'élaboration de droites d'étalonnage à partir d'un mélange hétérogène de réactifs, a été une étape importante pour réduire le temps de développement analytique.

- dans un second temps, une première séquence SIA permettant la mesure de l'acidité libre d'une solution d'acide nitrique contenant des cations zirconyle ( $\text{ZrO}^{2+}$ ) a été développé en zone non-radioactive (dite inactive).

Enfin, la méthode développée pour le  $\text{ZrO}^{2+}$  a été optimisée pour son utilisation avec des échantillons contenant des cations d'uranyle (en zone active).

## 2.1. Analyse de la mesure d'acidité par titrage SIA

Pour mieux appréhender le principe opératoire de la mesure d'acidité par titrage SIA, il faut s'intéresser à l'hétérogénéité du mélange lorsque l'échantillon, la base et l'indicateur coloré sont injectés séquentiellement dans l'hélicoïde de mélange. En effet, l'homogénéité n'est pas atteinte au moment de l'éjection des réactifs vers le détecteur. Par conséquent, comme il a été mentionné, la mesure d'absorbance de l'indicateur coloré est variable avec le temps. En partant de la loi de Beer-Lambert, qui définit l'absorbance comme une fonction du trajet optique ( $l$ ), de l'absorptivité ( $\varepsilon$ ) et de la concentration ( $c$ ) de l'espèce colorée, deux hypothèses ont été proposées afin d'expliquer la variation de l'absorbance mesurée en fonction du temps  $A(t)$  (Equation 4) :

- 1) *L'absorptivité de l'indicateur est variable dans le temps  $\varepsilon(t)$ .* En effet, l'absorptivité est liée à la capacité d'une espèce chimique à absorber la lumière à une longueur d'onde définie. Dans le cas d'un titrage par SIA l'absorptivité peut être variable suite à la sensibilité de l'indicateur au pH. Cela impliquerait aussi que le pH est non uniforme dans le mélange du fait de sa composition chimique hétérogène.
- 2) *La concentration de l'indicateur est variable dans le temps  $c(t)$ .* Cela peut être expliqué par la dilution de l'indicateur lorsqu'il se mélange avec les autres réactifs.

$$A(t) = \varepsilon(t) l c(t)$$

*Équation 2 : Loi de Beer-Lambert modifiée pour le titrage par SIA, où la variation de l'absorbance dans le temps est expliquée par la variation dans le temps du coefficient d'absorptivité  $\varepsilon(t)$  et la concentration du colorant  $c(t)$ . Le trajet optique ( $l$ ) est constant pendant toute la mesure.*

De cette manière, la séquence SIA optimisée pour la mesure d'acide acétique (Tableau 5) a été utilisée pour la mise en œuvre de deux expériences différentes afin de vérifier les deux hypothèses. La première ayant pour but d'identifier la variation de la concentration de l'indicateur coloré  $c(t)$ , et la deuxième de caractériser la variation de son absorptivité  $\varepsilon(t)$  au cours du temps. Il est néanmoins nécessaire de préciser à ce stade que ces deux paramètres sont liés au degré de mélange entre les réactifs. Ainsi, dans les deux cas le même ordre et le même volume d'injection de chacun des réactifs (acide, base, indicateur) a été utilisé. Il faut cependant souligner que le principe d'opération de la SIA est basé sur l'injection séquentielle des réactifs afin de générer un mélange hétérogène à l'intérieur d'un hélicoïde. Après la première étape d'injection, la mesure par spectrophotométrie est déclenchée en même temps que le mélange est éjecté, à débit constant, vers la cellule de détection. Le spectre d'absorbance de l'indicateur, qui est mélangé de façon hétérogène avec l'acide et la base, est enregistré pendant le temps nécessaire pour faire passer la totalité du mélange devant le détecteur. La « fréquence » d'acquisition des spectres a été paramétrée à 4 spectres par seconde.

### 2.1.1. Expérience 1 : Profil de concentration de l'indicateur coloré en fonction du temps

Au cours d'un titrage par SIA, plusieurs réactifs sont injectés séquentiellement à l'intérieur du système avant d'être partiellement mélangés lors de leur passage dans l'hélicoïde de mélange. D'un point de vue technique, les réactifs passant par l'hélicoïde sont soumis à deux phénomènes de transport : d'un côté la dispersion de Taylor-Aris, décrivant, pour une espèce soluble en écoulement dans un canal, l'équilibre physique entre le transport de matière par dispersion et par diffusion (Figure 32) [8] et d'autre part l'écoulement de Dean, décrivant l'action des forces d'inertie sur l'écoulement lorsque celui-ci entre dans un hélicoïde. Ce dernier phénomène de transport permet d'améliorer l'efficacité du mélange par diffusion. Il a été montré expérimentalement que pour l'écoulement dans un serpentin carré, pour un  $Re < 25$ , un phénomène semblable à un écoulement en régime turbulent peut avoir lieu à l'intérieur du serpentin, permettant ainsi d'améliorer le mélange des fluides (Figure 33) [9].

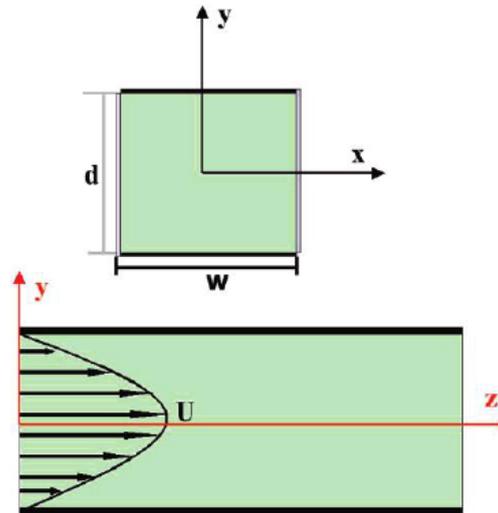


Figure 32 : Illustration de la dispersion de Taylor-Aris dans un écoulement de Poiseuille, où une espèce diffusante est étirée par la dispersion de vitesse [8].

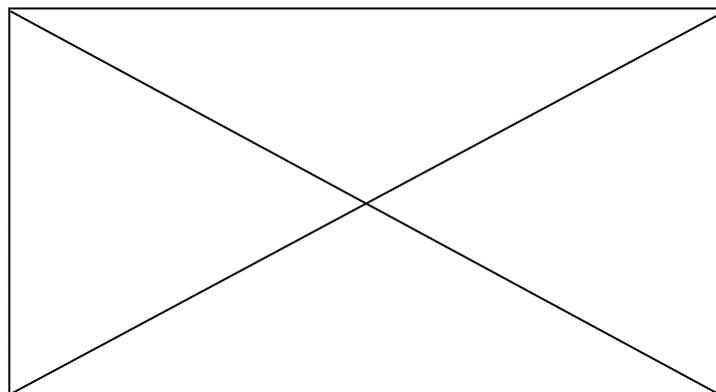


Figure 33 : Illustration de la force de Dean sur un fluide entrant dans un canal en spirale. Ici, l'écoulement se faisant avec une vitesse maximale dans le centre sera déplacé par inertie vers la paroi extérieure du canal [9].

En effet, lorsqu'un volume fixe de réactif est injecté dans le système, il est attendu que par effet de dispersion de Taylor-Aris et avec les forces d'écoulement de Dean, le réactif soit étalé de façon non homogène tout au long du canal de mélange. Ainsi, une fois finie l'étape d'injection des réactifs, les réactifs continueront de se mélanger jusqu'à leur éjection vers la cellule de détection (où les spectres d'absorption du mélange réactionnel seront enregistrés durant une période déterminée). En d'autres termes, lors d'un titrage par SIA, c'est le profil de concentration des réactifs dans la cellule de détection qui est détecté. L'objectif de cette expérience est donc, d'étudier la variation de concentration de l'indicateur coloré lorsqu'il est éjecté devant le détecteur.

Pendant un titrage l'indicateur change de couleur en fonction du pH de la solution. Si la réaction est suivie par spectrophotométrie à une longueur d'onde fixe, la concentration globale de l'indicateur ne peut pas être suivie, seule celle correspondant aux dérivés ionisés acides ou basiques pourra l'être. Pour remédier à ce problème le bleu de méthylène (BM) a été utilisé, car c'est un colorant inerte qui n'est pas sensible à la physicochimie du mélange réactionnel. Par conséquent, l'absorptivité du colorant peut être considérée comme constante puisqu'elle ne change pas pendant la mesure. De cette manière, en reprenant la loi de Beer-Lambert (équation 4 ci-dessus), la variation de l'absorbance mesurée dans le temps  $A(t)$ , n'est seulement reliée qu'à la variation de la concentration du colorant  $c(t)$  passant devant le détecteur.

Afin de déterminer le profil de concentration de l'indicateur coloré, et du reste des réactifs injectés dans le micro canal, le bleu de méthylène a été injecté à tour de rôle à la place de chacun des réactifs en gardant l'ordre et le volume d'injection de la séquence SIA définie préalablement. Les différents profils d'absorbance du BM enregistrés pour chacun des réactifs passant devant le détecteur sont présentés Figure 34.

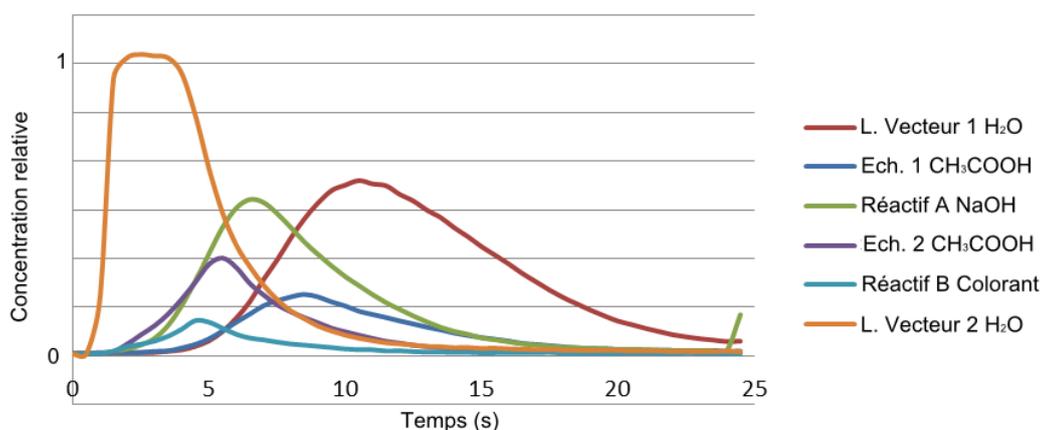


Figure 34 : Graphique montrant le profil de concentration des réactifs lors d'un titrage par SIA en fonction du temps de passage dans la cellule spectrophotométrique. La séquence d'injection des réactifs est celle détaillée dans le tableau 3. L'absorbance du bleu de méthylène est enregistrée à  $\lambda = 566 \text{ nm}$ .

On voit clairement que les liquides vecteurs 1 et 2 encadrent les autres réactifs et amènent une dilution de ceux-ci. La solution d'hydroxyde de sodium recouvre les deux solutions d'acide acétique alors que le colorant se concentre principalement dans le front d'échantillon.

A partir du profil temporel de concentration obtenu pour chacun des réactifs, nous pouvons conclure que pour veiller à l'efficacité du titrage par SIA, le volume injecté, pour chacun des réactifs, doit être déterminé en tenant compte de la concentration initiale de ceux-ci afin de moduler leur concentration dans le mélange passant par le détecteur. De plus, l'ordre d'injection doit favoriser le contact entre les réactifs afin de permettre le bon déroulement de la réaction acide-base. Etant donné que c'est à partir d'un virement de couleur de l'indicateur que l'acidité est mesurée, il faut veiller à ce que la concentration de celui-ci soit suffisante, afin que l'intensité du spectre d'absorption permette la création d'une droite d'étalonnage.

### **2.1.2. Expérience 2 : Variation de l'absorptivité de l'indicateur coloré en fonction du temps**

Dans la section précédente, le mélange partiel des réactifs lors d'un titrage par SIA a été caractérisé. L'objectif était d'étudier la séquence SIA utilisée dans le cas où l'absorptivité du colorant est constante et la concentration de celui-ci est variable. Dans cette section, l'objectif est d'étudier la même séquence SIA mais dans le cas où l'absorptivité du colorant est variable. Pour ne faire varier qu'un paramètre, la concentration de celui-ci est maintenue constante tout le long de l'analyse. Dans ce cas, en reprenant la loi de Beer-Lambert (équation 4 ci-dessus), la variation de l'absorbance mesurée dans le temps  $A(t)$ , sera uniquement due à la variation sur l'absorptivité de l'indicateur coloré  $\epsilon(t)$  passant devant le détecteur.

Pour effectuer cette expérience, tous les réactifs injectés dans le système SIA (acide, base, liquide vecteur, indicateur coloré) ont été préalablement dopés à une même concentration de l'indicateur universel (BBT), l'objectif étant d'avoir dans le système SIA une concentration constante de BBT dans l'ensemble de l'hélicoïde. Ainsi, le titrage par SIA (Tableau 4 ci-dessus) a été mis en œuvre pour des concentrations en acide acétique allant de  $0,1 \text{ mol L}^{-1}$  à  $1,75 \text{ mol L}^{-1}$  et à une longueur d'onde de suivi fixée à  $566 \text{ nm}$ .

La Figure 35 présente les profils temporels d'absorbance correspondants. A faible concentration en acide acétique ( $0,106 \text{ M}$ ), le profil d'absorbance obtenu est très large. Ce profil d'absorbance diminue en largeur avec l'augmentation de la concentration en acide dans l'échantillon pour ne plus être détectable à  $1,16 \text{ M}$ .

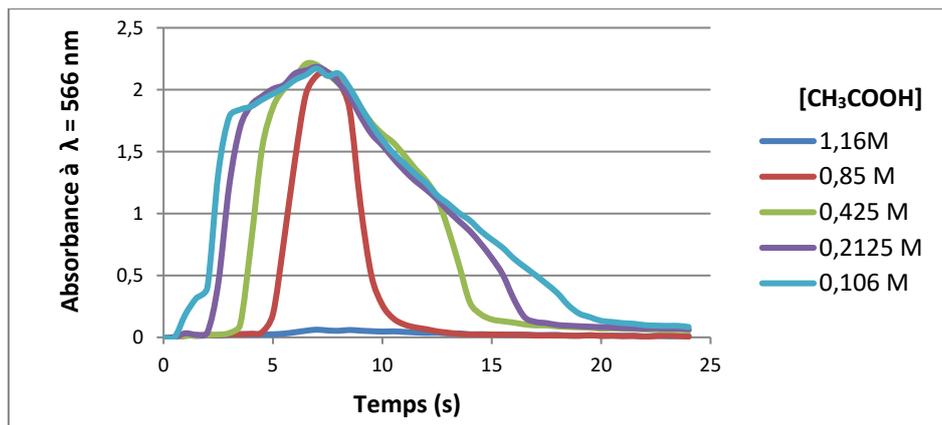


Figure 35 : Variation de l'absorptivité en fonction du temps de passage devant la cellule spectrophotométrique lors d'un microtitrage SIA. Pour des échantillons à différentes teneur en  $CH_3COOH$  dosés avec du  $NaOH$  0,8 M à une longueur d'onde de travail de 566 nm.

Dans le cas d'un titrage par SIA suivi par spectrophotométrie, l'acidité est déterminée à partir d'une corrélation linéaire entre la teneur en acide dans l'échantillon et l'absorbance enregistrée par le détecteur à une longueur d'onde donnée et sur un intervalle de temps déterminé. Les courbes d'absorbance en fonction du temps obtenues, suivent la forme ionique de l'indicateur coloré lors de son passage devant le détecteur. En effet, la longueur d'onde de mesure a été choisie en fonction du spectre (de la couleur) de l'espèce ionisée. De plus, le choix de l'indicateur coloré est fait en fonction de son pKa. Celui-ci doit se rapprocher du pH de travail de la réaction acide-base, normalement de valeur égale à 7.

Par rapport à la séquence SIA d'origine et pour rappel, l'effet de dilution de l'indicateur a été supprimé puisque toutes les solutions sont dopées à la même concentration. En conséquence, l'absorbance observée dans les courbes présentées Figure 35 correspond au moment à partir duquel le pH du mélange dépasse la valeur du pKa intrinsèque de l'indicateur coloré. Phénomène qui est visualisé dans le cas du BBT (pKa = 7,1) par le virement du jaune vers le bleu, couleur spécifique de l'espèce basique (pH > 7,5) de l'indicateur coloré permettant le suivi par spectrophotométrie à 566 nm. La Figure 35 montre qu'à de faibles acidités (< 0,25 mol L<sup>-1</sup>) le pH du mélange passant devant le détecteur est basique pendant la plupart de l'analyse, ce qui indique que l'échantillon d'acide injecté n'arrive pas à neutraliser la base injectée. Dans le cas contraire, pour de fortes acidités (1,5 mol L<sup>-1</sup> <), l'indicateur se trouve sous sa forme acide et donc n'est plus détectable à la longueur d'onde de travail. Cela indique aussi que la base injectée n'arrive pas à neutraliser l'échantillon d'acide.

A partir de cette expérience nous pouvons constater l'importance de bien définir un indicateur coloré qui soit en accord avec la couleur des réactifs de départ au pH de travail souhaité.

### 2.1.3. Apport global d' $\epsilon(t)$ et de $c(t)$ sur la mesure expérimentale d' $A(t)$

Comme décrit dans les sections précédentes, durant un titrage par SIA, la variation temporelle de l'absorbance  $A(t)$  est le résultat d'un changement sur l'absorptivité  $\epsilon(t)$  et sur la concentration  $c(t)$  de l'indicateur coloré lorsqu'il passe devant le détecteur. Afin d'illustrer ces variations, la Figure 36 présente le titrage par SIA d'un échantillon d'acide acétique  $0,85 \text{ mol L}^{-1}$  dosé avec de l'hydroxyde de sodium à  $0,8 \text{ mol L}^{-1}$ .

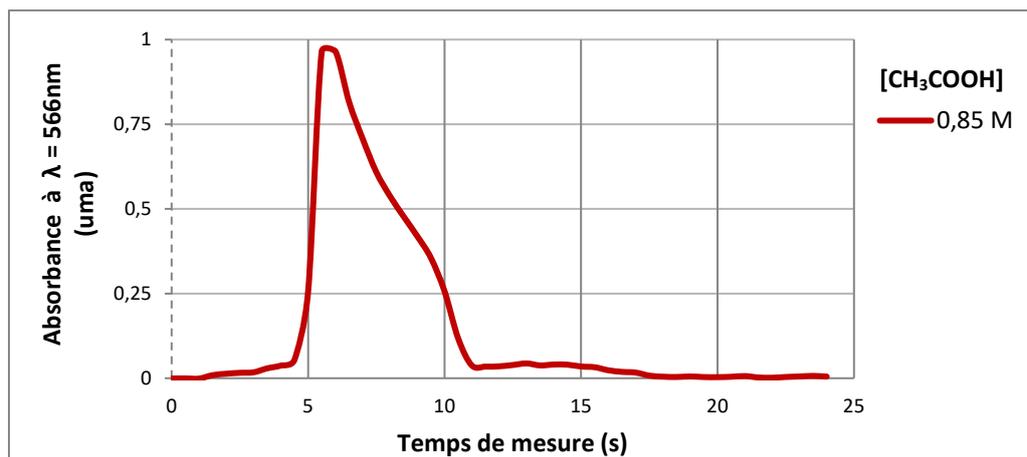


Figure 36 : Graphique de l'absorbance au cours du temps obtenu lors du titrage SIA de  $\text{CH}_3\text{COOH}$   $0,85 \text{ mol L}^{-1}$  avec du  $\text{NaOH}$   $0,8 \text{ mol L}^{-1}$ . La courbe représentée est un extrait de la figure 31.

Dans cet exemple, la courbe d'absorbance en fonction du temps  $A(t)$  observée est le produit de la variation du profil de concentration de l'indicateur  $c(t)$  (Chapitre 2 Section 2.1) avec la variation du profil de l'absorptivité de l'indicateur  $\epsilon(t)$  (Chapitre 2 Section 2.2) (Figure 36). Ces courbes permettent de comprendre pourquoi le signal mesuré ne commence qu'à 5 sec environ alors que l'indicateur arrive bien plus tôt dans le détecteur. En résumé, la courbe d'absorbance du titrage par SIA, ne peut exister que s'il y a une concentration suffisante d'indicateur dans l'intervalle de temps où le pH du mélange favorise la formation de l'espèce chimique de l'indicateur suivie par spectrophotométrie. Si ces deux phénomènes n'ont pas lieu dans le même intervalle de temps, aucune absorbance ne pourra être mesurée.

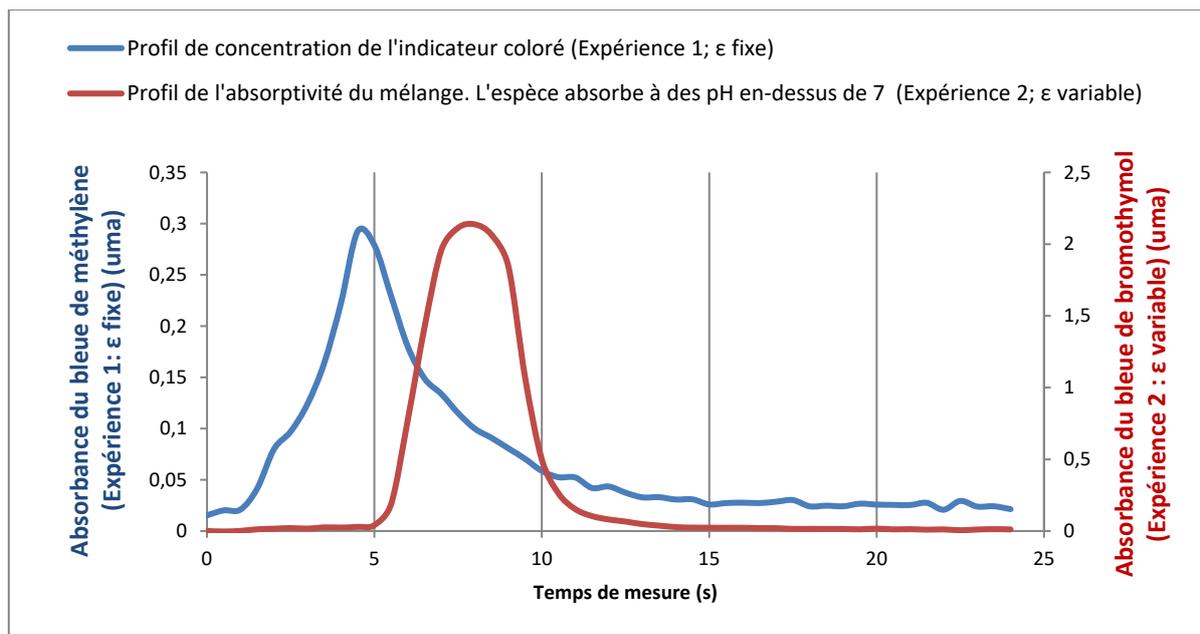


Figure 37 : Graphique superposant le profil de concentration de l'indicateur coloré (Figure 33 ; expérience 1) avec le profil de l'absorptivité du mélange (Figure 34 ; expérience 2), pour le titrage par SIA de l'acide acétique  $0,85 \text{ mol L}^{-1}$  avec du NaOH  $0,8 \text{ mol L}^{-1}$ .

Lors d'une série d'analyses par titrage par SIA l'ordre comme le volume d'injection de chacun des réactifs (y compris l'échantillon) restent inchangés. Ainsi, le mélange passant devant le détecteur gardera toujours la même distribution des réactifs pour les différentes mesures. De fait, le facteur variant entre les mesures est la concentration en acide des différents échantillons, comme illustré par l'expérience 2 (Chapitre 2 section 2.1). Afin d'obtenir une droite d'étalonnage pour le titrage par SIA, il est indispensable d'optimiser la concentration, le volume et l'ordre d'injection de chaque réactif. Il est également à noter que le pKa et la couleur de l'indicateur doivent favoriser la mesure d'acidité à partir d'un suivi par spectrophotométrie à une longueur d'onde fixe.

## 2.2. Application d'un titrage par SIA pour la mesure d'acidité libre d'un échantillon d'acide nitrique contenant des cations $\text{ZrO}^{2+}$

Développer une méthode analytique est un processus qui demande la réalisation d'un nombre considérable d'expériences. De plus, dans un environnement nucléaire le temps de développement se voit rallongé considérablement par l'application de normes et de consignes de sûreté et par les contraintes liées à l'environnement (difficulté de manipulation, protection biologiques, visibilité restreinte etc.) nécessaires pour minimiser les risques de contamination radiologique. C'est pour cette raison que le développement de méthode au sein du nucléaire passe d'abord par un développement en inactif avant d'être transposé en milieu actif. Ainsi, pour limiter le volume de déchets radioactifs issus de l'expérimentation et gagner du temps sur le développement analytique, le cation, non radioactif, zirconyle ( $\text{ZrO}^{2+}$ ) a été utilisé pour simuler l' $\text{UO}_2^{2+}$  afin de

permettre le travail en milieu inactif. En effet, comme l' $\text{UO}_2^{2+}$ , le  $\text{ZrO}^{2+}$  est un cation hydrolysable dont la mesure de l'acidité libre peut être effectuée avec la même méthode puisqu'il forme rapidement de forts complexes avec les ions oxalate [10].

Le développement et la validation d'une méthode de titrage de l'acidité libre par SIA a donc été dans un premier temps étudiée sur des solutions non radioactives chargées en zirconyle. Pour ce faire, une première approche a consisté à reprendre la séquence SIA optimisée pour la mesure d'acidité d'échantillons d'acide acétique (Tableau 5 ; Chapitre 2 section 2), et de remplacer l'échantillon par de l'acide nitrique (Tableau 6).

*Tableau 6 : Séquence SIA proposée pour la mesure d'acidité libre d'une solution d'acide nitrique contenant du  $\text{ZrO}^{2+}$ . L'ordre et volume d'injection des réactifs est le même que celui présenté dans le tableau 5, pour le titrage par SIA d'acide acétique. Temps total de l'analyse 50 secondes. Débit de mélange 24  $\mu\text{L s}^{-1}$ .*

Ordre d'injection	Ligne multi-vanne	Composé chimique	Volume aspiré ( $\mu\text{L}$ )
1	Liquide vecteur	$\text{H}_2\text{O}$	100
2	Echantillon	$\text{HNO}_3$ (0,1 mol $\text{L}^{-1}$ – 3 mol $\text{L}^{-1}$ )	30
3	Réactif A	$\text{NaOH}$ (0,8 mol $\text{L}^{-1}$ )	60
4	Echantillon	$\text{HNO}_3$ (0,1 mol $\text{L}^{-1}$ – 3 mol $\text{L}^{-1}$ )	30
5	Réactif B	Bleu de Bromothymol (0,2%)	10
6	Liquide vecteur	$\text{H}_2\text{O}$	100
7	Liquide vecteur	Rinçage du système avec le liquide vecteur	350

L'objectif de cette première approche a été de confirmer que la séquence SIA développée puisse être utilisée pour le titrage d'un acide fort sans modifier l'ordre ou volume d'injection des réactifs. De cette manière, le titrage par SIA des différents échantillons d'acide nitrique à une concentration d'entre 0,1 mol  $\text{L}^{-1}$  et 2 mol  $\text{L}^{-1}$  a été réalisé et pour chaque échantillon la variation de l'absorbance en fonction du temps a été enregistrée. Ensuite, il a été calculé l'aire sous la courbe de la variation de l'absorbance  $A(t)$ , les données obtenues ont été représentées dans un graphique reliant l'aire du pic d'absorbance avec la concentration d'acide nitrique pour se rendre compte qu'aussi comme pour l'acide acétique, la relation entre les aires du pic d'absorption et les différentes concentration des échantillons en acide nitrique est aussi linéaire, donc donnant lieu au calcul d'une droite d'étalonnage pour le titrage SIA (Tableau 6 ; Figure 38).

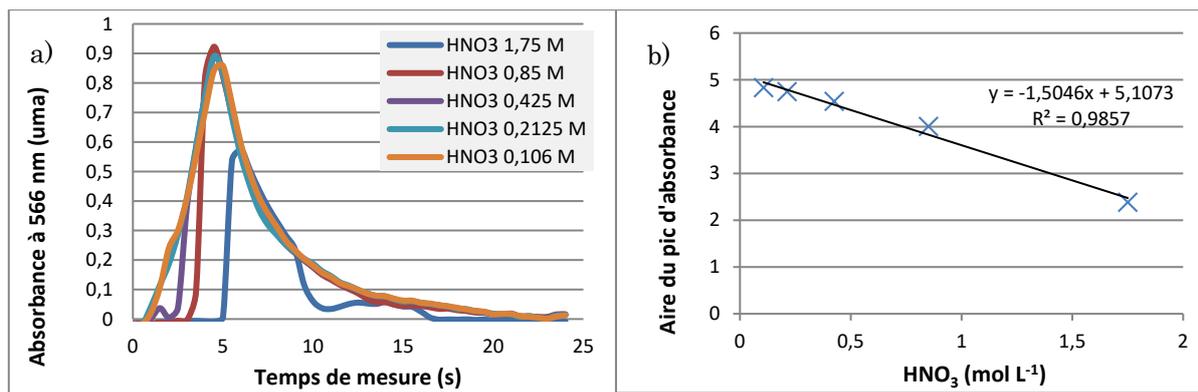


Figure 38 : Titrage par SIA de l'acidité libre de solutions d'acide nitrique. a) Graphique montrant la variation de l'absorbance du bleu de bromothymol pour les différentes concentrations d'acide nitrique en fonction du temps. La longueur d'onde de mesure est de 566 nm ; b) Droite d'étalonnage pour le titrage par SIA de l'acidité libre d'échantillons d'acide nitrique contenant entre 0,106 mol L<sup>-1</sup> et 1,75 mol L<sup>-1</sup> avec du NaOH 0,8 mol L<sup>-1</sup>.

La validation confirmée de la titration de l'acide nitrique par SIA a permis d'initier dans un deuxième temps une poursuite de l'étude portant sur l'effet de la présence d'un cation hydrolysable sur la mesure d'acidité. Pour ce faire, plusieurs échantillons d'acide nitrique ayant une concentration d'entre 1 mol L<sup>-1</sup> et 1,75 mol L<sup>-1</sup> et contenant du cation ZrO<sub>2</sub><sup>+</sup> à une concentration de 0,21 mol L<sup>-1</sup> ont été injectés à la place de l'acide nitrique. Cependant, les courbes d'absorbance obtenues ne présentent pas la même allure que celles obtenues pour l'analyse d'acide nitrique sans cations hydrolysables (Figure 39).

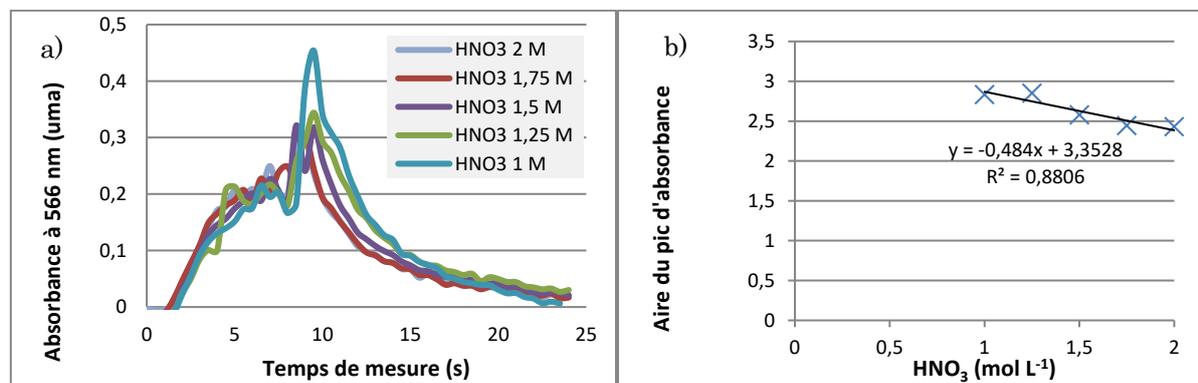


Figure 39 : Titrage par SIA de l'acidité libre de solutions d'acide nitrique contenant du ZrO<sub>2</sub><sup>+</sup> 0,21 mol L<sup>-1</sup>. a) Graphique montrant la variation de l'absorbance du bleu de bromothymol pour les différentes concentrations d'acide nitrique en fonction du temps. La longueur d'onde de mesure est de 566 nm ; b) Droite d'étalonnage pour le titrage par SIA de l'acidité libre d'échantillons d'acide nitrique contenant entre 1 mol L<sup>-1</sup> et 2 mol L<sup>-1</sup> avec du NaOH 0,8 mol L<sup>-1</sup>.

L'aire sous la courbe de la variation de l'absorbance a été calculée pour chacun des échantillons injectés. Bien qu'il semble exister une relation linéaire entre ces différentes mesures, la forme des courbes d'absorbance est un indice de la présence de réactions chimiques qui interfèrent sur la mesure d'acidité.

Expérimentalement, la présence de précipités solides dans le liquide dans la poubelle en sortie du système SIA a été observée. Ce précipité expliquerait les interférences dans la mesure d'absorption. Pour cela, la mesure d'acidité d'échantillons contenant du  $ZrO^{2+}$  a été refaite par titrage potentiométrique en utilisant les mêmes réactifs, cela afin de déterminer le pH d'apparition de précipités solide. Ces précipités solides sont formés à partir de pH 6. Il est donc nécessaire d'adapter la séquence SIA de façon à ne pas dépasser ce pH pour éviter l'interférence sur la mesure.

En résumé de cette partie, le développement d'une méthode de mesure de l'acidité libre par titrage par SIA s'est déroulé en deux étapes. La première concerne l'adaptation ou la définition d'une séquence SIA qui soit en accord avec la physicochimie de la mesure de l'acidité libre à mettre en place. La deuxième étape, concerne l'optimisation des paramètres de la séquence (volume, concentration des réactifs injectés, etc...) vis-à-vis des propriétés du titrage souhaitées (linéarité de la réponse, gamme de concentration, limites de détection etc...).

### **2.2.1. Définition d'une séquence SIA pour la mesure d'acidité libre d'un échantillon d'acide nitrique contenant des cations $ZrO^{2+}$**

Dans le cas de la méthode de mesure d'acidité libre par ajout d'oxalates, il a été conclu dans le Chapitre 1 section 3 de la thèse, qu'il faut que le pH du mélange soit inférieur à 6 afin d'éviter les produits d'hydrolyse et autres précipités. De plus, il faut s'assurer que le mélange contient un rapport de concentrations  $[C_2O_4]^{2-} / [UO_2]^{2+} \geq 5$  pour maximiser la quantité d'ions uranyle complexés. Afin d'obtenir ce rapport de concentrations il faut diluer l'échantillon (pour un échantillon type procédé). Cette étape est indispensable puisque celui-ci contient normalement une concentration  $[UO_2]^{2+} = 1 \text{ mol L}^{-1}$  et que la concentration de saturation de l'oxalate de sodium en solution aqueuse est de moins de  $0,25 \text{ mol L}^{-1}$ . Lors de l'établissement de la séquence SIA pour la mesure d'acidité dans une solution contenant les cations  $ZrO^{2+}$ , ces critères de dilution et de pH limite du mélange devront être respectés. En effet pour un titrage par SIA, le rapport de concentration [oxalate] / [métal hydrolysable] n'a pas une valeur fixe du fait de l'hétérogénéité du mélange à l'intérieur du système d'analyse. Cependant, une valeur approximative de ce rapport a été calculée à partir du volume des réactifs injectés ainsi que de leur concentration de départ. Ce calcul correspond au cas limite où les réactifs seront parfaitement mélangés à l'intérieur de l'hélicoïde. Bien que dans le déroulement normal d'une analyse SIA, l'oxalate et l'échantillon seront dilués pendant l'étape d'injection des réactifs, ce calcul est utilisé pour estimer le volume d'oxalate et d'actinide à injecter.

De plus, pour éviter que le mélange hétérogène ne dépasse un pH de 6, une nouvelle séquence SIA en trois étapes a été proposée :

- 1) Durant la première étape, la base, l'indicateur coloré et l'oxalate sont respectivement injectés dans l'hélicoïde de mélange. Dans cette étape-là, un excès d'oxalate est injecté afin de minimiser le plus possible l'hétérogénéité du mélange de réactifs. L'objectif est de former, à une extrémité de l'hélicoïde, une première zone contenant un mélange quasi-homogène de base, d'indicateur et d'oxalate. De façon inévitable, cela conduira au milieu de l'hélicoïde à la formation d'une deuxième zone contenant de l'oxalate mélangé avec une faible concentration de base et d'indicateur. Et finalement restera, à l'autre extrémité de l'hélicoïde (la plus proche de la vanne d'injection de réactifs), une troisième zone contenant de l'oxalate pur.
- 2) La seconde étape, consiste à éjecter vers la poubelle les troisième et deuxième zones afin de garder uniquement dans l'hélicoïde la partie contenant le mélange quasi-homogène de réactifs. De cette manière, si la concentration des réactifs est uniforme dans cette zone, alors le pH doit aussi avoir une valeur constante. Sachant que la valeur du pH maximal est de 6, il est important que cette zone (qui représente la zone de pH la plus basique) ne dépasse pas cette valeur. Cette étape est cruciale pour éviter la formation de produits d'hydrolyse et de solides précipités.
- 3) Dans une troisième étape, l'échantillon acide est injecté dans le système suivi de l'injection de l'oxalate pour permettre le mélange partiel des réactifs. L'intérêt de cette étape est de titrer l'échantillon acide avec le mélange homogène de réactifs.

Avant de commencer les phases d'expérimentation et de développement analytique, il a fallu fixer certains paramètres :

- Un indicateur coloré a été choisi présentant un changement de couleur à un pH proche de 6.
- Une longueur d'onde de mesure en accord à la couleur de l'indicateur à pH 6 afin de pouvoir suivre la réaction par absorptiométrie.
- Un domaine de concentration en acide nitrique pour lequel la méthode d'analyse serait valide.
- Les concentrations en cation  $ZrO^{2+}$ , en oxalate de sodium et en hydroxyde de sodium optimales pour l'analyse.

De cette manière, le vert de bromocrésol a été choisi ( $\geq 95\%$ ), celui-ci possède un  $pK_a$  de 4,9 et passe du jaune au bleu entre les pH 3,8 et 5,4. Les solutions d'indicateur coloré, de  $Na_2C_2O_4$  (99 %) et de  $ZrO(NO_3)_2$  (98 %) ont été préparées aux conditions de saturation à 25 °C pour obtenir des solutions de concentration 6 mmol  $L^{-1}$ , 0,27 mol  $L^{-1}$  et 0,21 mol  $L^{-1}$  respectivement. L'hydroxyde de sodium (99,9 % titrinorm) a été utilisé à une concentration de 0,25 mol  $L^{-1}$ . Plusieurs concentrations d'acide nitrique ont été diluées à un rapport de 1 :1 avec la solution saturée de nitrate de zirconyle pour obtenir une gamme de 8 échantillons ayant une acidité comprise entre 0.1 mol  $L^{-1}$  et 3 mol  $L^{-1}$  et une concentration en  $ZrO^{2+}$  de 0,105 mol  $L^{-1}$ .

De cette manière, la nouvelle séquence a été utilisée pour le titrage par SIA de l'acidité libre. Une fois mesurée l'absorbance en fonction du temps de chacun des échantillons, il a été calculé l'aire sous la courbe de la variation de l'absorbance  $A(t)$ . Ensuite, les données obtenues ont été représentées dans un graphique reliant l'aire du pic d'absorbance avec la concentration d'acide nitrique. Finalement, par rapport aux résultats obtenus avant, sur les courbes mesurées avec la nouvelle séquence il n'est pas visible d'interférences provenant de précipités solides. De plus, la relation entre les aires des courbes d'absorption est linéaire dans un domaine de concentration d'acide nitrique d'entre  $0,25 \text{ mol L}^{-1}$  et  $1,25 \text{ mol L}^{-1}$  (Tableau 7 ; Figure 40).

*Tableau 7 : Séquence SIA optimisée pour la mesure d'acidité libre d'une solution d'acide nitrique contenant du  $\text{ZrO}_2$ . Temps total de l'analyse 2 min 5 secondes. Débit de mélange  $24 \mu\text{L s}^{-1}$ .*

Ordre d'injection	Ligne multi-vanne	Composé chimique	Volume aspiré ( $\mu\text{L}$ )
1	Liquide vecteur	Oxalate ( $0,27 \text{ mol L}^{-1}$ ) à pH=5,6	100
2	Réactif A	NaOH ( $0,25 \text{ mol L}^{-1}$ )	20
3	Réactif B	Vert de bromocrésol ( $0,06 \text{ mol L}^{-1}$ )	20
4	Liquide vecteur	Oxalate ( $0,27 \text{ mol L}^{-1}$ ) à pH=5,6	80
5	Poubelle	Ejecter mélange vers la poubelle	90
6	Echantillon	$\text{HNO}_3$ ( $0,1 \text{ mol L}^{-1} - 3 \text{ mol L}^{-1}$ ) + $\text{ZrO}_2$ ( $0,105 \text{ mol L}^{-1}$ )	50
7	Liquide vecteur	Oxalate ( $0,27 \text{ M}$ ) à pH=5,6	70
8	Liquide vecteur	Rinçage du système avec le liquide vecteur	350

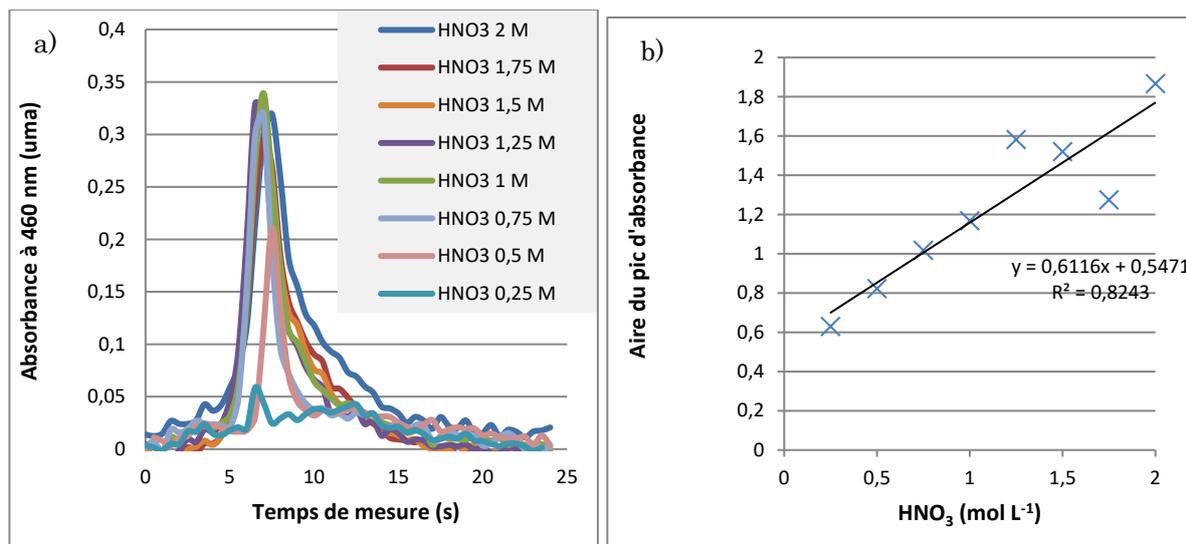


Figure 40 : Titrage par SIA de l'acidité libre de solutions d'acide nitrique contenant  $ZrO^{2+}$   $0,105 \text{ mol L}^{-1}$ . a) Graphique montrant la variation de l'absorbance du vert de bromocrésol pour les différentes concentrations d'acide nitrique en fonction du temps. La longueur d'onde de mesure est de 466 nm ; b) Droite d'étalonnage pour le titrage par SIA de l'acidité libre d'échantillons contenant entre  $0,1 \text{ mol L}^{-1}$  et  $2 \text{ mol L}^{-1}$  d'acide nitrique avec  $0,25 \text{ mol L}^{-1}$  de NaOH.

Etant une possible solution pour la mesure de l'acidité libre la séquence et l'indicateur proposés dans cette section, le volume d'injection des réactifs a été optimisé jusqu'à ce que les absorbances mesurées pour les différentes concentrations d'acide aient une relation linéaire dans un domaine d'acidité compris entre  $0,25 \text{ mol L}^{-1}$  et  $3 \text{ mol L}^{-1}$ .

### 2.2.2. Optimisation d'une séquence SIA pour la mesure d'acidité libre d'un échantillon d'acide nitrique contenant des cations $ZrO^{2+}$

Pour compléter la séquence SIA il fallait encore optimiser les volumes d'injection de chaque réactif. Pour ce faire, le titrage par SIA des 8 échantillons d'acide a été réalisé. Pour chacune des expériences l'absorbance  $A(t)$  a été enregistrée à une longueur d'onde de 466nm. La variable observée à chaque échantillon analysé a été l'aire sous la courbe de variation de l'absorbance  $A(t)$  au cours du temps à une longueur d'onde de 466 nm. Les données obtenues ont été représentées dans un graphique reliant l'aire du pic d'absorbance avec la concentration d'acide nitrique correspondante. Cette procédure a été répétée à chaque fois que le volume d'injection de réactifs a été changé. En effet, le volume d'injection des réactifs a été modifié progressivement jusqu'à ce que la relation entre l'aires du pic d'absorption et la concentration en acide nitrique soit linéaire dans un domaine d'acidité compris entre  $0,25 \text{ mol L}^{-1}$  et  $3 \text{ mol L}^{-1}$ . La droite d'étalonnage obtenue après ajustement (Tableau 8) est présentée Figure 41.

Tableau 8 : Séquence SIA optimisée pour la mesure d'acidité libre d'une solution d'acide nitrique contenant du  $ZrO_2^+$ . Temps total de l'analyse 2 min 5 secondes. Débit de mélange  $24 \mu L s^{-1}$ .

Ordre d'injection	Ligne multi-vanne	Composé chimique	Volume aspiré ( $\mu L$ )
1	Liquide vecteur	Oxalate ( $0,27 \text{ mol L}^{-1}$ ) à pH=5,6	100
2	Réactif A	NaOH ( $0,25 \text{ mol L}^{-1}$ )	10
3	Réactif B	Vert de bromocrésol ( $0,06 \text{ mol L}^{-1}$ )	20
4	Liquide vecteur	Oxalate ( $0,27 \text{ mol L}^{-1}$ ) à pH=5,6	75
5	Poubelle	Ejecter mélange vers la poubelle	65
6	Echantillon	$HNO_3$ ( $0,1 \text{ mol L}^{-1} - 3 \text{ mol L}^{-1}$ ) + $ZrO_2^+$ ( $0,21 \text{ mol L}^{-1}$ )	60
7	Liquide vecteur	Oxalate ( $0,27 \text{ M}$ ) à pH=5,6	110
8	Liquide vecteur	Rinçage du système avec le liquide vecteur	350

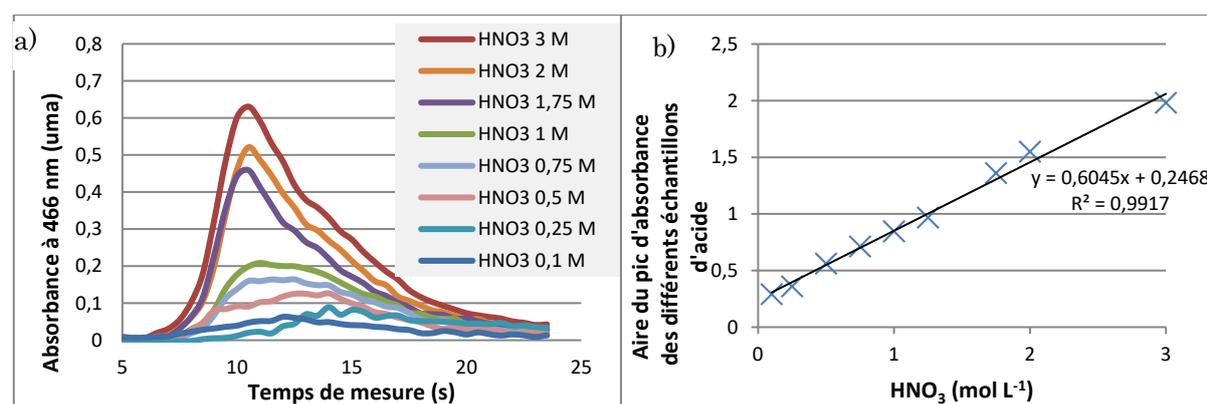


Figure 41 : Titration par SIA de l'acidité libre de solutions d'acide nitrique contenant  $ZrO_2^+$   $0,105 \text{ mol L}^{-1}$ . a) Graphique montrant la variation de l'absorbance du vert de bromocrésol pour les différentes concentrations d'acide nitrique en fonction du temps. La longueur d'onde de mesure est de  $466 \text{ nm}$  ; b) Droite d'étalonnage pour le titrage par SIA de l'acidité libre d'échantillons d'acide nitrique contenant entre  $0,1 \text{ mol L}^{-1}$  et  $3 \text{ mol L}^{-1}$  avec du NaOH  $0,25 \text{ mol L}^{-1}$ .

Dans une méthode de mesure d'acidité libre par ajout d'oxalates, les ions oxalate complexent les ions métalliques afin d'éviter leur hydrolyse. Pour cela, afin de s'assurer que les ions  $ZrO_2^+$  soient complexés par les ions oxalate pendant le titrage par SIA, le degré de complexation a été estimé à partir d'un calcul de spéciation sur le mélange hétérogène passant devant le détecteur. Pour ce faire, le profil de concentration des espèces a été caractérisé pour la nouvelle séquence SIA en suivant la même procédure expérimentale que dans la section 2.1.1 (remplacement des réactifs étudiés par un colorant). Le logiciel de spéciation chimique CHESS a ensuite été utilisé pour estimer le pourcentage de complexation en utilisant les estimations sur la concentration de chacun des réactifs lorsqu'ils passent devant le détecteur. L'objectif est de simuler, en fonction du

temps, le pourcentage de  $ZrO^{2+}$  complexé au moment de la mesure par absorption (Figure 42). A partir de ces simulations, il a été estimé que les ions d'oxalate complexent en moyenne 99% des ions de  $ZrO^{2+}$  contenus dans la solution échantillon injectée. Le profil de concentration des réactifs donne également la possibilité de vérifier que le rapport de concentration [oxalate]/[cations hydrolysables] est majoritairement supérieur à 4,5. Enfin, la simulation a également permis de confirmer que le pH de la solution ne dépasse pas une valeur de 6.

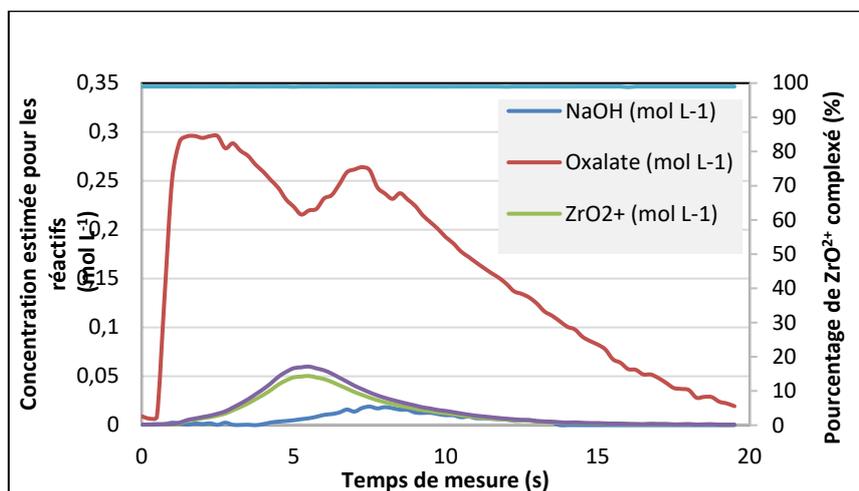


Figure 42 : Graphique montrant le profil de concentration des réactifs au cours du titrage par SIA de l'acidité libre d'un échantillon contenant  $0,25 \text{ mol L}^{-1}$  de  $HNO_3$  et  $0,105 \text{ mol L}^{-1}$  de  $ZrO^{2+}$ . L'axe secondaire représente le résultat des calculs de spéciation CHESS estimant le pourcentage de  $ZrO^{2+}$  complexé au moment de la détection, La séquence d'injection des réactifs est détaillée dans tableau 8.

### 2.3. Conclusions de l'étude de faisabilité sur l'utilisation d'un système SIA adapté pour la mesure de l'acidité libre de solutions de cations hydrolysables

Les méthodes par SIA sont rapides, répétables, quasi-automatiques et ne nécessitent qu'un volume de réactifs par analyse de quelques millilitres, voire microlitres. Cela représente un grand avantage pour l'analyse d'échantillons à manipulation dangereuse ou à coût élevé. Cette étude de faisabilité, bien que les développements aient été faits en utilisant le  $ZrO^{2+}$  comme simulant de l' $UO_2^{2+}$ , montre que la méthode SIA proposée offre déjà une réduction sur les volumes d'échantillons et d'effluents par rapport à la méthode de mesure de l'acidité libre proposée par MAYANKUTTI (Tableau 9). L'inconvénient majeur réside dans la difficulté de développer des méthodes différentes du fait de la complexité du mélange réactionnel. D'une part, les mélanges sont si complexes que les méthodes associées ne deviennent applicables que pour une problématique particulière. D'autre part, l'incapacité de simuler la façon dont les réactifs sont mélangés lorsque le volume ou l'ordre d'injection est modifié, rallonge le temps de développement analytique. Toutefois, les systèmes SIA sont des outils suffisamment robustes pour pouvoir être utilisés en zone radioactive. De plus, une fois le développement analytique effectué, la mise en œuvre d'un titrage analytique devient facilement applicable. Pour ces raisons il a été conclu, à

partir de l'étude de faisabilité, qu'il y a un grand intérêt à développer une méthode SIA pour la mesure d'acidité libre d'échantillons d'acide nitrique contenant de l' $\text{UO}_2^{2+}$ .

*Tableau 9 : Tableau de comparaison des performances entre la méthode de mesure de l'acidité libre proposée par MAYANKUTTI sur paillasse et son équivalent par titrage SIA*

	Méthode SIA	Méthode sur paillasse
V échantillon par analyse	60 $\mu\text{L}$	10 mL
V effluents rejetés par analyse	1 mL	60 mL
Temps d'analyse par échantillon	2 min 5 s	>20 min

### 3. Développement d'une méthode SIA adaptée à la mesure de l'acidité libre de solutions contenant de l'U(VI)

Dans la section précédente une méthode de mesure de l'acidité libre de solutions d'acide nitrique contenant du  $\text{ZrO}^{2+}$  a été développée. La méthode en question tient compte des critères physicochimiques définis dans le Chapitre 1. Pour ce faire, une méthode en 3 étapes a été mise en œuvre dans une nouvelle séquence SIA, ce qui a permis de maintenir le pH du mélange hétérogène à une valeur inférieure à 6 afin de favoriser la complexation par oxalates, plutôt que la formation de produits d'hydrolyse et de précipités. De plus, la méthode inclut une étape de dilution qui permet l'obtention d'un rapport de concentrations  $[\text{C}_2\text{O}_4]^{2-} / [\text{cation métallique}] \geq 5$  sur l'ensemble du mélange, ce qui est indispensable pour maximiser la quantité d'ions uranyle complexés.

Avant de commencer les phases d'expérimentation et de développement analytique, un nouvel indicateur coloré permettant de travailler avec les contraintes (colorimétriques) engendrées par l' $\text{UO}_2^{2+}$  a été choisi, en veillant à ce que le changement de couleur se produise à un pH inférieur à 6.

En effet, il a été nécessaire de choisir un nouvel indicateur coloré car, comme pour le vert de bromocrésol, l' $\text{UO}_2^{2+}$  et ses complexes avec l'oxalate absorbent la lumière en-dessous d'une longueur d'onde de 480 nm (Figure 43 ; 44) et interfèrent donc avec la mesure absorptiométrique (effectuées à 466 nm). Il faut mentionner qu'il était possible d'utiliser le vert de bromocrésol à une autre longueur d'onde de mesure (à 620 nm par exemple). Cependant, afin de minimiser l'effet sur la mesure des possibles réactions de hydrolyse ayant lieu à des pH au-delà de 6, il est souhaité que l'absorbance maximale de l'indicateur soit obtenue à des pH acides et que l'absorbance minimale soit obtenue à des valeurs proches de 6.

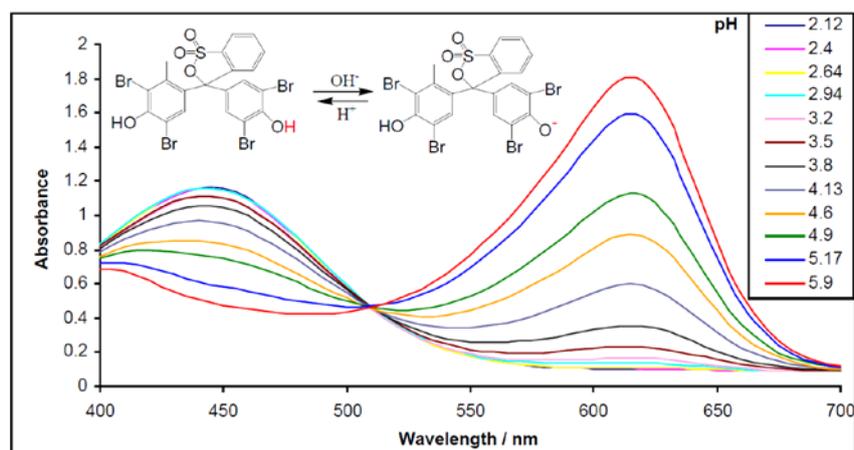


Figure 43 : Graphique montrant le spectre d'absorbance du vert de bromocrésol à plusieurs pH [11].

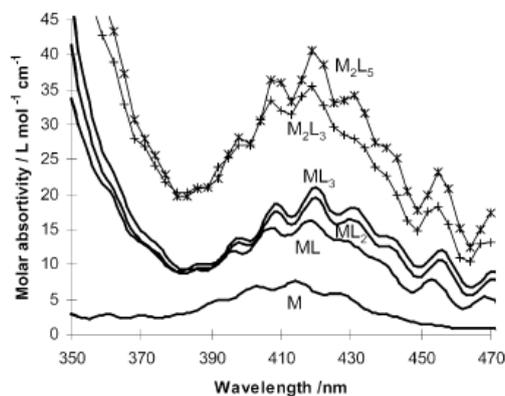


Figure 44 : Graphique montrant le spectre d'absorbance des différentes espèces d' $UO_2^{2+}$  complexés avec de l'oxalate.  $M=UO_2^{2+}$ ,  $L = C_2O_4^{2-}$  [12].

C'est donc le rouge Congo ( $\geq 35\%$ ) qui a été choisi comme indicateur coloré pour suivre le titrage par SIA. Ce composé chimique a un pKa égal à 4,1 et vire du rouge (forme basique) au bleu (forme acide) entre pH 3 et 5 [13]. De plus, la longueur d'onde de suivi absorptiométrique a été choisie à 650 nm, loin du spectre d'absorption de l'uranyle.

Le domaine d'acide nitrique pour lequel la méthode d'analyse doit être validée, ainsi que la concentration en cation  $UO_2^{2+}$ , en oxalate de sodium et en hydroxyde de sodium ont également dû être définis. Les solutions d'indicateur coloré et de  $Na_2C_2O_4$  (99 %) ont été préparées aux conditions de saturation à 25°C pour donner lieu à des solutions de concentration 5 mmol L<sup>-1</sup> et 0,27 mol L<sup>-1</sup> respectivement. L'hydroxyde de sodium (99,9 % titrinorm) a été utilisé à une concentration de 0,25 mol L<sup>-1</sup>. La solution standard de nitrate d'uranyle ( $HNO_3 = 2,77$  mol L<sup>-1</sup> et  $UO_2^{2+} = 1,08$  mol L<sup>-1</sup>) a été fournie par la CETAMA au CEA Marcoule. Les échantillons ont été préparés en diluant cette solution avec plusieurs solutions d'acide nitrique (99,9 % titrinorm) à des concentrations différentes. Ainsi, 21 échantillons ont été préparés couvrant une gamme de

concentration en acide comprise entre 0,5 mol L<sup>-1</sup> et 3 mol L<sup>-1</sup> et une concentration en UO<sub>2</sub><sup>2+</sup> comprise entre 0 et 0,54 mol L<sup>-1</sup> (Tableau 10).

Tableau 10 : Récapitulatif du panel de solutions préparées

Analyte	[UO <sub>2</sub> <sup>2+</sup> ]				
	0 mol L <sup>-1</sup>	0,135 mol L <sup>-1</sup>	0,27 mol L <sup>-1</sup>	0,405 mol L <sup>-1</sup>	0,54 mol L <sup>-1</sup>
	0,5	0,35	0,69		
[HNO <sub>3</sub> ] mol L <sup>-1</sup>	1	1,1	1,2	1	1,4
	2	2,2	1,7	1,7	1,9
	3	2,8	2,8	2,2	2,4
	4			2,9	2,8

Les solutions et critères d'analyse étant définis, le volume d'injection des réactifs de la séquence SIA a été optimisé par expérimentation jusqu'à obtention d'une relation linéaire entre l'absorbance mesurée et la concentration en acide dans l'échantillon.

### 3.1. Optimisation d'une séquence SIA pour la mesure d'acidité libre d'un échantillon d'acide nitrique contenant du cation UO<sub>2</sub><sup>2+</sup>

La séquence SIA développée dans la section précédente concernait la mesure d'acidité pour des échantillons contenant des cations ZrO<sub>2</sub><sup>2+</sup> à une concentration de 0,105 mol L<sup>-1</sup>. Cette séquence respecte la condition d'avoir un rapport [oxalate] / [cation métallique] ≥ 5 nécessaire à la bonne complexation du cation hydrolysable. Cependant, il est important de noter que la concentration en UO<sub>2</sub><sup>2+</sup> des échantillons préparés s'élève à 0,54 mol L<sup>-1</sup>, concentration cinq fois plus importante que la concentration de ZrO<sub>2</sub><sup>2+</sup> utilisée pendant l'étude de faisabilité. Pour cette raison, il a fallu modifier le volume d'injection des réactifs de la séquence SIA afin de respecter les conditions physicochimiques du titrage de l'acidité libre lorsque les ions d'uranyle seront injectés. D'autre part, par rapport au vert de bromocrésol le pKa du rouge Congo est d'une unité plus acide, sans compter qu'il est 4 fois moins soluble dans l'eau (10 mg mL<sup>-1</sup> contre 40 mg mL<sup>-1</sup>). Pour tenir compte de cela, l'optimisation de la séquence SIA a été réalisée par injection de 5 fois moins d'échantillon et 4 fois plus d'indicateur coloré.

#### - Linéarité et spécificité

Dans un premier temps, l'optimisation du titrage par SIA a été faite à partir des 5 échantillons d'acide nitrique sans UO<sub>2</sub><sup>2+</sup>. Ainsi, le volume d'injection des réactifs a été modifié progressivement jusqu'à obtention d'une relation linéaire entre l'aire sous les courbes d'absorption et la concentration des étalons d'acide. Après optimisation une droite d'étalonnage ayant un coefficient de détermination (r<sup>2</sup>) > 0,99 sur un domaine d'acidité compris entre 0,5 et 3 mol L<sup>-1</sup> a été obtenue (Tableau 11 ; Figure 45).

Tableau 11 : Séquence SIA optimisée pour la mesure d'acidité libre d'une solution d'acide nitrique contenant de l' $\text{UO}_2^{2+}$ . Temps total de l'analyse 2 min 30 secondes. Débit de mélange  $24 \mu\text{L s}^{-1}$ .

Ordre d'injection	Ligne multi-vanne	Composé chimique	Volume aspiré ( $\mu\text{L}$ )
1	Liquide vecteur	Oxalate ( $0,27 \text{ mol L}^{-1}$ ) à pH=5,6	100
2	Réactif A	NaOH ( $0,25 \text{ mol L}^{-1}$ )	30
3	Réactif B	Rouge de Congo ( $0,015 \text{ mol L}^{-1}$ )	40
4	Liquide vecteur	Oxalate ( $0,27 \text{ mol L}^{-1}$ ) à pH=5,6	175
5	Poubelle	Ejecter mélange vers la poubelle	125
6	Echantillon	$\text{HNO}_3$ ( $0,5 \text{ mol L}^{-1} - 3 \text{ mol L}^{-1}$ ) + $\text{UO}_2^{2+}$ ( $0 \text{ mol L}^{-1} - 0,54 \text{ mol L}^{-1}$ )	10
7	Liquide vecteur	Oxalate ( $0,27 \text{ mol L}^{-1}$ ) à pH=5,6	170
8	Liquide vecteur	Rinçage du système avec le liquide vecteur	350

En-dessous de  $0,5 \text{ mol L}^{-1}$  et au-delà de  $3 \text{ mol L}^{-1}$  la relation entre l'aire du pic d'absorbance et l'acidité de l'échantillon suit un comportement non-linéaire jusqu'à atteindre l'ordonnée à l'origine en 0 et de l'autre côté jusqu'à atteindre une valeur d'absorbance seuil constante. Un tel comportement s'explique par la variation d'absorbance de l'indicateur coloré avec le pH. Par exemple, à des concentrations en acide plus faibles que  $0,5 \text{ mol L}^{-1}$ , l'échantillon n'est plus capable d'acidifier suffisamment le mélange pour dépasser une valeur de pH entraînant un changement d'état d'ionisation de l'indicateur coloré et donc une transition de couleur, processus qui est non-linéaire lorsque la valeur d'acidité se rapproche à 0.

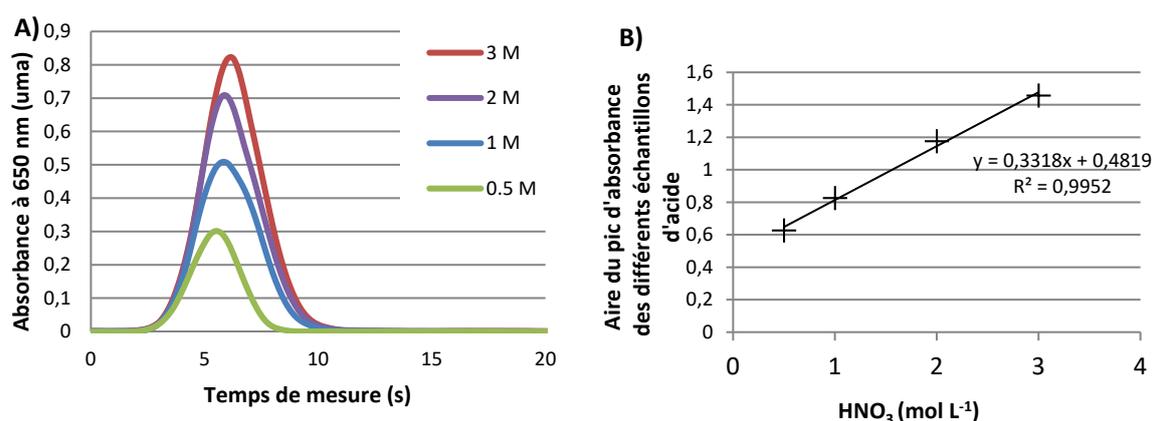


Figure 45 : Graphiques relatifs au titrage par SIA pour la mesure d'acidité d'échantillons contenant du  $\text{HNO}_3$  entre  $0,5 \text{ mol L}^{-1}$  et  $3 \text{ mol L}^{-1}$ . a) Graphique montrant la variation de l'absorbance du rouge Congo pour les différentes concentrations d'acide nitrique. La longueur d'onde de mesure est de  $650 \text{ nm} \pm 5 \text{ nm}$  ; b) Droite d'étalonnage pour le titrage par SIA d'échantillons d'acide nitrique avec du NaOH  $0,25 \text{ mol L}^{-1}$ .

Bien que la droite d'étalonnage soit linéaire par rapport à un domaine d'acide nitrique, il faut encore démontrer que la séquence SIA développée reste valide pour l'analyse d'échantillons contenant des ions d'uranyle. En effet, pour que l'erreur sur la mesure induit par l'hydrolyse des cations soit négligeable, il faut que l'oxalate complexe la quasi-totalité des ions uranyle contenus dans la solution. Afin d'évaluer la spécificité de la méthode, c'est-à-dire la capacité de la séquence SIA à minimiser les effets d'interférences provenant des ions actinide, 16 échantillons d'acide nitrique contenant de l' $UO_2^{2+}$  ont été analysés par la nouvelle méthode SIA. Afin de caractériser l'effet de l'hydrolyse des cations sur la mesure d'acidité libre, un titrage par SIA a été réalisé en remplaçant l'oxalate par de l'eau. L'effet de l'hydrolyse sur la mesure d'acidité libre se caractérise par une translation de la droite d'étalonnage par rapport à celle obtenue pour des échantillons ne contenant pas d'uranyle. Cela est dû au fait de l'augmentation des ions  $H^+$  libérés lors de l'hydrolyse (Figure 41).

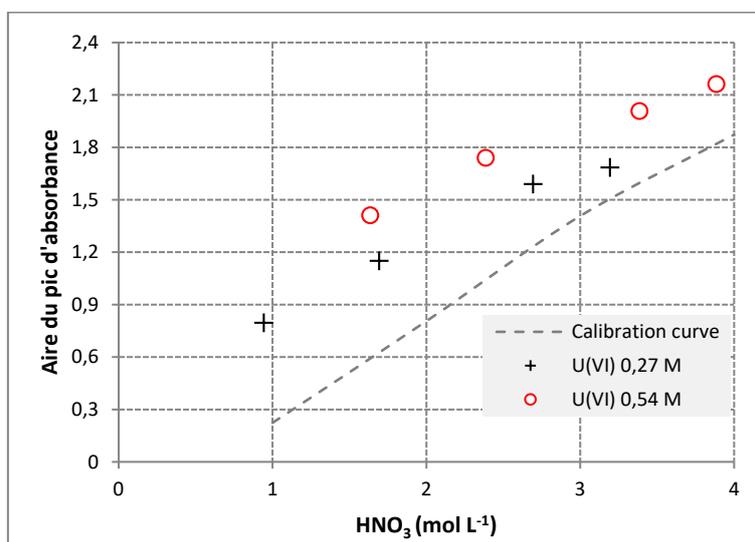


Figure 46 : Graphique montrant l'influence de l'hydrolyse sur le titrage par SIA de solutions d'acide nitrique contenant d'ions  $UO_2^{2+}$ . Pour la mesure l'oxalate a été remplacé par de l'eau afin de maximiser la réaction d'hydrolyse.

La Figure 47 présente les points expérimentaux obtenus avec la méthode SIA en présence d'oxalate. Les mesures d'acidité de ces 16 échantillons contenant de l'uranyle s'alignent tous sur la même droite d'étalonnage. Ces résultats confirment que pour la mesure d'absorbance à 650 nm, la présence des ions uranyle n'interfère pas sur la mesure d'acidité de l'échantillon pour un domaine d'acidité compris entre 0,5 mol L<sup>-1</sup> et 3 mol L<sup>-1</sup> et pour des concentrations en  $UO_2^{2+}$  d'entre 0 et 0,54 mol L<sup>-1</sup> (Figure 47).

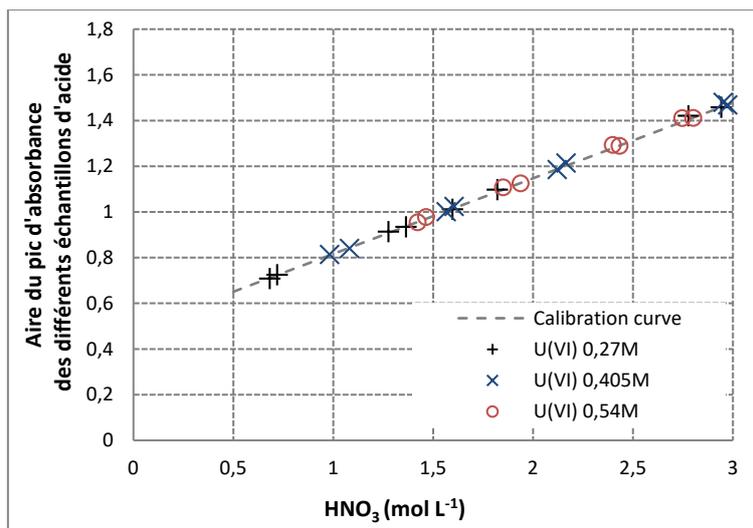


Figure 47 : Graphique montrant la validité du titrage par SIA pour la mesure d'acidité libre de solutions d'acide nitrique contenant des ions  $UO_2^{2+}$ . Comparaison entre la droite d'étalonnage d'échantillons contenant uniquement du  $HNO_3$  avec celles obtenues pour les échantillons contenant du  $HNO_3$  et aussi de l' $UO_2^{2+}$ .

Dans un deuxième temps pour confirmer la complexation de l' $UO_2^{2+}$  pendant le titrage par SIA, le degré de complexation a été estimé à partir d'un calcul de spéciation sur le mélange hétérogène passant devant le détecteur selon la procédure décrite précédemment. Pour ce faire, le profil de concentration des espèces a été recalculé pour la nouvelle séquence SIA. Cela a été fait en utilisant la même procédure expérimentale que dans la section 2.1.1 du Chapitre 2 de cette thèse. Ensuite, l'estimation sur la concentration de chacun des réactifs lorsqu'ils passent devant le détecteur a été couplée avec le logiciel de spéciation chimique CHESS. L'objectif a été de simuler en fonction du temps, le titrage par SIA de l'échantillon le plus concentré en  $HNO_3$  et en  $UO_2^{2+}$  (Figure 48). A partir des résultats obtenus par simulation, il a été confirmé que les ions oxalate complexent en moyenne 99% des cations  $UO_2^{2+}$  contenus dans la solution. De façon analogue, dans le chapitre 1 section 3 de la thèse il a été conclu qu'un rapport de concentration [oxalate]/[cations hydrolysables] supérieur à 5 est nécessaire pour complexer les cations d' $UO_2^{2+}$ , et à partir d'une analyse visuelle du profil de concentration des réactifs, il peut être observé que le rapport de concentration [oxalate]/[cations hydrolysables] est majoritairement supérieur à 7.

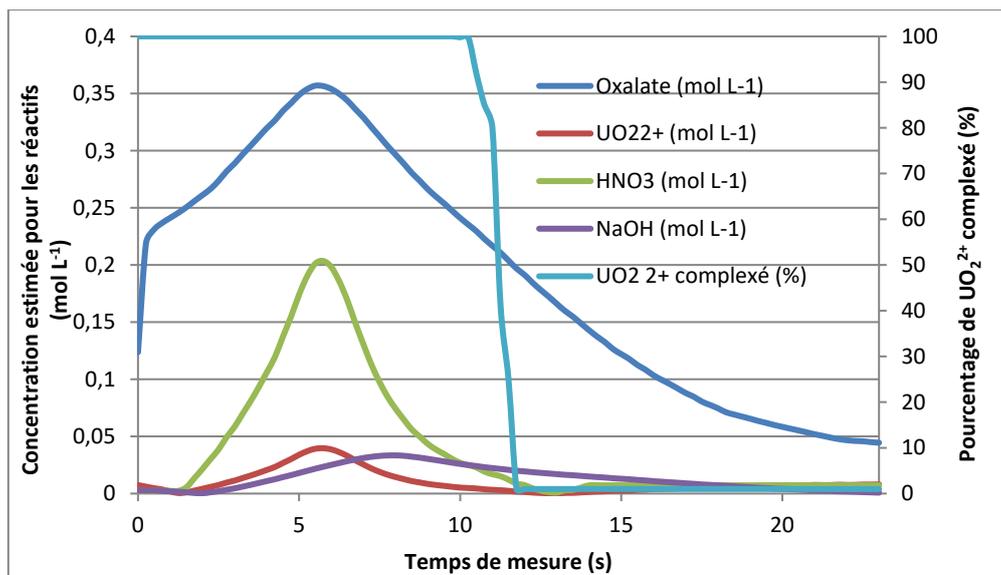


Figure 48 : Graphique montrant le profil de concentration des réactifs ayant lieu lors du titrage par SIA de l'acidité libre d'un échantillon contenant du  $\text{HNO}_3$   $2,77 \text{ mol L}^{-1}$  et du  $\text{UO}_2^{2+}$   $0,54 \text{ mol L}^{-1}$ . Sur l'axe secondaire il est montré le résultat des calculs de spéciation CHESS estimant le pourcentage de  $\text{UO}_2^{2+}$  complexé au moment de la détection, La séquence d'injection des réactifs est celle détaillée sur le tableau 11.

#### - Exactitude de la méthode

L'estimation de l'exactitude de la méthode SIA, a été déterminée par comparaison entre la valeur d'acide mesurée pour de nouveaux échantillons et la valeur réelle attendue (Tableau 10 ; page 78). La distribution de l'erreur présentée Figure 49 est aléatoire sur l'ensemble des échantillons testés. Ceci enlève l'hypothèse d'avoir une erreur systématique induit par la présence d'ions hydrolysables. En outre, l'écart-type de l'erreur a été pris en compte pour définir un seuil de décision, où il peut être dit que 95% des mesures d'acidité effectués par titrage par SIA, auront une valeur aux alentours de  $\pm 9\%$  la valeur d'acidité réelle (Figure 49).

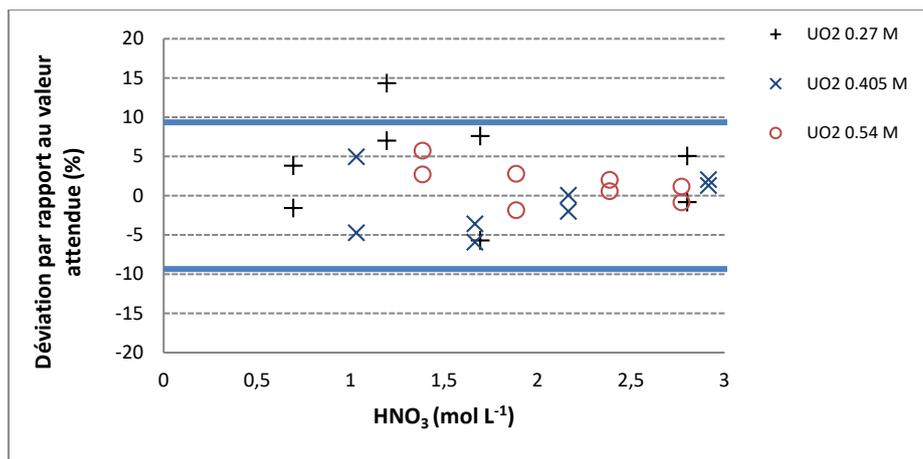


Figure 49 : Graphique montrant l'erreur en pourcentage (valeur calculée - valeur réelle) du titrage par SIA. Les lignes en bleu montrent les seuils de décision par rapport à la valeur réelle à 95 % de confiance.

Finalement, l'écart-type relatif (RSD) a été calculé afin de déterminer la répétabilité de la méthode SIA. 11 mesures consécutives sur 2 échantillons différents ont été réalisées. L'écart-type relatif estimé sur les deux échantillons est inférieur à 7,5% (Tableau 12).

Tableau 12 : Bilan des mesures de répétabilité effectuées

HNO <sub>3</sub> (mol L <sup>-1</sup> )	UO <sub>2</sub> <sup>2+</sup> (mol L <sup>-1</sup> )	Ecart-type relatif (%)
2,77 M	0,54 M	6,6
2,22 M	0,135 M	7,2

Les performances analytiques présentées pourront, sans aucun doute, être améliorées en synchronisant le déclenchement de l'acquisition des spectres avec la SIA de manière à ce que la mesure soit parfaitement synchrone (et répétable) avec l'éjection de la solution vers la cellule de mesure, ce qui n'était pas encore le cas pour ces mesures. En contrepartie, la méthode développée est désormais semi-automatique, réduit d'un facteur 500 la quantité d'échantillon et produit un volume 40 fois moindre de déchets par rapport à la méthode proposée par MAYANKUTTY.

### 3.2. Conclusions au développement d'une méthode SIA adapté à la mesure de l'acidité libre de solutions contenant U(VI)

Une nouvelle méthode analytique miniaturisée de titrage de l'acidité libre de solutions d'acide nitrique chargées en UO<sub>2</sub><sup>2+</sup> a été développée avec succès dans ce chapitre. Cette méthode est une adaptation de la méthode décrite par MAYANKUTTI et par la CETAMA (Méthode G.23) et utilise

l'oxalate de sodium comme agent complexant de l'uranyle afin d'éviter son hydrolyse durant le titrage de l'acide par une base forte. D'un point de vue expérimental l'analyse est mise en œuvre dans un système d'analyse à injection séquentielle (SIA) permettant de travailler à une échelle réduite par rapport aux méthodes de référence. A partir d'une série de simulations validés par l'expérimentation, une séquence d'injection de réactifs permettant de doser des solutions contenant de 0,5 à 3 mol L<sup>-1</sup> de HNO<sub>3</sub>, avec des concentrations de UO<sub>2</sub><sup>2+</sup> allant jusqu'à 0,54 mol L<sup>-1</sup> a été mise au point. Ce système analytique est robuste et précis avec un écart type relatif de 7,5 % dans le domaine d'analyse concerné. Il faut préciser, que ce domaine expérimental peut être modifié en adaptant les volumes d'injection ou encore la concentration des réactifs. La méthode SIA développée est à notre connaissance, la première application d'un système SIA pour la mesure de l'acidité libre. Par rapport à la méthode d'analyse mise en œuvre sur paillasse, la nouvelle méthode SIA réduit le volume d'échantillon, le temps d'analyse et le volume de déchets générés par analyse (Tableau 13), critères d'amélioration déterminant en termes de sûreté du personnel et d'impact sur l'environnement.

Enfin, l'automatisation de la séquence d'analyse diminue les sources d'erreur sur la mesure et offre la possibilité d'effectuer des analyses à haut-débit pour aboutir à un fonctionnement analytique plus rentable. Sachant que la SIA est un outil analytique bien connu dans l'industrie, le transfert de la méthode vers un laboratoire d'analyse de routine peut être accompli dans un délai de temps plus court que pour d'autres technologies expérimentales telles que la microfluidique. L'application développée représente donc un bon exemple de développements dans le domaine des sciences analytiques, pouvant être désormais utilisées comme un outil capable d'améliorer le caractère opérationnel et environnemental des procédés nucléaires.

*Tableau 13 : Tableau de comparaison des performances entre la méthode de mesure de l'acidité libre proposé par MAYANKUTTI sur paillasse et la méthode par titrage par SIA.*

	<b>Méthode SIA</b>	<b>Méthode sur paillasse</b>
V échantillon par analyse	10 µL	5 mL
V effluents rejetés par analyse	1,5 mL	60 mL
Temps d'analyse par échantillon	2 min 30 s	>20 min

## Références

1. DUPONT, O. *Recherche De Données En Chimie Analytique*. Techniques de l'ingénieur Chimie analytique : échantillonnage, instrumentation, métrologie, 2004. **p18**.
2. HASSELL, C.D.BOWMAN, E.M., *Process Analytical Chemistry for Spectroscopists*. Applied Spectroscopy, 1998. **52** : p. 18A-29A.
3. MESQUITA, R.B.R.RANGEL, A.O.S.S., *A Review on Sequential Injection Methods for Water Analysis*. Analytica Chimica Acta, 2009. **648** (1): p. 7-22.
4. WORKMAN, J.J., VELTKAMP, D., DOHERTY, S., *et al.*, *Process Analytical Chemistry*. Analytical chemistry, 1999. **71** : p. 121R-180R.
5. CLADERA, A., TOMB, C., GOMEZ, E., *et al.*, *A New Instrumental Implementation of Sequential Injection Analysis*. 1995. **302** : p. 297-308.
6. MASKULA, S., NYMAN, J.IVASKA, A., *Titration of Strong and Weak Acids by Sequential Injection Analysis Technique*. Talanta, 2000. **52** : p. 91-99.
7. LENGHOR, N., JAKMUNEE, J., VILEN, M., *et al.*, *Sequential Injection Redox or Acid-Base Titration for Determination of Ascorbic Acid or Acetic Acid*. Talanta, 2002. **58** : p. 1139-1144.
8. ZHAO, H.BAU, H.H., *Effects of Secondary Flows on Taylor-Aris Dispersion*. Analytical Chemistry, 2007. **79** : p. 7792-7798.
9. CARLO, D.d., *Inertial Microfluidics*. 2009. **9** : p. 3038-3046.
10. PAKALNS, P., *Potentiometric Titration of Free Acid in Salt Solutions after Addition of Potassium Oxalate as a Complexing Agent*. Analytica Chimica Acta, 1981. **127** : p. 263-269.
11. LAU, K.T., SHEPHERD, R., DIAMOND, D., *et al.*, *Solid State Ph Sensor Based on Light Emitting Diodes (Led) as Detector Platform*. 2006. **6** (8): p. 848-859.
12. HAVEL, J., SOTO-GUERRERO, J.LUBAL, P., *Spectrophotometric Study of Uranyl-Oxalate Complexation in Solution*. Polyhedron, 2002. **21** : p. 1411-1420.
13. SELLARAJAH, S., LEKISHVILI, T., BOWRING, C., *et al.*, *Synthesis of Analogues of Congo Red and Evaluation of Their Anti-Prion Activity*. Journal of Medicinal Chemistry, 2004. **47** : p. 5515-5534.



## CHAPITRE 3

---

**Conception et mise-en-œuvre du premier microsysteme  
d'analyse dédié au titrage volumétrique de l'acidité libre**



## 1. Introduction

Comme discuté dans le premier chapitre de la thèse, le cadre général du projet est d'utiliser les avancements technologiques de l'électronique, l'informatique et les sciences des matériaux pour faire évoluer les systèmes d'analyse des procédés. Malgré l'intérêt généralisé d'obtenir une meilleure identification, caractérisation et quantification des substances à analyser, la portée du projet reste définie avant tout par les enjeux et besoins inhérents aux analyses ciblées. C'est pourquoi, les améliorations proposées dans cette thèse sont en accord avec le cahier des charges défini par Areva La Hague, concernant les besoins techniques pour améliorer le suivi et contrôle du procédé de retraitement du combustible nucléaire. Ces consignes ont été prises en compte pour l'amélioration de la mesure de l'acidité libre de solutions d'acide nitrique contenant des cations d'actinides hydrolysables. En effet, il est attendu que le délai de l'analyse entre le prélèvement et le rendu de résultats soit inférieur à 1 poste ( $< 8\text{h}$ ). Le système d'analyse doit également résister aux agressions liées à l'environnement (hostile) nucléaire et aux fortes acidités ( $< 5\text{ mol/L}$ ). L'incertitude sur la mesure d'acidité libre ne doit pas dépasser 10% de la valeur vraie. Enfin, les analyses chimiques et les instruments associés doivent être miniaturisés et automatisés.

Nous avons vu précédemment un « pseudo-dosage » SIA mettant en œuvre des volumes à l'échelle milli, permettant de mesurer l'acidité libre de solutions contenant de  $0,5$  à  $3\text{ mol L}^{-1}$  de  $\text{HNO}_3$ , avec des concentrations de  $\text{UO}_2^{2+}$  allant jusqu'à  $0,54\text{ mol L}^{-1}$ . La méthodologie utilisée est une adaptation de la méthode décrite par MAYANKUTTI et par la CETAMA (Méthode G.23), qui utilise l'oxalate de sodium comme agent complexant de l'uranyle afin d'éviter son hydrolyse. De plus, la justesse calculée sur la mesure est de  $\pm 9\%$  la valeur d'acidité réelle, avec un RSD de répétabilité estimé à moins de  $7,5\%$ . Par rapport à la méthode d'analyse mise en œuvre sur paillasse, la méthode SIA proposée réduit le volume d'échantillon, le temps d'analyse et le volume de déchets générés. L'automatisation de la séquence d'analyse diminue les sources d'erreur sur la mesure et offre la possibilité d'effectuer des analyses à haut-débit pour aboutir à un fonctionnement analytique plus rentable. Globalement, la solution développée en SIA est conforme au cahier de charges du projet dans le domaine d'analyse mentionné précédemment.

Bien que le titrage par SIA soit très avantageux, l'inconvénient majeur réside dans la difficulté de développer les méthodes du fait de la complexité du mélange réactionnel. D'une part, les mélanges sont si complexes que les méthodes associées ne sont applicables que pour un système chimique donné dans un domaine d'analyse en particulier. D'autre part, l'incapacité de simuler la façon dont les réactifs sont mélangés, lorsque le volume ou l'ordre d'injection est modifié, rallonge le temps de développement analytique. De façon à simplifier le travail de compréhension des phénomènes à l'intérieur du canal de mélange, MAGNALDO et DAVIN ont appliqué le modèle de dispersion développé par TAYLOR en 1953 pour aboutir à un brevet de principe, qui décrit comment la formation de gradients de concentration linéaires peut être utilisée pour faire un

titrage volumétrique. Comme expliqué dans la section 2.2.2.4 du Chapitre 1 de cette thèse, le brevet déposé en 2002 par MAGNALDO et DAVIN est basé sur la génération rapide ( $t < 1s$ ) de gradients de concentration linéaires le long du capillaire de réaction, ce qui permet d'effectuer des dosages volumétriques en semi-continu. Il est aussi proposé de doper les deux réactifs avec un indicateur coloré afin de permettre un suivi de la réaction acide-base à l'aide d'un système de détection adapté. De façon générale, la stratégie de titrage par génération d'un gradient linéaire en régime ballistique en capillaire décrite dans le brevet, et que désormais nous appellerons titrage ballist-mix, peut être interprétée comme un processus en trois étapes (Figure 50) :

1. Une première étape dédiée à la formation d'un gradient de concentration linéaire, où l'échantillon d'acide est dispersé linéairement pendant un temps ( $t_1 < 1s$ ) sur la longueur d'un micro canal droit contenant initialement une base.
2. Une fois le gradient de concentration formé, l'injection d'acide sera arrêtée pour donner lieu, dans un deuxième temps, à l'homogénéisation du mélange acide-base par diffusion axiale simple ( $t_2 < 60s$ ).
3. Enfin, le mélange acide-base est à nouveau mis en mouvement pour le faire passer devant le point de détection. Cette fois-ci, il faut que le débit du mélange soit suffisamment faible pour ne pas déformer le profil de concentration linéaire. Dans ce cas, il sera possible de remonter à l'acidité de l'échantillon à partir de la position du point d'équivalence sur la longueur du capillaire. Cette position pourra être estimée en connaissant le débit du mélange et le temps nécessaire pour que la forme acide de l'indicateur passe devant le détecteur.

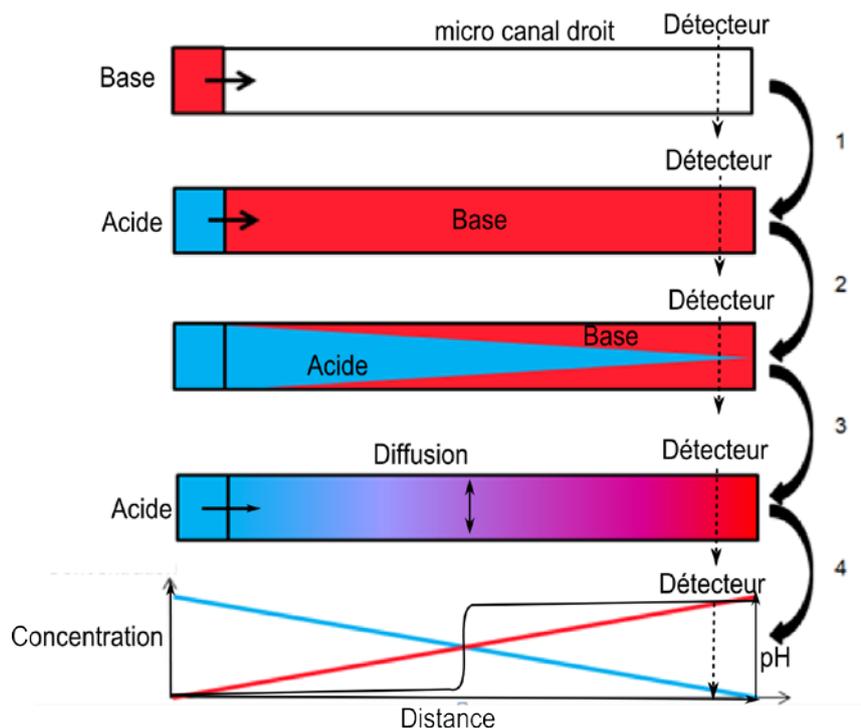


Figure 50 : Schéma de principe de la méthode de titrage par génération d'un gradient linéaire en régime balistique en capillaire proposée par MAGNALDO et DAVIN [1]. Le schéma représente le titrage d'un acide fort ( $1 \text{ mol L}^{-1}$ ) avec une base forte ( $1 \text{ mol L}^{-1}$ ). 1-2) Formation du gradient de concentration linéaire ; 3) Homogénéisation radiale des réactifs ; 4) Mesure de l'acidité d'un échantillon en passant le mélange devant le faisceau d'un microscope confocal.

L'avantage le plus important d'un titrage par génération d'un gradient linéaire en capillaire ou ballist-mix est illustré dans la figure 50. En effet, la formation de gradients de concentration linéaires permet d'estimer facilement la concentration de chacun des réactifs le long du canal de mélange et, par conséquent, d'estimer aussi la position dans le capillaire où la concentration d'acide et de base seront équivalentes, autrement dit, la position du point de titrage acido-basique. La Figure 51 présente la position du point d'équivalence théorique obtenue par simulation numérique pour le titrage ballist-mix de solutions d'acide nitrique (à plusieurs concentrations) par une base forte NaOH ( $1 \text{ mol L}^{-1}$ ) (Figure 51).

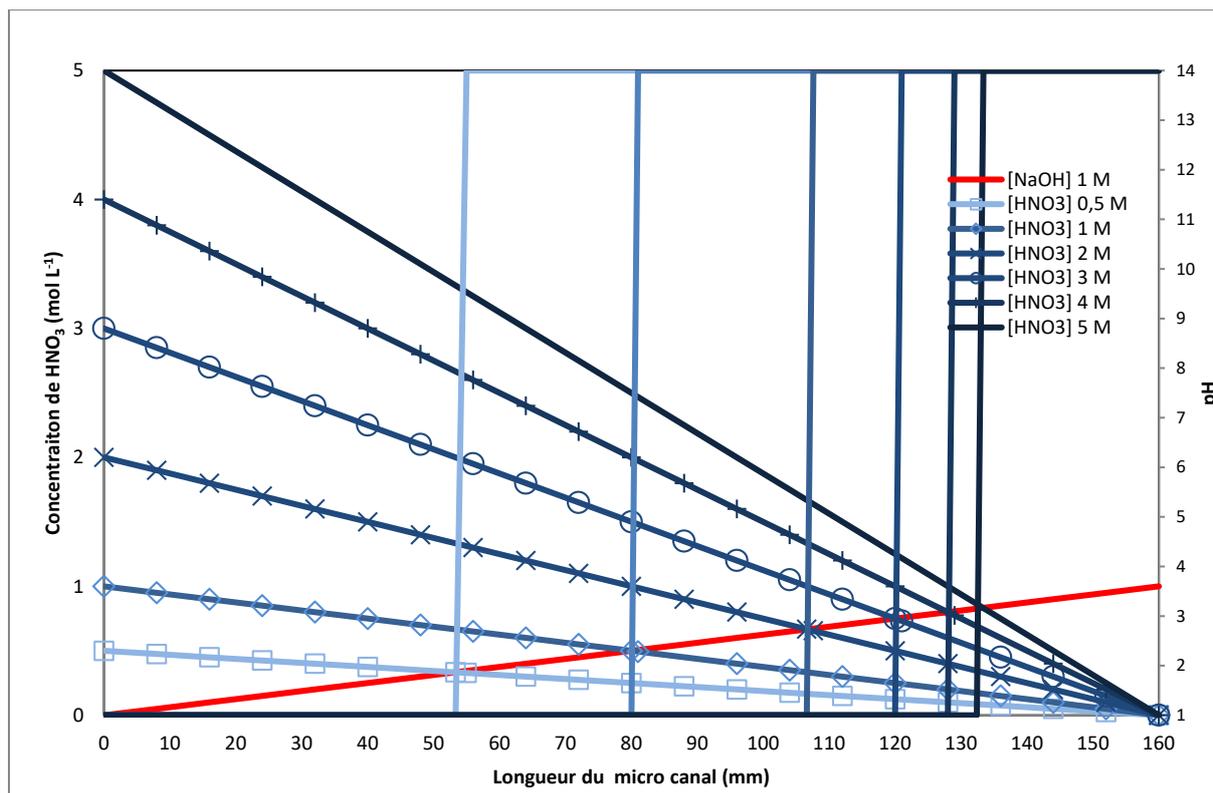


Figure 51 : Représentation graphique de la méthode du titrage par dispersion proposée par MAGNALDO et DAVIN [1]. Le graphique montre la relation existant entre la longueur du micro-canal et les différentes concentrations d'acide nitrique (0,5 - 5 mol L<sup>-1</sup>) dosées avec 1 mol L<sup>-1</sup> de NaOH. La longueur du micro-canal est de 160 mm avec un diamètre interne de 500  $\mu$ m de géométrie ronde. Le graphique a été fait à partir d'un bilan de matière théorique pour la dispersion d'une espèce acide sur une base. Tous les détails relatifs à la construction de ce graphique seront détaillés dans la section 3 de ce chapitre.

Ce graphique permet d'illustrer l'allure du mélange dans un capillaire de 500  $\mu$ m de diamètre interne. Le point d'équivalence se déplace le long du capillaire en fonction de la concentration de la solution acide. Ces résultats indiquent également que la plus grande résolution ( $d(x)/[acide]$  ; avec  $d(x)$  l'écart de position du point d'équivalence le long du capillaire en fonction de la différence de concentration en acide dans l'échantillon) de la méthode est observée pour des concentrations en acide proches de la valeur de concentration de la base ( $[HNO_3] < 2$ ), ce qui peut permettre de distinguer sans difficulté le titrage d'un échantillon de 1 mol L<sup>-1</sup> d'acide d'un autre ayant une concentration de 1,25 mol L<sup>-1</sup>. La même opération ne paraît pas si évidente pour le titrage d'acides à une concentration plus élevée ( $[HNO_3] > 3$ ), où la distance entre les points d'équivalence des différentes concentrations d'acide se voit raccourcie. Malgré tout, rien n'empêche l'existence d'une concentration de base optimale, permettant de maximiser la résolution du titrage par dispersion dans un domaine d'analyse spécifique.

Cette méthode de génération de gradient linéaire pour réaliser un titrage ballist-mix présente de nombreux avantages. D'une part, son fonctionnement en semi-continu sans liquide vecteur pour la mise en mouvement des réactifs, apporte une solution technique aux problèmes de

surconsommation d'échantillon. De plus, la formation de gradients de concentration linéaires facilite le travail de compréhension des mélanges entre réactifs, ce qui rendra plus simple l'intégration de calculs de spéciation vis-à-vis de la méthode de développement analytique.

Ces avantages restent théoriques car jusqu'à présent seul le concept a été démontré, aucun système d'analyse et aucune technique analytique n'existent pour effectuer des titrages ballist-mix à l'échelle micrométrique. En vue de cela, l'objectif principal abordé dans ce chapitre est le développement d'un système d'analyse permettant de faire le titrage ballist-mix pour la mesure de l'acidité libre. Par rapport au titrage par SIA présenté dans le chapitre 2 de la thèse, dont la mise en œuvre nécessite un système occupant près de 25 L de volume et un système de détection, le système d'analyse décrit dans ce chapitre utilise une diversité d'avancées technologies en termes de fabrication, de détection, et de mécanique de fluides qui permettront dans un futur proche, l'intégration de tous les éléments nécessaires à l'analyse dans un seul microsystème occupant moins de 25 mL de volume et un système de détection, ce qui veut dire une réduction d'un facteur 1000 de la taille du système d'analyse. Pour cette raison, le système de titrage ballist-mix développé dans ce chapitre a été référencé comme un système à l'échelle micrométrique.

L'intérêt de réduire à l'échelle micrométrique les diverses techniques analytiques est de plus en plus marqué depuis la fin des années 90. Ces dispositifs miniaturisés, nommés microsystèmes d'analyse totale ( $\mu$ TAS) [2], intègrent la totalité des étapes nécessaires pour analyser un échantillon, dès le traitement de l'échantillon jusqu'à la séparation et l'analyse des molécules d'intérêt. Fabriqués en verre ou matériaux polymère, les microsystèmes ont une taille de quelques millimètres et permettent la manipulation de volumes de fluides allant des picolitres à quelques microlitres (Figure 52). Sur le même principe, un Lab-On-Chip (LOC) ou laboratoire-sur-puce, est l'équivalent d'un morceau de  $\mu$ TAS qui intègre uniquement une ou plusieurs étapes du processus d'analyse d'un échantillon, normalement limité à la séparation et/ou l'analyse des molécules d'intérêt.

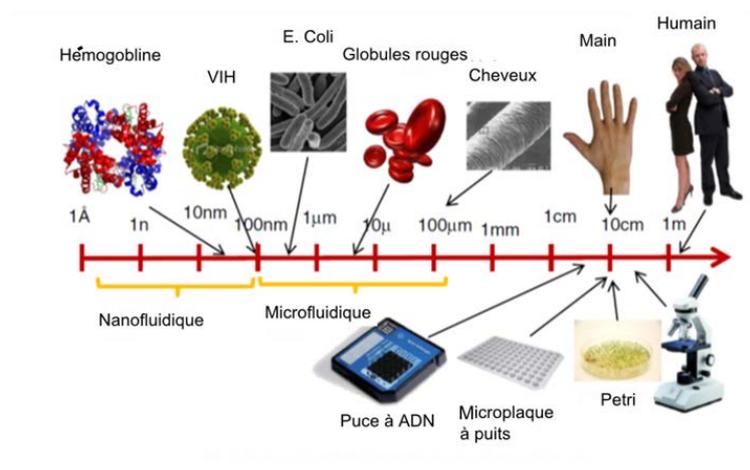


Figure 52 : Lab-on-chip comme des outils à l'échelle cellulaire [3]

Les LOC ont trouvé leur place dans les différentes disciplines de la chimie (Tableau 14), où le temps et le coût réduit des analyses de laboratoire ont permis une restructuration des procédés industriels vers des systèmes plus compétitifs, écologiques et sécurisés.

Tableau 13 : Segmentation du marché des lab-on-chip selon les applications [3]

Segment du marché	Exemples d'application des LOC	Avantages des LOC pour toutes les exemples d'application
Diagnostic (médecine)	Lieu de diagnostic / auto surveillance	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Portabilité</li> <li>• Analyses à haut débit</li> <li>• Instrumentation à faible coût</li> <li>• Dispositifs jetables</li> <li>• Analyses multi variables</li> <li>• Faible volume d'échantillon nécessaire</li> <li>• Justesse et fidélité</li> <li>• Analyses automatisables et programmables</li> </ul>
Médicaments	Laboratoire centralisé d'analyses sanguines	
	Criblage à haut débit	
Biotechnologie	Caractérisation de molécules	
	Suivi des procédés	
Ecologie	Développement de procédés	
	Agriculture/environnement/eau	
	Sécurité intérieure	

Le succès des LOC dans d'autres filières de l'industrie chimique a permis d'envisager l'introduction de ces dispositifs miniaturisés dans l'industrie du nucléaire. En effet, le développement d'un lab-on-chip adapté à la mesure d'acidité libre pourrait dans un futur proche, apporter les avantages suivants :

- Quelques microlitres de réactif suffisent pour l'analyse, cela représente une réduction dans les volumes de déchets, de réactifs et d'échantillons à analyser considérable.
- Le temps d'analyse total par échantillon est réduit.
- Le faible volume d'échantillon nécessaire entraine une diminution des risques de contamination radiologique et des doses engagées.
- La petite taille des microsystèmes favorise leur nucléarisation.
- Les microsystèmes peuvent être fabriqués en masse ce qui entraine une réduction du coût de fabrication.
- L'intégration d'une fonction optique et d'une fonction de prélèvement de l'échantillon pourrait rendre possible l'analyse industrielle au plus près de la ligne.

Au cours des 15 dernières années plus de 50 000 articles ont été publiés à propos de la microfluidique [4] et le chiffre continue d'augmenter. De plus, 10 000 brevets ont été déposés aux Etats-Unis avec le terme « microfluidic » [5] ce qui montre l'intérêt porté au développement de LOC. Malgré les avancées technologiques dans ce domaine, développer un dispositif analytique miniaturisé reste toujours un défi lorsqu'il s'agit d'intégrer « plusieurs domaines » tels que la chimie, la physique, la biologie, la mécanique, la mécanique des fluides, l'optique,

l'automatisation et/ou les sciences des matériaux sur un seul élément. Bien que cela semble compliqué, le défi en question a été relevé pendant la thèse.

Dans ce chapitre seront donc détaillés les travaux menés en vue du développement d'un LOC, qui utilise le principe du titrage ballist-mix pour la mesure d'acidité. Pour ce faire, dans un premier temps les critères de base permettant de choisir et d'assembler les moyens mécaniques et de détection nécessaires pour faire une étude de faisabilité sont expliqués. Cette étape a été importante pour déterminer s'il est possible ou non de développer un titrage ballist-mix à l'échelle micro. Dans un deuxième temps sont décrits les modifications apportées au système d'analyse utilisé pour l'étude de faisabilité. En effet, celui-ci a été muni de nouveaux éléments mécaniques faits sur mesure, afin d'améliorer son fonctionnement et de permettre le développement d'une première méthode analytique pour le titrage ballist-mix d'un échantillon d'acide nitrique. Enfin, dans un troisième temps, une étude complémentaire afin de trouver et valider une solution permettant d'adapter ce type de titrages pour la mesure de l'acidité libre par ajout d'oxalates a été réalisée. Il s'agit d'une étape non triviale puisque sa mise en œuvre va au-delà du contact entre un acide et une base, car son fonctionnement exige en plus l'injection d'un indicateur coloré et de l'oxalate en tant qu'agent complexant.

## 2. Etude de faisabilité du titrage ballist-mix à l'échelle micro métrique

Durant ces dernières années, le développement technologique des LOC a été fortement guidé par les besoins des sciences de la vie, notamment de la biochimie, de la biotechnologie, de la biomédecine et de la pharmaceutique avec quelques apports de l'analyse industrielle. Les avancées issues des disciplines mentionnées précédemment ont permis une acquisition de connaissances telle, qu'une diversité de puces génériques en microfluidique est déjà accessible dans le commerce. Néanmoins, la quantité croissante de puces avec des configurations préétablies ne diminue pas substantiellement la charge de travail nécessaire pour le développement d'un LOC. En effet, il est nécessaire de prendre en compte 4 paramètres fondamentaux pour choisir la puce microfluidique de base ainsi que le système permettant sa mise en œuvre :

- **La micro technologie de fabrication** : la croissante utilisation de la microfluidique pour des applications à des volumes très réduits ( $< 100 \mu\text{L}$ ), a été possible grâce aux améliorations des techniques de micro usinage issues de l'industrie microélectronique, qui permettent d'obtenir des arrangements complexes entre les micro-canaux et donc d'imaginer des solutions plus innovantes. Cependant, chacune des techniques ayant ses propres avantages et inconvénients, il faudra tout d'abord s'assurer qu'il existe une technique de micro usinage permettant la fabrication de la puce microfluidique de base selon la géométrie et les dimensions des micro canaux souhaitées. Aujourd'hui, les outils microfluidiques les plus répandues utilisent le PDMS/PMMA, et des matériaux

thermoplastiques comme matière première [6]. Néanmoins, ces matériaux étant sensibles à la radiolyse [7], ils ne sont pas considérés comme aptes pour leur utilisation dans notre recherche. Fort heureusement, certaines techniques permettent la fabrication de puces microfluidiques en verre, qui est un matériau déjà utilisé en présence de radionucléides et/ou à de solutions dont la concentration en acide nitrique est très forte. En contrepartie, les procédés de fabrication demandent l'utilisation de technologies coûteuses avec des temps de fabrication pouvant aller de quelques heures jusqu'à plusieurs jours [8].

- La plateforme microfluidique :** ce terme fait référence à un assemblage d'opérations unitaires (i.e. distillation [9], transfert de chaleur [10], mélanges diphasiques [11]) nécessaires pour la mise en œuvre d'un LOC. De plus, chacune des opérations à intégrer dans un LOC doit être manufacturable à partir de la même technique de micro usinage, et doit avoir recours au même phénomène physique pour entrainer le liquide (forces de capillarité, pression, champ électrique, ondes acoustiques, parmi d'autres) afin d'éviter de possibles incompatibilités avec la mécanique des fluides et la physicochimie des réactions qui auront lieu dans le LOC. Le choix du phénomène physique à utiliser dans la plateforme microfluidique n'est dépendant principalement que des propriétés physico-chimiques du fluide à transporter et définit le profil de vitesse généré selon la force motrice de propulsion. Pour un dispositif actionné par un champ électrique le profil de l'écoulement sera plan, tandis que pour un dispositif actionné par pression le profil sera parabolique [12] (Figure 53). En effet, ce dernier profil est celui qui correspond au principe de dispersion détaillé par TAYLOR (1953) et qui sera utilisé pour le développement du titrage par dispersion.

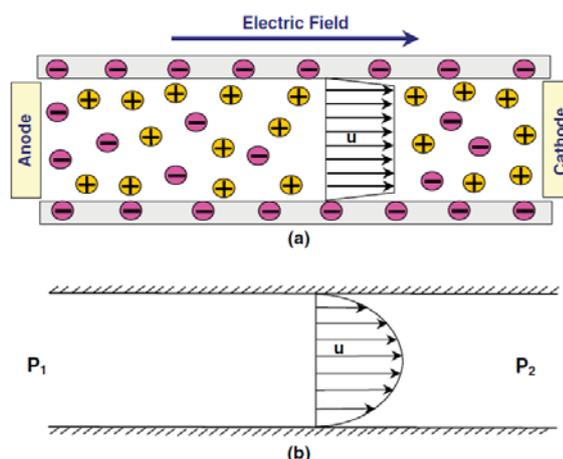


Figure 53 : Profil d'écoulement pour 2 plateformes microfluidiques. a) Actionné par un champ électrique (flux électroosmotique) ; b) Actionné par pression (flux hydrodynamique)

- La microfluidique :** La microfluidique est la science (et la technologie) consistant à manipuler et caractériser l'écoulement d'un fluide à travers un canal dont où au moins

une des dimensions géométriques est inférieure au millimètre (e.g. profondeur, largeur, diamètre) [13]. L'intérêt de fonder une discipline comme la microfluidique est de caractériser des systèmes à dimensions très réduites (100 nm-100  $\mu$ m). A cette échelle les phénomènes physiques macroscopiques, comme les forces de gravité, subissent une diminution linéaire de leurs effets et les phénomènes microscopiques, comme la capillarité, deviennent prépondérants [14]. Afin d'appréhender plus facilement les caractéristiques d'un système microfluidique, plusieurs grandeurs sans dimension ont été introduites : Le nombre de Reynolds  $Re$ , proposé en 1883, qui caractérise le rapport entre les forces d'inertie et les forces de viscosité. Ensuite, le nombre de Péclet  $Pe$ , qui lie la convection et la diffusion et enfin le nombre de Knudsen  $Kn$ , qui est un rapport du libre parcours moyen d'une molécule sur une longueur caractéristique et qui permet de classer les milieux continus. En règle générale, les systèmes microfluidiques sont caractérisés par un petit nombre de Reynolds ( $Re < 1000$ ) et un grand nombre de Péclet ( $Pe > 100$ ), car les forces de viscosité et le transport convectif du fluide sont prépondérants [15].

- **Le système de détection** : un lab-on-chip doit permettre d'analyser qualitativement ou quantitativement le fluide qu'il contient. C'est pourquoi le choix d'une technique de détection est un des enjeux majeurs du développement et de l'application des systèmes microfluidiques. Les différentes techniques de détection disponibles pour les LOC peuvent être regroupées en 5 groupes en fonction de leur principe physique : détection par spectroscopie moléculaire, analyse par imagerie optique, détection électrochimique, analyse par spectrométrie de masse et RMN [16]. Pendant les travaux de thèse, il sera adopté une détection optique par fluorescence.

## 2.1. Description et mise en œuvre d'un prototype expérimental pour le premier titrage ballist-mix

### - *Description du montage expérimental*

L'ensemble des 4 paramètres mentionnés précédemment a été pris en considération pour concevoir un système microfluidique apte pour l'analyse industrielle en milieu hostile. De cette manière, la stratégie proposée pour la formation de mélanges linéaires a été mise en place sur un montage expérimental constitué de 5 blocs (Figure 54) :

- **Un régulateur de pression Elveflow OB1®** : alimenté par une source de  $N_2$  à 8 bars, ce dispositif automatisé fournit au système microfluidique une pression allant de 5 mbar jusqu'à 8 bar avec une précision de  $\pm 5$  mbar. Le temps de réponse de l'instrument est de 500 ms.

- **Un réservoir d'échantillon** : avec une capacité de 100 mL le réservoir en Pyrex® porte un couvercle pour garder l'étanchéité du système. Deux orifices assurent la mise sous pression et la sortie du liquide vers le multiplexeur.
- **Un multiplexeur à 4 voies Elveflow MUX Flow switch matrix®** : permet de contrôler automatiquement le passage du liquide vers la puce microfluidique. Le temps de réponse de l'instrument est de 300 ms.
- **Un canal microfluidique** : capillaire de silice de 35 cm de longueur comportant un micro-canal hydrophile et 500  $\mu\text{m}$  de diamètre interne.
- **Un microscope confocal ZEISS LSM 510** : système de mesure optique utilisé pour le suivi du point de neutralisation par fluorescence. Cette technique de nature photométrique, consiste en la combinaison d'une désexcitation non-radiative et d'une désexcitation radiative d'une molécule fluorescente qui avait été amenée à un état excité. Dans notre cas, l'excitation des molécules est effectuée par une source laser d'argon à 488 nm et 25 mW.

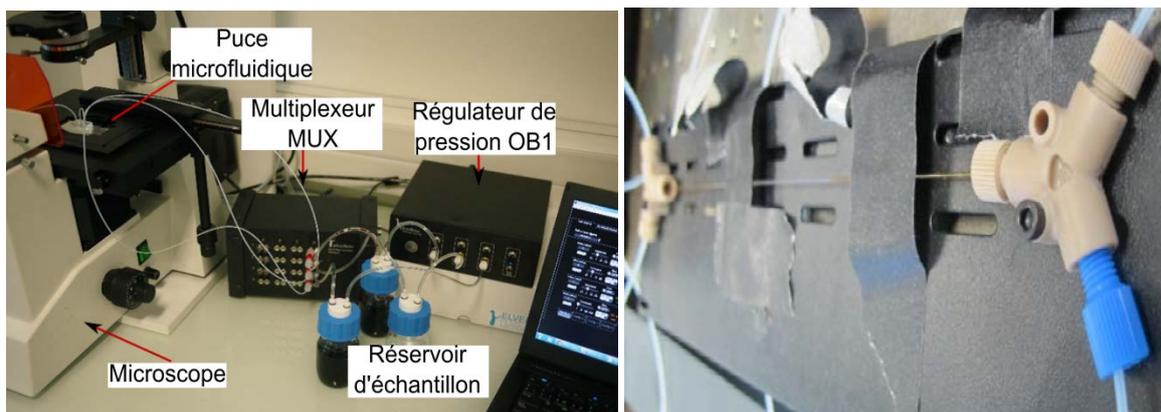


Figure 54 : Image du système microfluidique utilisé pour l'étude de faisabilité en vue du premier titrage par dispersion à la micro échelle. a) Ensemble d'éléments du système microfluidique. b) Micro canal capillaire en verre et hydrophile de 35 cm de longueur et 500  $\mu\text{m}$  de diamètre interne couplé à deux jonctions en Y fabriquées en PEEK, volume interne 70  $\mu\text{L}$ .

Dans le montage décrit ci-dessus de nombreux paramètres opératoires restent encore à définir. D'une part, il faut trouver la pression à appliquer au liquide afin de former un gradient de concentration linéaire, ainsi que la pression à appliquer afin de faire passer le gradient formé devant le point de détection sans le déformer. D'autre part, le logiciel qui pilote les différents éléments du système doit être programmé, afin d'obtenir un contrôle automatisé pour les étapes de rinçage, de formation du gradient linéaire, et de détection. Dans cette section de la thèse, la façon dont le système microfluidique peut être utilisé pour la formation d'un gradient de concentration linéaire et en conséquence, pour le premier titrage par dispersion sera détaillée.

- *Choix de l'indicateur :*

Le choix du système de détection en capillaire s'est porté sur la fluorescence autant pour suivre la formation du gradient que pour le titrage acido-basique par dispersion. La fluorescéine de sodium (NaF) a été choisie puisqu'en solution aqueuse ses différentes formes chimiques (cationique,  $pK_a = 2,08$  ; anionique,  $pK_a = 4,31$  ; dianionique,  $pK_a = 6,43$ ) ont des propriétés d'absorbance et de fluorescence très différentes. Ses propriétés de fluorescences sont donc fortement dépendantes du pH. De façon très avantageuse, la plus forte fluorescence de la molécule est donnée à un pH basique, tandis qu'à pH acide la fluorescence est presque nulle [17].

- *Détermination des paramètres opératoires permettant de générer un gradient de pression linéaire :*

L'étude de faisabilité a été réalisée en utilisant une solution basique à NaOH  $0,25 \text{ mol L}^{-1}$  dopée avec NaF  $500 \text{ } \mu\text{mol L}^{-1}$ . La première étape de cette étude a consisté définir une stratégie qui permette la formation du gradient de concentration linéaire le long du capillaire.

Le modèle théorique de dispersion de Taylor-Aris appliqué à un canal de section cylindrique prévoit que pour former un gradient de concentration linéaire il faut trouver des conditions expérimentales permettant d'injecter l'échantillon acide dans un canal pré-rempli de solution d'hydroxyde de sodium dopé à la fluorescéine dans un temps plus court que  $t < h^2 / 3,8^2 D_{th}$ . ( $h$  étant le rayon du capillaire et  $D_{th}$  le coefficient de diffusion de la fluorescéine), dans le cas de notre montage expérimental ce temps est égal à 10 s ( $h = 250 \text{ } \mu\text{m}$  ;  $D_{th} = 0,42 \times 10^{-5} \text{ cm}^2/\text{s}$ ). Dans ces conditions-là, la diffusion n'a pas eu le temps d'agir et les espèces sont uniquement transportées par advection par le champ de vitesse en direction de l'écoulement. Le résultat est la formation d'un gradient de concentration linéaire le long du capillaire. Ensuite, il a été défini une séquence d'opération en accord avec les conditions de formation du gradient tenant aussi compte des spécificités (contraintes) du montage expérimental utilisé. De cette manière, la séquence proposée permet le remplissage du capillaire avec un réactif B puis l'envoi d'un écoulement instantané de réactif A pour aboutir à la formation d'un gradient de concentration linéaire qui s'arrête juste avant le point de détection, le gradient s'étale donc sur 30 cm. La séquence prévoit aussi une pression d'éjection du mélange vers le détecteur qui ne modifie pas la linéarité du gradient déjà formé. Ceci est obtenu en poussant le mélange le plus lentement possible. Ceci est réalisé avec une pression de 5 mbar ( $u_x = 2 \text{ mm/s}$ ), pression la plus basse qui peut être gérée par le contrôleur de pression. Enfin, étant donné que les jonctions Y utilisées ne sont pas équipées de système antiretour de fluide, le réactif A peut sortir du côté de l'entrée du réactif B et vice-versa, donc entraîner une contamination croisée des réactifs. Afin de minimiser cet effet, un système de contrepressions a été mis en place pour assurer que les deux réactifs ne sortent que par les sorties S1 et S2 (Tableau 15) (Figure 55).

Tableau 14 : Séquence microfluidique optimisée pour la formation d'un gradient de concentration linéaire dans un capillaire de 500  $\mu\text{m}$  de diamètre, 35 cm de longueur et comportant deux jonctions Y. Temps total d'analyse = 6 min.

No. étape	Description de l'étape	Pression réactif A $P_{RA}$ (mbar)	Pression réactif B $P_{RB}$ (mbar)	Pression sortie 1 $P_{S1}$ (mbar)	Pression sortie 2 $P_{S2}$ (mbar)	Durée de l'étape (s)
1	Remplissage du capillaire avec le Réactif B ; $\text{H}_2\text{O}$	250	1000	-300 (vide)	-100 (vide)	20
2	Ajout du Réactif A ; NaOH 0,25 mol $\text{L}^{-1}$ dopé avec NaF 500 mol $\text{L}^{-1}$ pour former le gradient	1000	250	-100 (vide)	-300 (vide)	0,75
3	Homogénéisation du mélange dans l'axe	0	0	0	0	180
4	Ejection du mélange vers le détecteur	5	0	0	0	150

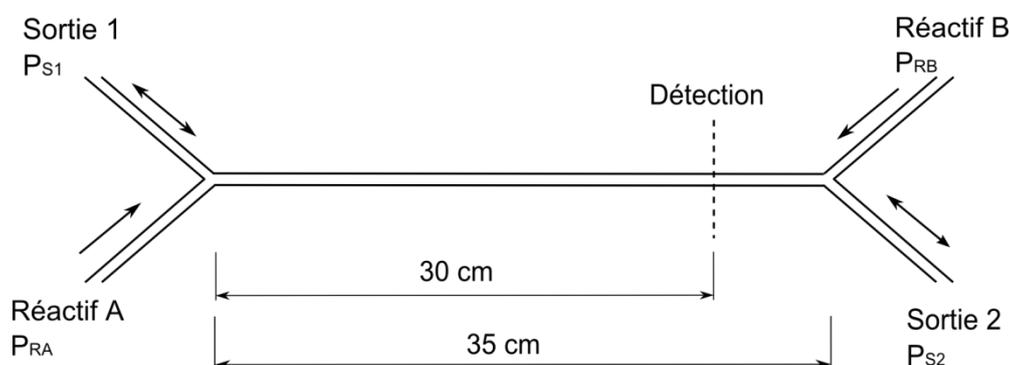


Figure 55 : Schéma du montage expérimental utilisé pour l'étude de faisabilité en vue du premier titrage par dispersion à l'échelle micro.  $P_{RA}$ ,  $P_{S1}$ ,  $P_{RB}$ ,  $P_{S2}$  sont les pressions appliquées pour la mise en mouvement de chaque réactif.

A partir des premières expériences certaines limites d'utilisation ont été définies pour s'assurer un fonctionnement robuste et reproductible. En effet, les conditions de temps de réponse et de stabilité des pressions sont critiques. Le système OB1 travaille de façon précise à pression positive  $P < +7000$  mbar et sous vide  $P > -850$  mbar avec un temps de stabilisation de 2 secondes. Le même système permet aussi le contrôle précis de pressions aussi basses que  $\pm 5$  mbar mais pas au-delà, ce qui est en accord avec les spécifications du fournisseur. En ce qui concerne le multiplexeur MUX, le temps d'ouverture et fermeture des vannes est d'environ 0,5 secondes. Cette information est importante pour optimiser la pression et le temps de formation du gradient de concentration linéaire (étape 2 ; Tableau 15).

Comme mentionné précédemment, l'objectif premier est de générer une vitesse d'écoulement pour le réactif A  $f(P_{RA})$  permettant de former un gradient de concentration linéaire de 30 cm de longueur dans un temps inférieur à 10 s. Pour ce faire, différentes combinaisons de pressions et de temps d'écoulement du réactif A ont été envisagées. L'objectif a été pour chaque pression, de

trouver le temps d'écoulement nécessaire pour que le gradient de fluorescéine arrive jusqu'au point de détection. Cela a été nécessaire pour pouvoir normaliser les différentes expériences par rapport à la position du gradient dans le capillaire. Les figures 56 et 57 présentent les signaux de fluorescence mesurés le long du capillaire en injectant un échantillon de fluorescéine dans un capillaire rempli d'eau en fonction des conditions (pression, temps) d'établissement du gradient. En effet, ce qui est observé dans les graphiques est l'influence de la vitesse d'écoulement, et donc de la pression  $P_{RA}$ , sur la linéarité du gradient obtenu. Par exemple, lorsqu'une pression  $P_{RA}$  de 1000 mbar est appliquée, un gradient de 30 cm de longueur est formé en 0,75 secondes. Le gradient résultant, est composé d'une première partie non linéaire de 100 mm de longueur, et ensuite une deuxième partie linéaire de 200 mm de longueur.

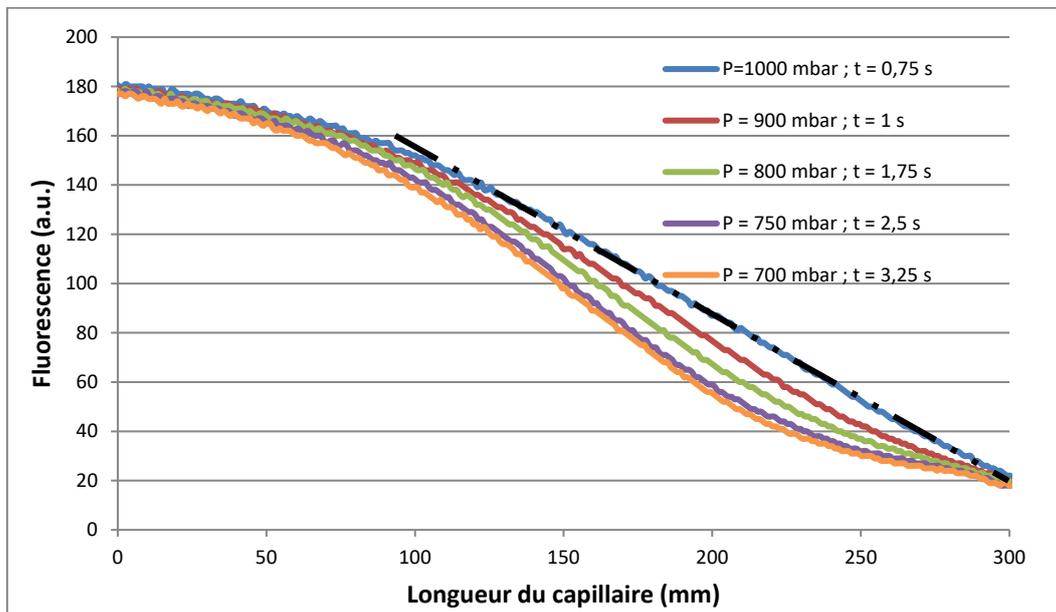


Figure 56 : Graphique permettant de visualiser l'influence de la pression et du temps sur la linéarité du gradient de concentration formé. Le gradient n'est linéaire que si l'échantillon est dispersé dans un temps très inférieur à  $t_{T-A} = 10s = h^2/3,8^2 D_{th}$ .  $h$  est le rayon interne du capillaire, ici  $h = 250 \mu m$  ;  $D_{th}$  le coefficient de diffusion thermique de l'espèce diffusée, pour la fluorescéine de sodium  $D_{th} = 0,42 \times 10^{-5} cm^2/s$  [18].

Comme décrit dans le chapitre 1 section 2.2.2.4 à propos des gradients de concentration linéaires générés par dispersion, le transport de matière dans un tube capillaire est dépendant d'un coefficient de diffusion effectif, qui comprend un terme lié au transport par diffusion et un autre lié au transport par dispersion. En plus, pour former le gradient de concentration linéaire, il faut que le temps de formation du gradient soit bien inférieur à 10 secondes ( $t < 0,43 h^2/D_{th}$ ) pour s'assurer que le terme dispersif du coefficient de diffusion effectif soit prédominant sur le terme diffusif. Pour cette raison, au fur et à mesure que la pression d'écoulement  $P_A$  est réduite, le gradient de 30 cm n'est pas seulement formé plus lentement, mais la partie linéaire du gradient se déforme progressivement puisqu'il y a un plus grand effet de la part du transport de matière par diffusion (Figure 56). Pour cela, la meilleure des conditions d'établissement du gradient est de mettre une pression d'écoulement  $P_{RA}$  de 1000 mbar pendant 0,75 secondes. Il faut préciser

qu'une augmentation de la pression d'écoulement permettrait d'accroître la longueur de la portion linéaire du gradient formé. Cependant, cela demanderait aussi une réduction du temps d'écoulement, facteur qui est limité par les spécifications techniques du montage fluïdique utilisé, dont le temps de réponse des vannes est de 0,5 secondes. Finalement, l'expérience donnant lieu au gradient ayant une portion linéaire a été reproduite 5 fois de façon à constater la répétabilité de la séquence microfluidique (Figure 57).

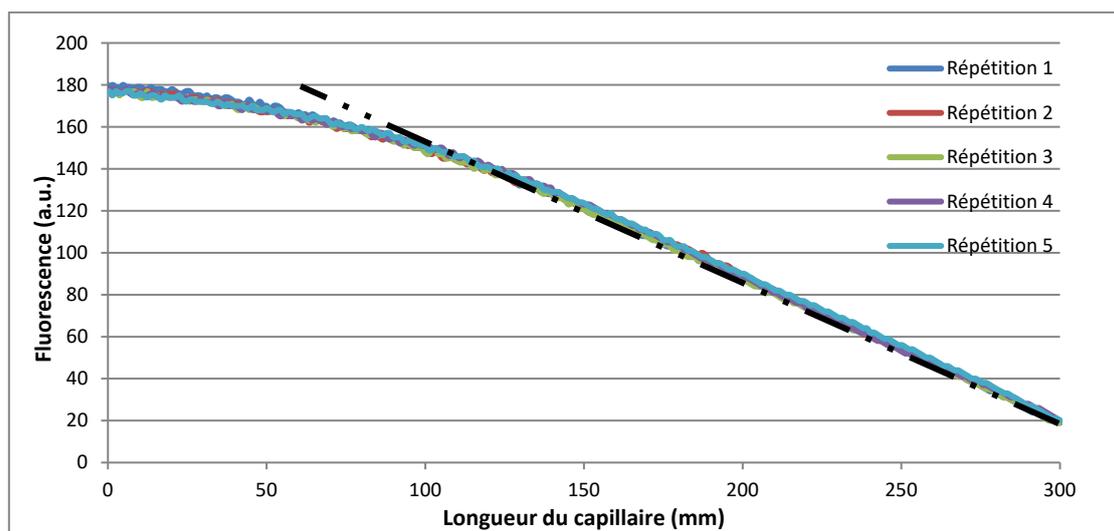


Figure 57 : Graphique montrant la répétabilité et la longueur du gradient de concentration linéaire. Rayon interne du capillaire = 250  $\mu\text{m}$  ; Espèce diffusée = fluorescéine de sodium.

- Validation de la méthodologie pour le dosage d'un acide fort par une base forte :

La répétabilité du processus de formation du gradient ( $P_{RA} = 1000 \text{ mbar}$  ;  $t = 0,75 \text{ secondes}$ ) validée, ces mêmes conditions ont ensuite été utilisées pour réaliser les premiers titrages ballist-mix. Par rapport aux expériences de formation de gradient de concentration linéaire, cette fois-ci, le réactif B, auparavant de l'eau, a été remplacé par les différents échantillons d'acide nitrique ( $0,5 - 3 \text{ mol L}^{-1}$ ) dopés à la fluorescéine ( $\text{NaF } 500 \mu\text{mol L}^{-1}$ ). Le réactif A, quant à lui, reste toujours du  $\text{NaOH } 0,25 \text{ mol L}^{-1}$  dopé à la fluorescéine ( $\text{NaF } 500 \mu\text{mol L}^{-1}$ ). De cette manière et inversement à la configuration précédente dans laquelle la solution basique colorée était dispersée dans le canal rempli d'eau afin de visualiser le gradient de concentration linéaire formé, cette fois-ci la solution basique est dispersée dans l'acide pour réaliser une réaction acidobasique entre les deux réactifs. Etant donné que le profil de concentration du réactif A le long du capillaire est linéaire, il est attendu que dans la zone où la concentration de l'acide est prédominante, le pH soit acide, et que dans la zone où la concentration de la base est prédominante le pH soit basique et finalement, la zone où a lieu la transition de pH correspondra au point d'équivalence chimique.

Pour visualiser la zone de transition de pH, les solutions d'acide et de base sont dopées en fluorescéine à la même concentration. Ceci permet de garder la concentration du fluorophore constante sur l'ensemble du capillaire. Etant donné que l'émission de fluorescence de la fluorescéine de sodium est, toute chose étant égale par ailleurs, dépendante du pH de la solution, les signaux obtenus le long du capillaire sont gouvernés par le pH à l'intérieur du capillaire. Ainsi à pH basique la fluorescéine émet un signal de fluorescence intense. L'intensité diminue avec la diminution du pH. Le signal mesuré dans le capillaire est donc encadré par une valeur maximale dans la solution d'hydroxyde de sodium et une valeur minimale dans l'échantillon acide. Dans la zone de pH égale au pKa, le signal est fonction de l'état d'ionisation. La position dans le capillaire de la zone de changement de pH correspondante à la réaction acido-basique est donc caractérisée par une chute du signal de fluorescence. La figure 58 montre que cette zone de changement de pH se déplace non linéairement le long du capillaire en fonction de la concentration de la solution acide.

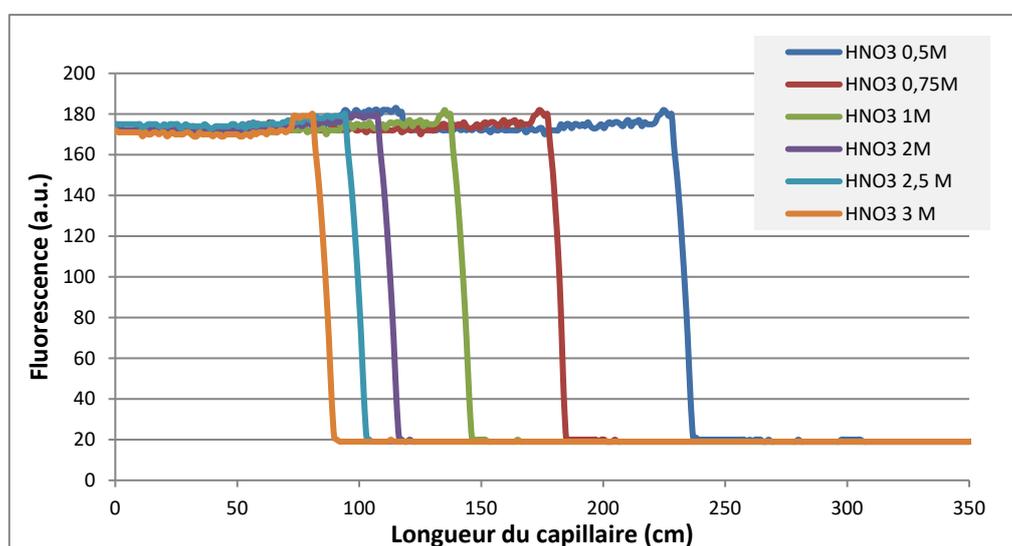


Figure 58 : Graphique montrant les résultats expérimentaux du titrage par dispersion de différentes concentrations d'acide nitrique ( $0,5-3 \text{ mol L}^{-1}$ ) dosés avec du  $\text{NaOH } 0,25 \text{ mol L}^{-1}$ . Les courbes de titrage montrent la position du point d'équilibre chimique dans le capillaire. La longueur du capillaire est de 35 cm avec diamètre interne de  $500 \mu\text{m}$ . Les solutions acides et basique sont dopées avec  $500 \mu\text{mol L}^{-1}$  de fluorescéine de sodium.

Les résultats obtenus démontrent la faisabilité des dosages par dispersion. En effet, les courbes de titrage obtenues pour différents échantillons d'acide se différencient par une position de la zone de changement de signal bien définie dans le capillaire (Figure 58). Bien que la relation entre la position de la zone de changement d'intensité de fluorescence ne suive pas linéairement l'évolution de la concentration des différents échantillons d'acide, il sera présenté par la suite une stratégie permettant de remonter à la concentration d'acide d'un échantillon inconnu à partir de la position de la courbe de dosage. Finalement, la répétabilité de la technique a été évaluée en répétant plusieurs fois la même séquence avec un même échantillon d'acide nitrique à  $2 \text{ mol L}^{-1}$  (Figure 59).

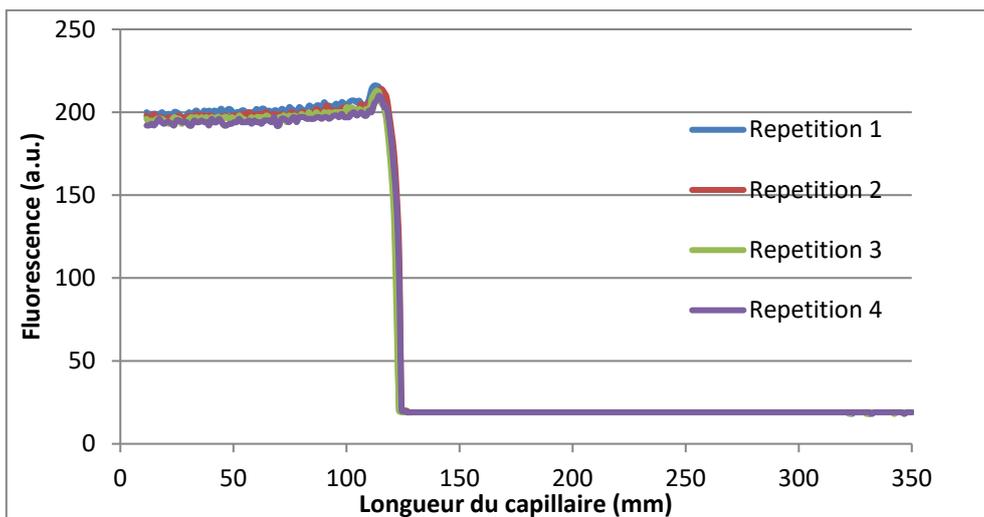


Figure 59 : Graphique montrant la répétabilité du titrage par dispersion d'un échantillon d'acide nitrique 2 mol L<sup>-1</sup> dosés avec du NaOH 0,25 mol L<sup>-1</sup>. La longueur du capillaire est de 35 cm avec diamètre interne de 500 µm. Les solutions acides et basique sont dopés avec 500 µmol L<sup>-1</sup> de fluorescéine de sodium.

Basé sur les résultats encourageants obtenus pour le titrage dans un capillaire de 35 cm de longueur et 500 µm de diamètre interne, il a été entrepris une démarche de réduction de taille du canal microfluidique. Dans un premier temps le capillaire a été réduit à 9 cm de longueur et 200 µm de diamètre interne. Le nouveau montage utilise 2 tubes en PEEK interconnectés par une puce microfluidique, chacun des éléments ayant 3 cm de longueur et 200 µm de diamètre interne (Figure 60). La puce microfluidique contient un micro canal en verre et a été utilisé notamment pour rendre visible le mélange auprès du faisceau du microscope confocal. Les expériences de formation du gradient de concentration linéaire ont été reconduites sur le nouveau système microfluidique. Bien entendu, l'optimisation de la pression de sortie des réactifs, l'adaptation du système des contrepressions et l'adaptation du temps d'écoulement des réactifs pour la formation du gradient ont dû être ré optimisés (Tableau 16). En effet pour ce nouveau système, le volume interne est réduit de 70 µL à 3 µL, de plus, le temps de Taylor pour la formation du gradient se voit également réduit de 10 secondes à 2 secondes. Bien que la réduction d'échelle du volume d'analyse soit conséquente (réduction d'un facteur 23), la formation d'un gradient de concentration linéaire (Figure 60 ; c) a été encore possible.

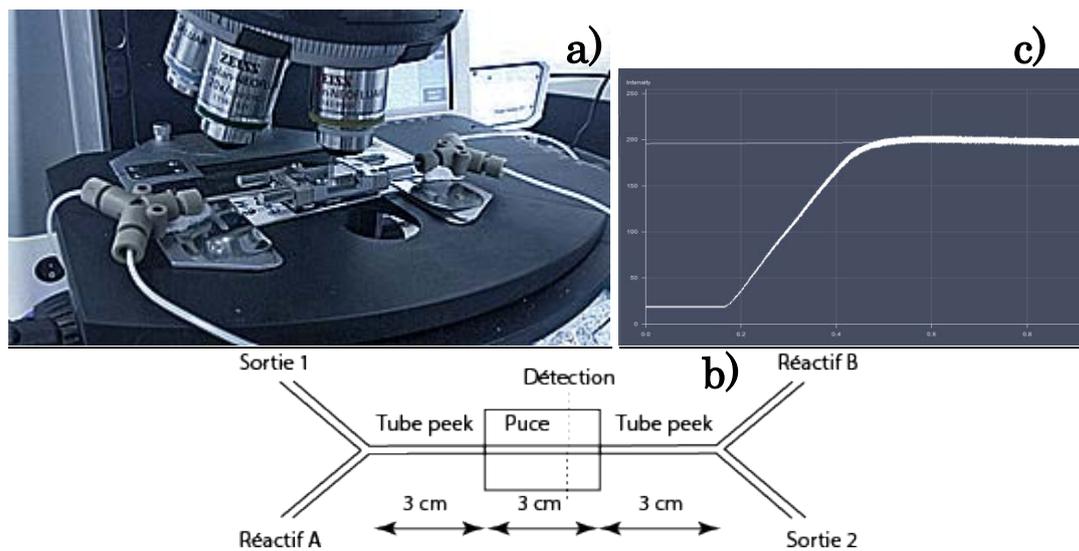


Figure 60 : Illustration des micro canaux microfluidiques utilisés pour l'étude de faisabilité en vue du premier titrage ballist-mix à l'échelle micro. a) Micro capillaire en PEEK de 6 cm de longueur et 200  $\mu\text{m}$  de diamètre interne couplé à deux jonctions en Y faites en PEEK, au milieu du capillaire il est placé une puce microfluidique en verre de 3 cm de longueur, de section elliptique (100  $\mu\text{m}$  x 200  $\mu\text{m}$ ) et à travers de laquelle une détection de la fluorescence peut être effectuée, volume interne = 3  $\mu\text{L}$  ; b) Schéma du montage microfluidique ; c) Graphique du gradient de concentration linéaire obtenu avec le nouveau montage microfluidique, le graphique montre la variation de l'intensité de fluorescence d'une solution de fluorescéine qui a été dispersée dans un capillaire préalablement rempli d'eau.

Tableau 15 : Séquence microfluidique optimisée pour la formation d'un gradient de concentration linéaire dans un capillaire de 200  $\mu\text{m}$  de diamètre, 9 cm de longueur et comportant deux jonctions Y.

No. Étape	Description de l'étape	Pression réactif A $P_{RA}$ (mbar)	Pression réactif B $P_{RB}$ (mbar)	Pression sortie 1 $P_{S1}$ (mbar)	Pression sortie 2 $P_{S2}$ (mbar)	Durée de l'étape (s)
1	Remplissage du capillaire avec le Réactif A ; $\text{H}_2\text{O}$	100	400	-150 (vide)	-100 (vide)	20
2	Ajout du Réactif B ; NaOH 0,25 mol $\text{L}^{-1}$ dopé avec NaF 500 mol $\text{L}^{-1}$ pour former le gradient	400	100	-100 (vide)	-150 (vide)	0,5
3	Homogénéisation du mélange dans l'axe	0	0	0	0	100
4	Ejection du mélange vers le détecteur	5	0	0	0	120

Les résultats obtenus étant comparables à ceux obtenus en utilisant le capillaire de 35 cm, une dernière étape de réduction des dimensions du canal microfluidique a été envisagée. Pour ce faire une puce microfluidique en verre commercialisée par Dolomite® a été utilisée. Cette puce intègre les deux jonctions Y directement sur le micro canal droit le tout dans un microsystème de 3 cm de longueur, permettant encore une réduction du volume interne du microsystème de 3  $\mu\text{L}$  à 0,6  $\mu\text{L}$  (Figure 61). Malheureusement, la formation d'un gradient linéaire en utilisant la puce intégrée

n'a pas été possible. La raison principale est d'ordre instrumental. En effet, sur ces configurations compactes les pertes d'énergie cinétique par frottement du liquide aux parois sont nettement plus faibles. Le système de gestion des fluides a donc besoin de moins de pression pour mettre le liquide en écoulement à une vitesse élevée. A cela il faut ajouter que la longueur du canal droit de la puce Dolomite® est de seulement 2 centimètres, ce qui fait que le contrôle du liquide sur une si courte distance devient un véritable défi. En effet, pour ce dernier microsysteme une pression de 30 mbar est suffisante pour développer le gradient jusqu'au point de détection en 0,5 secondes. Cependant, la détection est impossible puisque à une pression de 5 mbar, qui est la pression de sortie minimale envoyé par le contrôleur, la vitesse de l'écoulement était trop importante et entraîne des fluctuations dans la mesure et aussi une déformation du profil linéaire du gradient formé. La limitation vient donc de la capacité du contrôleur de pression à gérer les très faibles pressions.

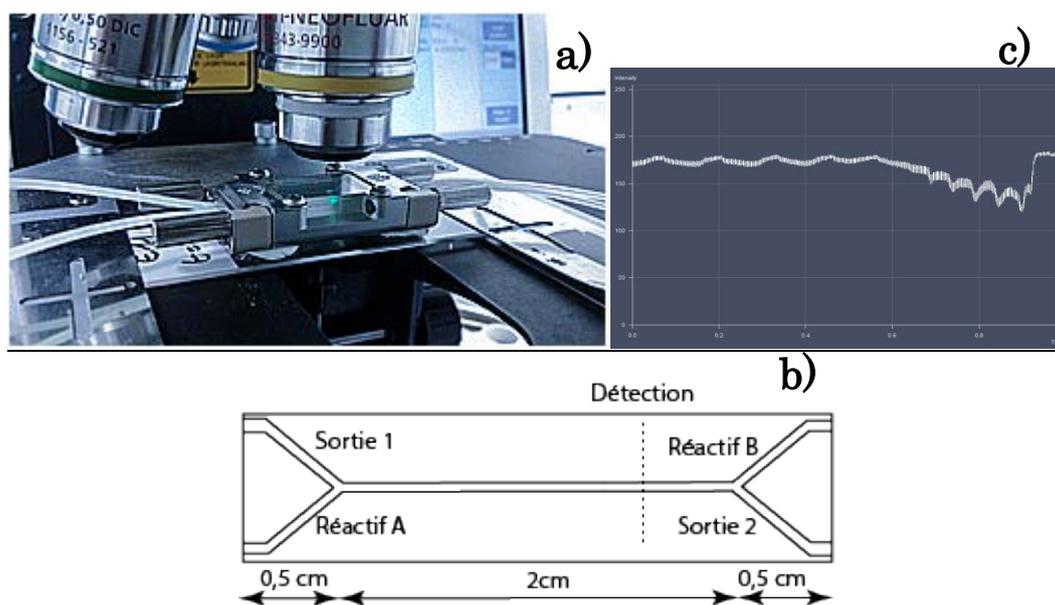


Figure 61 : Illustration de la puce microfluidique utilisée pour l'étude de faisabilité en vue du premier titrage par dispersion à l'échelle micro. a) Puce microfluidique en verre de 3 cm de longueur et de section parabolique ( $100 \mu\text{m} \times 205 \mu\text{m}$ ), la puce intègre les deux jonctions en Y, volume interne =  $0,6 \mu\text{L}$  ; b) Schéma décrivant la géométrie interne de la puce ; c) Fluctuations dans la mesure obtenues lors de la formation d'un gradient de concentration linéaire dans une puce microfluidique intégrant les deux jonctions en Y. L'espèce dispersée est toujours une solution de fluorescéine en milieu basique.

## 2.2. Optimisation du premier système microfluidique permettant le titrage ballist-mix à l'échelle micro métrique

Les travaux ont démontré avec succès la mise en œuvre d'un titrage avec génération d'un gradient linéaire en système microfluidique pour la première fois. Le premier des systèmes est composé de deux jonctions Y interconnectés par un capillaire de  $35 \text{ cm} \times 500 \mu\text{m}$  de diamètre

interne pour un volume interne de 70  $\mu\text{L}$ . Cet assemblage a permis de démontrer la possibilité de former des gradients de concentration linéaires dans un canal droit. Le gradient a été utilisé ensuite pour démontrer le principe des titrages ballist-mix, où les courbes de titrage de plusieurs concentrations d'acide nitrique ( $0,5 - 3 \text{ mol L}^{-1}$ ) se différencient par la position de la zone de changement de pH et donc de fluorescence dans le capillaire. Une des conclusions les plus importantes de cette expérience est que la relation de position entre les différentes concentrations d'acide nitrique n'est pas linéaire. Il est donc nécessaire de trouver une méthodologie permettant de connaître la concentration en acide d'un échantillon inconnu après le titrage ballist-mix. Pour rappel, l'analyse se déroule en deux étapes principales ; dans une première étape le gradient linéaire est formé. La détection est rendue possible grâce au dopage à la fluorescéine ( $500 \mu\text{mol L}^{-1}$ ) des solutions. Ce fluorophore étant sensible au pH, il permet de tracer la position de la courbe de titrage. La deuxième étape est une étape de mobilisation de l'ensemble du liquide à l'intérieur du capillaire devant le point de détection. Il est donc important d'étudier l'influence de cette étape de mobilisation hydrodynamique (déplacement du gradient formé vers le point de détection) sur la sensibilité de la méthode. En effet, bien que le gradient formé soit déplacé à vitesse réduite pour ne pas déformer le gradient, il est nécessaire de caractériser l'amplitude de la déformation réelle du gradient suite aux phénomènes diffusifs et dispersifs ayant lieu lors de ce déplacement.

Il convient de noter que la formation du gradient de concentration ainsi que les titrages sont des procédés rapides ( $< 6$  minutes) et répétables. Cet aspect est primordial dans le cadre d'un développement de méthode d'analyse futur. Une deuxième réduction de taille du microsystème a été proposée en utilisant un assemblage de micro canaux de  $9 \text{ cm} \times 200 \mu\text{m}$  et ayant un volume interne de  $3 \mu\text{L}$ . Les résultats obtenus sont comparables à ceux obtenus pour le système capillaire de  $35 \text{ cm}$  de longueur, ce qui n'a pas été le cas lors de l'utilisation d'une puce intégrant les deux jonctions Y dans un espace de  $3 \text{ cm}$  de longueur et  $200 \mu\text{m}$  de diamètre. Dans ce dernier, la détection ponctuelle avec un microscope confocal n'a pas été possible suite à la déformation de la linéarité du profil de concentration en utilisant la plus faible pression de sortie du contrôleur OB1.

Les méthodes de titrage par dispersion sont rapides, répétables, quasi-automatiques et ne nécessitent qu'un volume de réactifs de quelques microlitres par analyse. Cela représente un grand avantage pour l'analyse d'échantillons dangereux ou de coût élevé. Cependant, la contrainte principale de la R&D en microfluidique est le développement de dispositifs figés qui répondent uniquement à des problématiques très spécifiques, ce qui ralentit l'étape de développement et diminue l'adaptabilité des dispositifs pour d'autres applications. Dans le cas du microsystème utilisé pendant l'étude de faisabilité, le titrage est limité uniquement à deux réactifs ainsi que l'utilisation des jonctions Y implique la mise en œuvre d'une stratégie de contrepressions afin d'éviter la contamination croisée des réactifs. Finalement, l'utilisation d'une détection ponctuelle augmente l'incertitude sur la mesure puisque l'éjection du mélange vers un détecteur donne lieu à un deuxième terme de dispersion comparable à celui ayant lieu sur un

échantillon lors d'une analyse chromatographique. Ce terme sera d'autant plus important et visible sur les courbes de titrage qu'il est éloigné du détecteur.

Un nouveau montage expérimental a donc été développé afin de gagner en polyvalence (augmenter le nombre de réactifs pouvant être injectés dans le système) et robustesse (Figure 62 ; 63).

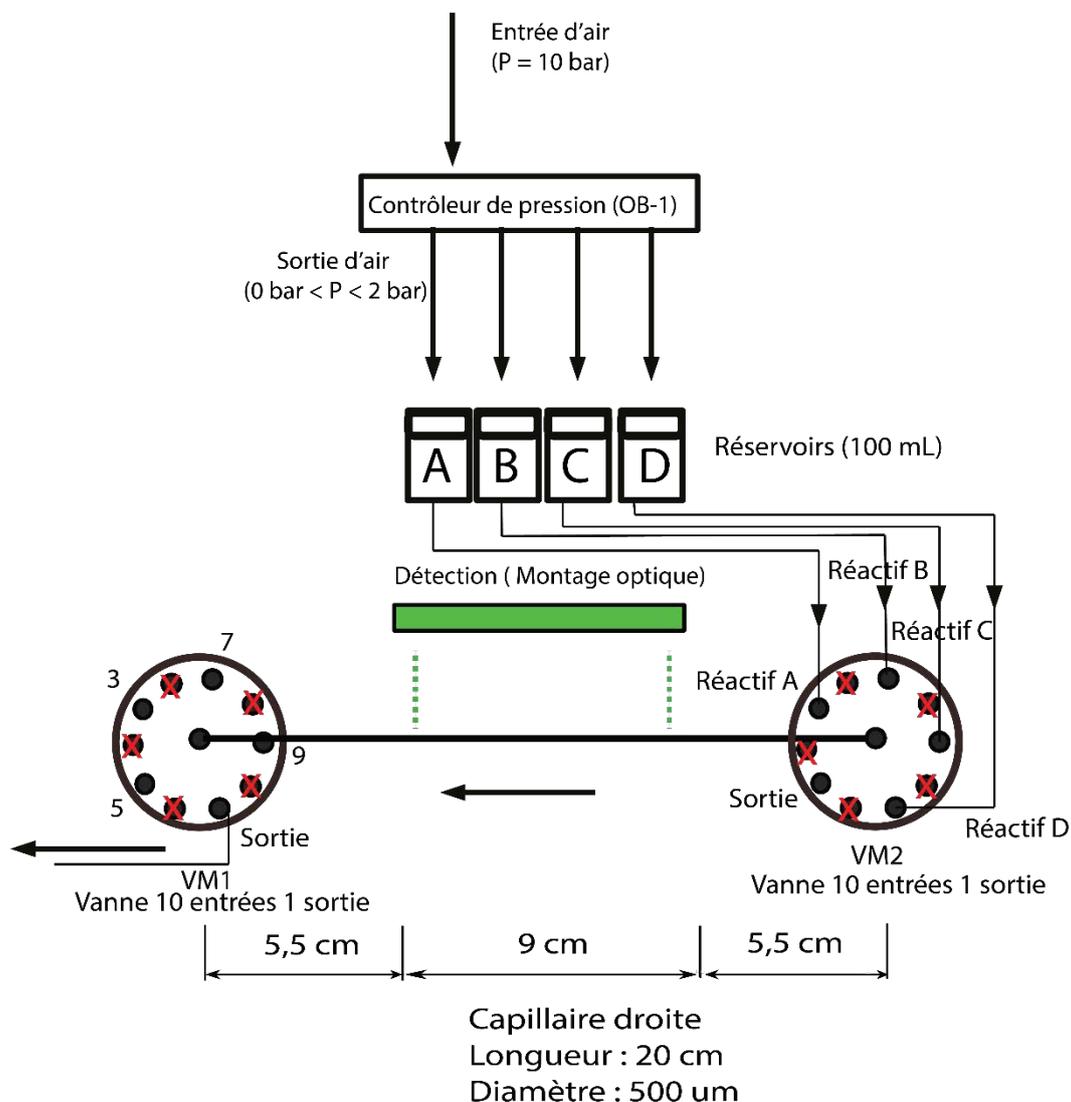


Figure 62 : Schéma de principe du nouveau montage expérimental permettant le titrage ballist-mix. A) Contrôleur de pression de gaz ; B) Réservoir de l'échantillon/réactif ; C et C'') Vanne multi-position avec 10 entrées « 1-10 » et 1 sortie (au centre). D) Micro-canal en verre ; E) montage optique ; G) Contrôleur des dispositifs / suivi de l'information.

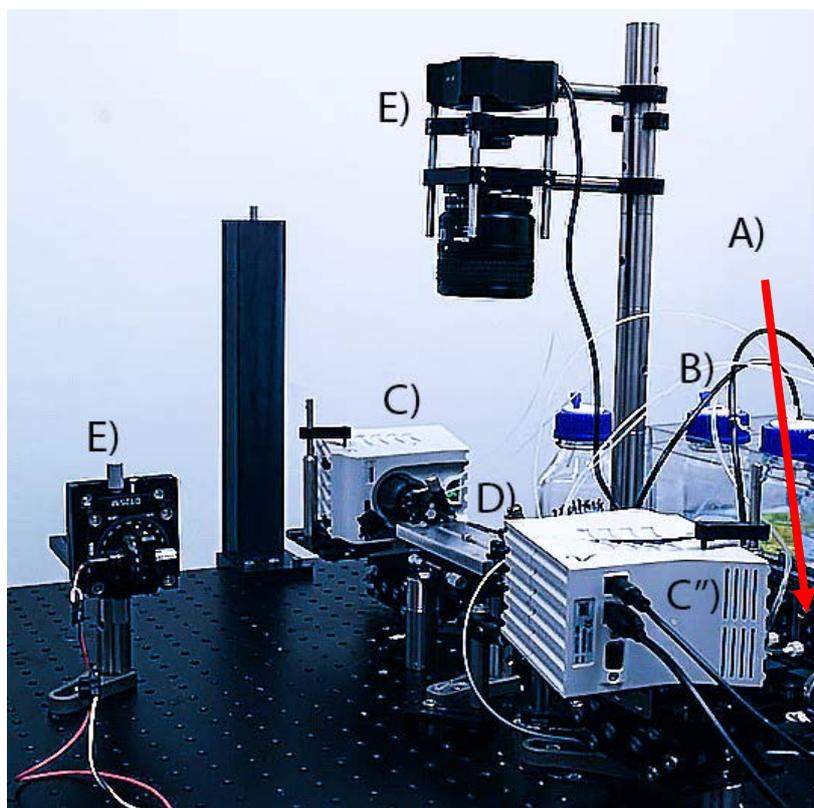


Figure 63 : Photo du nouveau montage expérimental permettant le titrage ballist-mix. A) Contrôleur de pression de gaz ; B) Réservoir de l'échantillon/réactif ; C et C'') Vanne multi-position avec 10 entrées « 1-10 » et 1 sortie (au centre de la vanne). D) Micro-canal capillaire en verre ; E) capteur CCD (à droite) et son laser d'excitation à 480 nm (à gauche).

Celui-ci utilise un micro-canal capillaire de 20 cm de longueur et 250  $\mu\text{m}$  de diamètre interne. Ce capillaire interconnecte deux vannes multi position ayant chacune 10 entrées et une sortie. Ces vannes multi-position sont utilisés pour l'introduction sélective de l'échantillon ou du réactif dans le micro canal capillaire. A l'instar du système utilisé pendant l'étude de faisabilité, un contrôleur de pression OB1 a été utilisé dont la sortie est reliée aux réservoirs contenant les échantillons et les réactifs.

La fonctionnalité majeure du nouveau montage expérimentale concerne le système de détection qui comprend 3 éléments :

- un laser d'argon à 488 nm et 25 mW générateur de ligne de 10 cm éclaire le canal microfluidique. Ce laser permet d'exciter la fluorescéine instantanément sur la longueur du canal.
- une caméra CCD linéaire est placée au-dessus du capillaire, perpendiculairement à la direction du faisceau laser d'excitation, de manière à visualiser le canal sur une longueur de 10 cm (pour cela un objectif NIKON a été couplé à la caméra).
- un filtre optique (passe-haut en longueur d'onde) placé entre le capillaire et le système objectif/caméra CCD. Ce filtre a pour rôle de couper les longueurs d'onde inférieures à 500

nm pour éviter l'interférence du faisceau d'excitation avec le signal de fluorescence émis par la fluorescéine à 520 nm lors de l'enregistrement de ce dernier par la caméra linéaire (celle-ci enregistre tous les photons arrivant jusqu'à elle sans distinction, il faut donc supprimer les photons du faisceau d'excitation pour que seul le signal de fluorescence soit enregistré) (Figure 64 ; 65 ; 66).

Le nouveau système proposé sera utilisé ensuite pour le développement d'une méthode analytique à micro échelle pour le titrage par dispersion d'un échantillon d'acide nitrique.

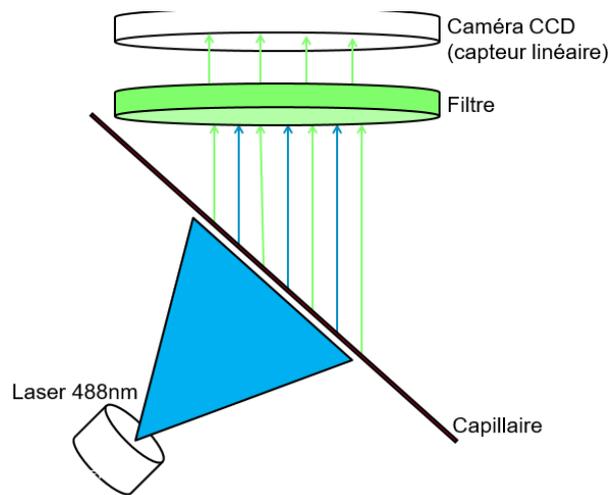


Figure 64 : Schéma détaillant le montage optique utilisé pour le suivi de fluorescence de la fluorescéine lors du titrage ballist-mix.

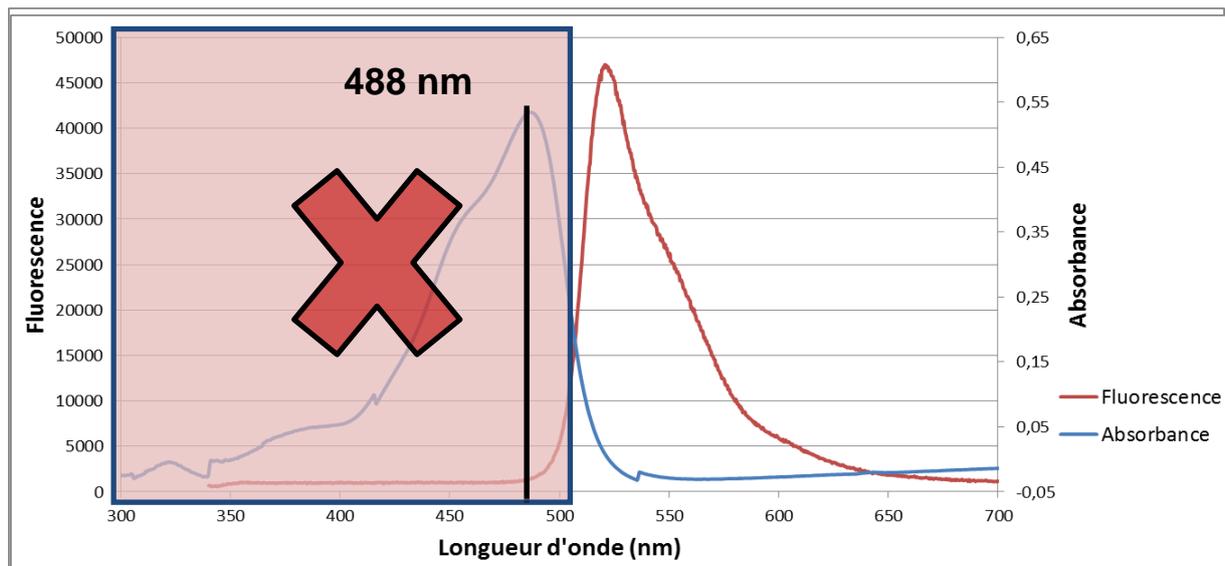


Figure 65 : Illustration du rôle du filtre optique pour le suivi de fluorescence de la fluorescéine lors du titrage ballist-mix. Dans le graphique est présenté le spectre d'absorbance (pic d'absorption 488 nm) et d'émission (pic d'émission 520 nm) de la fluorescéine à pH = 9. Le filtre aide à supprimer tout signal arrivant au détecteur ne venant pas de la fluorescence de la fluorescéine (de longueur d'onde inférieure à 500 nm).

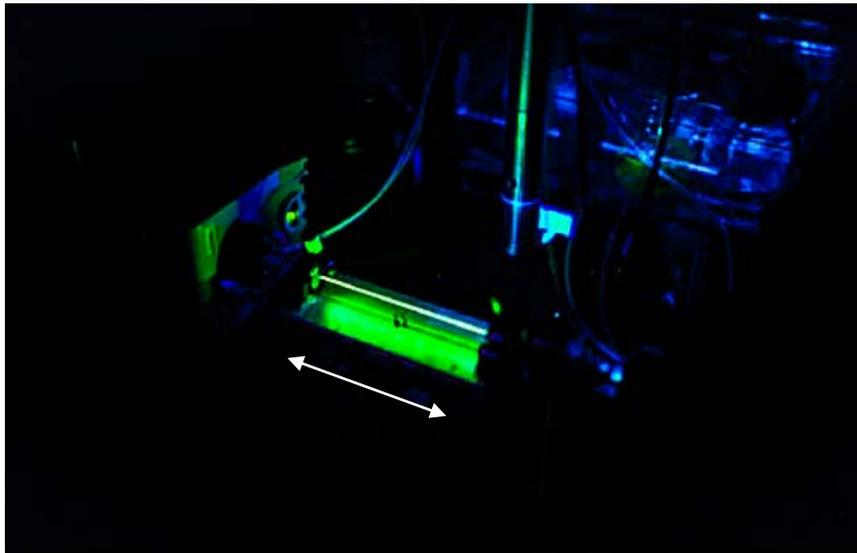


Figure 66 : Photo du nouveau montage expérimental permettant le titrage ballist-mix. Cette photo montre le même système que décrit dans la figure 63, à la différence que le micro capillaire en verre D) a été rempli avec une solution de fluorescéine de sodium en milieu basique, Cela afin d'illustrer l'excitation de la fluorescéine qui est faite sur la longueur du capillaire, ce qui diffère de la détection ponctuelle par le microscope confocal.

### 3. Développement d'une méthode analytique à micro-échelle pour le titrage ballist-mix d'un échantillon d'acide nitrique

Lors de l'étude de faisabilité précédente, le système microfluidique développé était composé par deux jonctions Y interconnectées par un capillaire de 35 cm x 500  $\mu\text{m}$  avec un volume interne de 70  $\mu\text{L}$ . Le système étant couplé avec un microscope confocal pour la mise en œuvre d'un titrage ballist-mix avec une détection par fluorescence. Cependant, le montage expérimental utilisé limite le nombre de réactifs à utiliser. De plus la détection ponctuelle par microscopie n'est pas pratique lorsque la taille du système de mesure est réduite. Pour pallier aux difficultés mentionnées précédemment, le montage fluidique a été modifié en remplaçant les jonctions Y par deux vannes multi-positions, ce qui permet d'augmenter le nombre de réactifs à injecter dans le système sans avoir besoin de mettre en place de contrepressions nécessaire pour éviter la contamination croisée entre les réactifs. De plus, le montage optique a également été modifié pour permettre d'imager sur la longueur du micro canal. Le montage optique utilisé, permet de mesurer directement l'intensité de fluorescence sur 10 cm du capillaire. Ceci permet de réduire le nombre d'étapes de la séquence d'analyse. En effet, il ne sera plus nécessaire de déplacer le gradient de concentration devant le point de détection fixe. Ce nouveau montage expérimental a été utilisé pour développer une méthode d'analyse mettant en œuvre le principe de titrage ballist-mix.

### 3.1. Description d'une méthode permettant la mesure d'acidité d'échantillons d'acide nitrique dans un domaine de concentration défini

Contrairement aux titrages par SIA, où le développement analytique était long voire laborieux en raison de la complexité du profil de concentration des réactifs, avec le titrage ballist-mix le développement est beaucoup plus simple car le profil de concentration des réactifs est linéaire. De ce fait il est facile d'estimer par le calcul la concentration des réactifs en fonction d'une position dans le capillaire. Par conséquent, pour une réaction acido-basique, la position du point d'équivalence chimique peut être facilement déterminée. Pour comprendre comment ce calcul est possible, il faut expliquer un peu plus en détail comment le gradient linéaire est formé avec le nouveau montage expérimental. Lorsqu'un acide est dispersé grâce à la vitesse d'injection sur toute la longueur d'un capillaire préalablement rempli d'une base, le volume de base déplacé est équivalent au volume d'acide dispersé (Figure 67). D'un point de vue pratique, l'entrée et la sortie du capillaire sont fermés juste après la formation du gradient linéaire grâce à deux vanes afin d'empêcher le déplacement du liquide vers l'extérieur du capillaire. Ces considérations sont importantes pour l'établissement d'un bilan matière des réactifs à l'intérieur du micro canal. De fait, ce qui est observé le long du capillaire est une variation linéaire de la fraction volumique de chacun des réactifs, paramètre qui est ensuite corrélé à une valeur de concentration (exprimable en fonction de la position dans le capillaire).

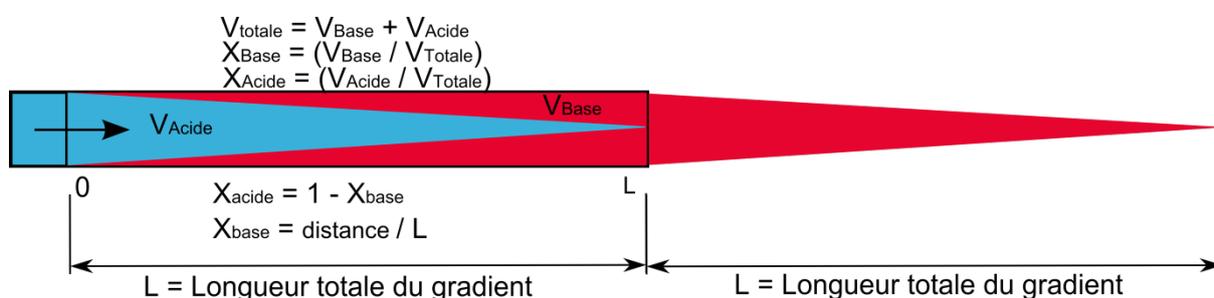


Figure 67 : Illustration de la formation d'un gradient de concentration linéaire. Ici, un acide est dispersé dans une base. En effet, deux gradients de concentrations linéaires sont formés dans ce procédé, un premier qui reste dans le capillaire afin d'avoir un volume équivalent d'acide et de base, et un autre qui sort du capillaire afin de respecter la loi de la conservation de la matière.

En effet, immédiatement après la formation du gradient, la somme entre la fraction volumique de l'acide et celle de la base, en toute position dans le capillaire, est égale à 1. Dans le cas de l'acide par exemple, sa fraction volumique est égale à 1 au début du gradient et va décroître linéairement jusqu'à la fin du gradient, où elle atteindra une valeur de 0. De façon complémentaire, la fraction volumique de la base commence à 0 et va croître linéairement jusqu'à une valeur de 1 à la fin du gradient. Dans ce cas particulier, la connaissance de la variation de la fraction volumique de chacun des réactifs en fonction de la position dans le capillaire permet de

déterminer théoriquement, par exemple, qu'au milieu du gradient formé, le volume de l'acide et celui de la base sont identiques. En outre, si la concentration initiale d'acide et de base sont identiques le point de titrage acidobasique se trouvera également au milieu du gradient formé. Cependant, la position du point de titrage sera différente si la concentration initiale d'acide et de base sont différentes. A ce moment-là, un bilan matière devra être fait pour pouvoir estimer, à partir de la concentration initiale des réactifs et de leur fraction volumique dans le capillaire, la position où le nombre de moles d'acide est égal au nombre de moles de la base (Figure 68). C'est pourquoi le mode de fonctionnement des titrages par dispersion correspond à un titrage volumétrique.

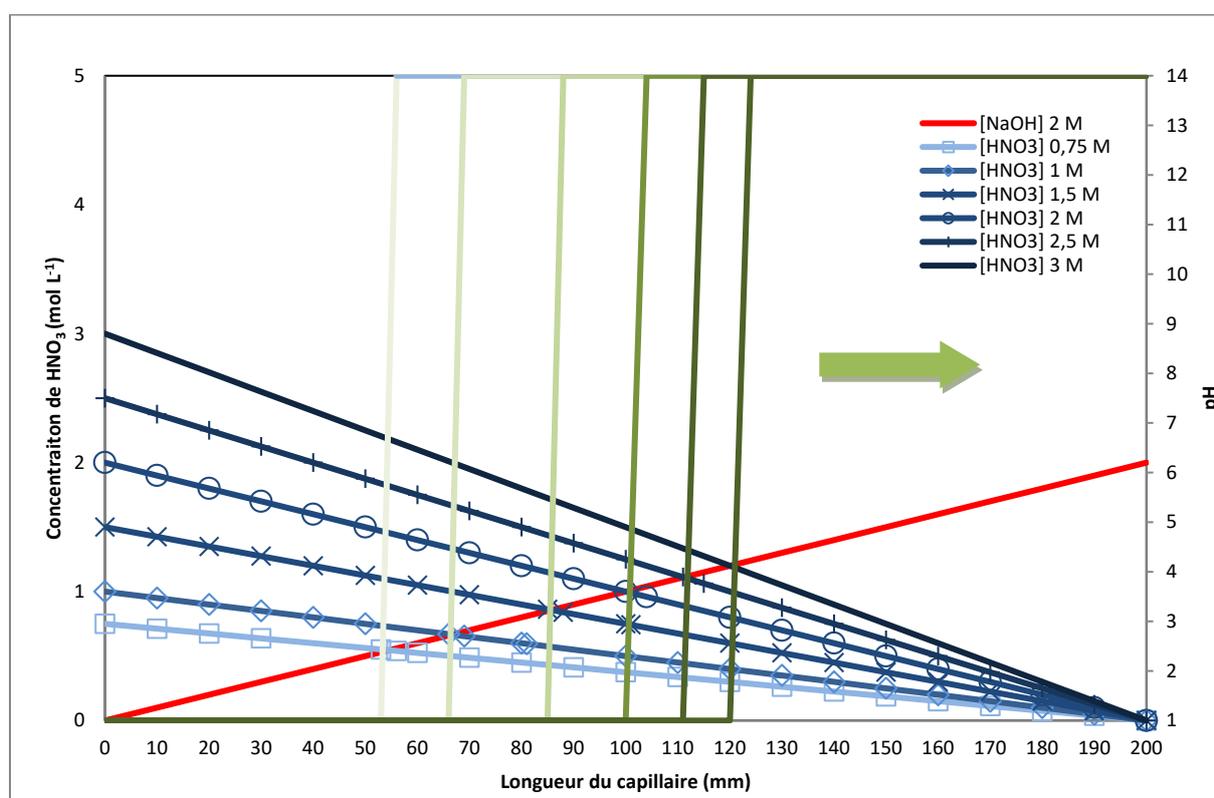


Figure 68 : Simulation de la méthode de titrage ballist-mix. Le graphique montre l'évolution du pH dans le micro-canal pour le titrage de différentes concentrations d'acide nitrique (0,75 - 3 mol L<sup>-1</sup>) (bleu) avec 1 mol L<sup>-1</sup> de NaOH (rouge). Les lignes verticales (vert) représentent les courbes de titrage exprimés en pH pour les différents échantillons d'acide, où la concentration d'acide est équivalente à la concentration de base. La longueur du micro-canal est de 200 mm avec 317 μm de diamètre interne pour un volume total = 16 μL.

A ce stade, deux conclusions principales émergent concernant la méthode de titrage ballist-mix. Premièrement, les courbes de titrage sont positionnées dans l'intersection entre les droites correspondantes aux différentes concentrations d'acide avec celle de la base. De plus, la pente des droites tracées est une fonction de la concentration initiale du réactif. Ce qui fait que pour un domaine de concentration d'acide fixe, il est possible de modifier le coefficient directeur des droites de titrage en faisant varier la concentration de la base titrante utilisée. Deuxièmement, si

la longueur du gradient est connue, la position du point d'équivalence chimique pour différentes concentrations d'acide ou de base peut être déterminée. Ce qui est un véritable avantage dans notre cas, car la caméra CCD, qui permet d'imager jusqu'à 9 cm d'un capillaire de 20 cm de longueur, ne peut visualiser qu'un tronçon compris entre 5,5 cm et 14,5 cm par rapport à la longueur totale du capillaire. Cela est dû au fait que les tronçons compris entre 0 et 5,5 cm et 14,5 cm et 20 cm sont recouverts par une pellicule polymère non transparente (polyimide) qui les rend flexibles, et grâce à laquelle il est possible de connecter les deux côtés du capillaire aux vannes multi-position. De cette manière, si la position des courbes de titrage est connue avant l'expérimentation, alors la concentration de la base pourra être optimisée afin de placer les courbes de titrage dans la zone du capillaire détectable par la caméra. En effet, bien qu'il soit toujours possible d'augmenter le morceau tronçon visible par la caméra par l'enlèvement aux extrémités du capillaire d'un ou deux centimètres de la pellicule polymère, et donc de déplacer la caméra sur le long du capillaire d'une distance de quelques millimètres, dans la pratique il est plus simple d'ajuster la concentration de la base que de déplacer et rééquilibrer le montage optique, qui implique un déplacement de la camera en parallèle avec le laser d'excitation.

Nous pouvons également remarquer, à partir de la version graphique du bilan matière (Figure 68), que lorsque l'acide à doser a une concentration plus faible que celle de la base ( $[\text{HNO}_3] < 2$  dans notre cas), l'espacement entre les courbes de titrage est plus important que lorsque l'acide a une concentration plus élevée que celle de la base. Cela veut aussi dire que dans le premier cas, le résultat du titrage obtenu sera plus précis que dans le deuxième cas. Cependant, la concentration de la base peut être encore optimisée afin de maximiser la précision du titrage pour un domaine d'acidité spécifique.

Le développement d'une nouvelle méthode d'analyse de titrage par dispersion, qui est un type de titrage volumétrique, a été entrepris sur ces bases. Dans un premier temps, l'étude a porté sur la maîtrise de conditions permettant de former un gradient de concentration linéaire. Puis dans un second temps, ce gradient a été appliqué à la détermination de la concentration en acide d'échantillons injectés.

### **3.2. Mise en œuvre du nouveau montage microfluidique pour la formation d'un gradient de concentration linéaire**

#### *- Validation de la partie optique*

Une méthodologie permettant de visualiser le gradient de concentration linéaire avec le nouveau système d'imagerie optique a été développée. Pour ce faire, sept solutions étalon de fluorescéine de sodium ayant une concentration comprise entre  $50 \mu\text{mol L}^{-1}$  à  $200 \mu\text{mol L}^{-1}$  et une concentration fixe de NaOH de  $1 \text{ mol L}^{-1}$  ont été préparées. En effet, l'intensité du signal de

fluorescence étant plus importante en milieu basique et pour s'assurer que le spectre d'émission soit le même pour toutes les solutions étalon, tous les étalons ont été dopés avec de l'hydroxyde de sodium. D'autres solutions plus concentrées en fluorophore ont aussi été préparées, mais leur signal de fluorescence a saturé le capteur de la caméra CCD, à savoir que le temps d'intégration choisi a été de 50 millisecondes. Après remplissage du capillaire avec chaque solution étalon, le signal de fluorescence en statique est enregistré. Les mesures sont faites en statique pour se mettre dans les mêmes conditions de mesure que le titrage ballist-mix, où après la formation du gradient la vanne d'entrée et de sortie du système sont fermés pour éviter toute sortie de matière du système (Figure 69).

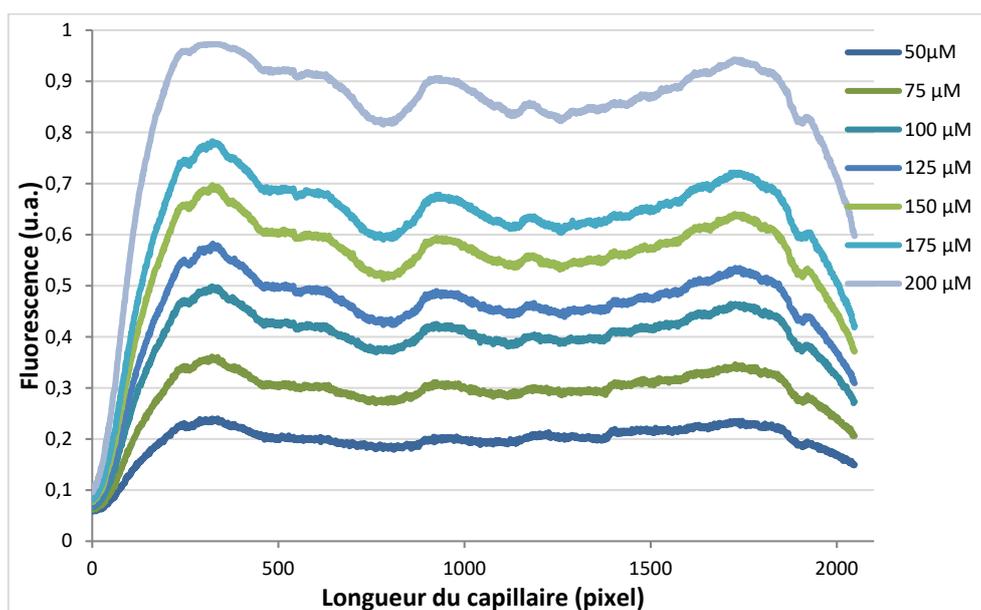


Figure 69 : Graphique montrant le signal de fluorescence enregistré par le capteur CCD, pour des solutions étalon de fluorescéine de sodium de concentration comprise entre 50 et 200  $\mu\text{mol L}^{-1}$  en milieu basique.

La calibration du système de mesure optique avec différentes concentrations de fluorescéine a été l'étape de base pour la mesure d'acidité. Premièrement, il fallait s'assurer que la réponse du capteur soit linéaire dans la gamme de concentration de fluorescéine utilisé. Nous avons cependant constaté que pour une même concentration en fluorophore, chaque pixel de la caméra CCD enregistre une valeur de fluorescence différente. Des tests de linéarité de la réponse du capteur pour plusieurs pixels ont dû être réalisés. Ainsi, parmi les 2048 pixels de la caméra CCD, 40 pixels ont été évalués (un pixel sur 50). Pour chacun de ces pixels, une droite d'étalonnage permettant de relier un signal brut de fluorescence à une valeur de concentration de fluorescéine a été tracé (Figure 70).

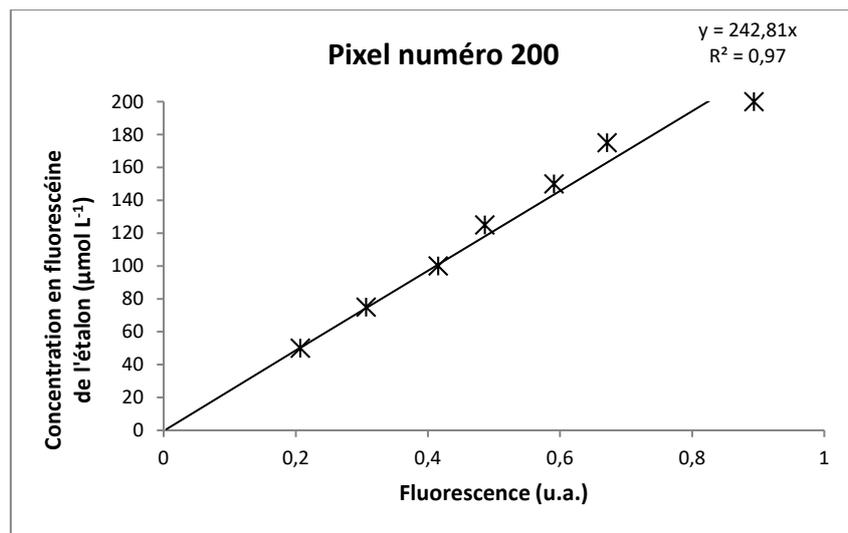


Figure 70 : Graphique montrant la fluorescence enregistrée de chaque étalon par le pixel numéro 200 du capteur CCD. La ligne de régression intercepte l'axe Y en 0.

De plus, étant donné que le signal restitué par la caméra est exprimé en unité arbitraire en fonction des pixels, un rapport linéaire a été utilisé entre les 2048 pixels de la caméra et les 90 mm de capillaire observés afin de convertir les pixels en unité de longueur visualisée dans le capillaire. Enfin, grâce à cette étape de calibration du système optique, le signal de fluorescence enregistré pour chaque pixel de la camera et pour chaque concentration de fluorescéine, a pu être exprimé en fonction de la position dans le capillaire (Figure 71).

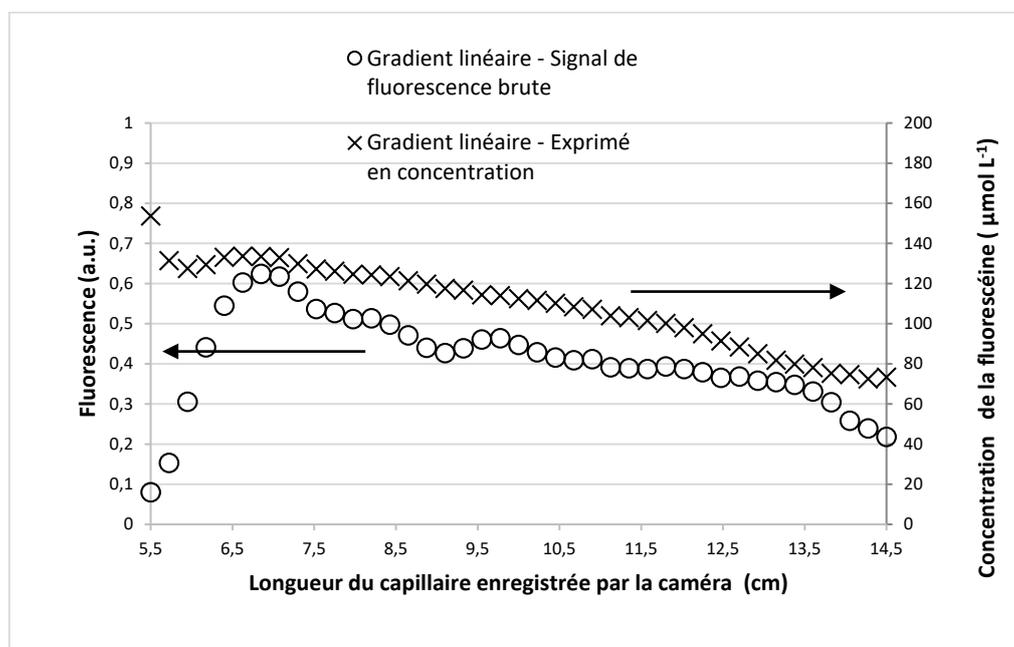


Figure 71 : Graphique montrant la portion du gradient de concentration linéaire imagé par la caméra. L'axe des ordonnées à gauche montre le gradient sous la forme du signal de fluorescence brut obtenu directement par la caméra. L'axe à droite montre le gradient sous la forme de valeur de concentration obtenu après le traitement du signal brut. La longueur du micro-canal est de 200 mm avec 317 µm de diamètre interne pour un volume total = 16 µL.

- *Optimisation de la séquence fluidique*

La poursuite du développement concerne l'optimisation de la séquence microfluidique pour la formation d'un gradient de concentration linéaire. En effet, le nouveau montage microfluidique permet de simplifier la séquence microfluidique par rapport à celle optimisée pendant l'étude de faisabilité car :

- d'une part, le montage optique pouvant imager sur la longueur du capillaire supprime l'étape correspondant à la mobilisation du mélange vers le point de détection, l'étape de la séquence consistant à pousser lentement le liquide vers la zone de détection n'a plus lieu d'être.

- et d'autre part l'utilisation des deux vannes multi-positions a permis de contrôler directement ce qui entre et sort du capillaire ce qui permet de s'affranchir du régime de contrepressions présent dans le microsystème à 2 jonctions Y (où le liquide entrant peut prendre jusqu'à 3 sorties différentes).

Le nouveau montage présente malgré tout un inconvénient : le mécanisme qui connecte les entrées avec la sortie des vannes multi-positions fonctionne par rotation, ce qui ralentit le temps d'ouverture des vannes. De plus, il y a toujours une des 10 entrées connectées à la sortie de la vanne et donc il n'y a pas précisément une position de fermeture des vannes pour empêcher toute entrée et/ou sortie du liquide. Pour résoudre cette problématique, 5 des 10 entrées ont été obstruées avec des tiges en métal de 700  $\mu\text{m}$  de diamètre interne, de manière à simuler plusieurs positions pour lesquelles les vannes sont fermées.

Les premiers paramètres de mise en place d'une séquence microfluidique concernent l'ordre d'injection des réactifs dans le système. Ainsi, le capillaire est d'abord rempli avec une solution A contenant 1 mol L<sup>-1</sup> de NaOH sans fluorescéine, puis une solution B contenant 1 mol L<sup>-1</sup> de NaOH et 200  $\mu\text{mol L}^{-1}$  de fluorescéine sont injectés. Une partie de l'étape d'optimisation concerne la définition du temps d'injection et de la pression d'injection de la solution B dans le capillaire (Tableau 17).

Tableau 16 : Séquence microfluidique optimisée pour la formation d'un gradient de concentration linéaire dans un capillaire de 317  $\mu\text{m}$  de diamètre interne et 20 cm de longueur.

No. Étape	Description de l'étape	Pression réactif (mbar)	Vanne multi position 1 (C <sup>o</sup> )	Vanne multi position 2 (C)	Durée de L'étape (s)
1	Remplissage du capillaire avec le Réactif A ; NaOH 1 mol L <sup>-1</sup>	500	Ouverte vers réactif A	Ouverte vers poubelle	5
2	Ajout du Réactif B ; NaOH 1 mol L <sup>-1</sup> dopé avec NaF 200 mol L <sup>-1</sup> pour former le gradient	350	Ouverte vers réactif B	Ouverte vers poubelle	0,75
3	Homogénéisation du mélange dans l'axe et mesure optique	0	Fermé	Fermé	20
4	Rinçage du capillaire avec le Réactif A ; NaOH 1 mol L <sup>-1</sup>	500	0	0	5

Cette optimisation de la séquence a conduit à la formation d'un gradient de concentration linéaire d'un peu plus de 26 cm de longueur. Pour estimer cette valeur, une régression linéaire a été faite à partir de la concentration de fluorescéine en fonction de la longueur du capillaire, la droite de régression a ensuite été extrapolée pour déterminer les positions dans le capillaire où la concentration de fluorescéine est de 200  $\mu\text{mol L}^{-1}$  et de 0  $\mu\text{mol L}^{-1}$ , représentant le début et la fin du gradient de concentration (Figure 72).

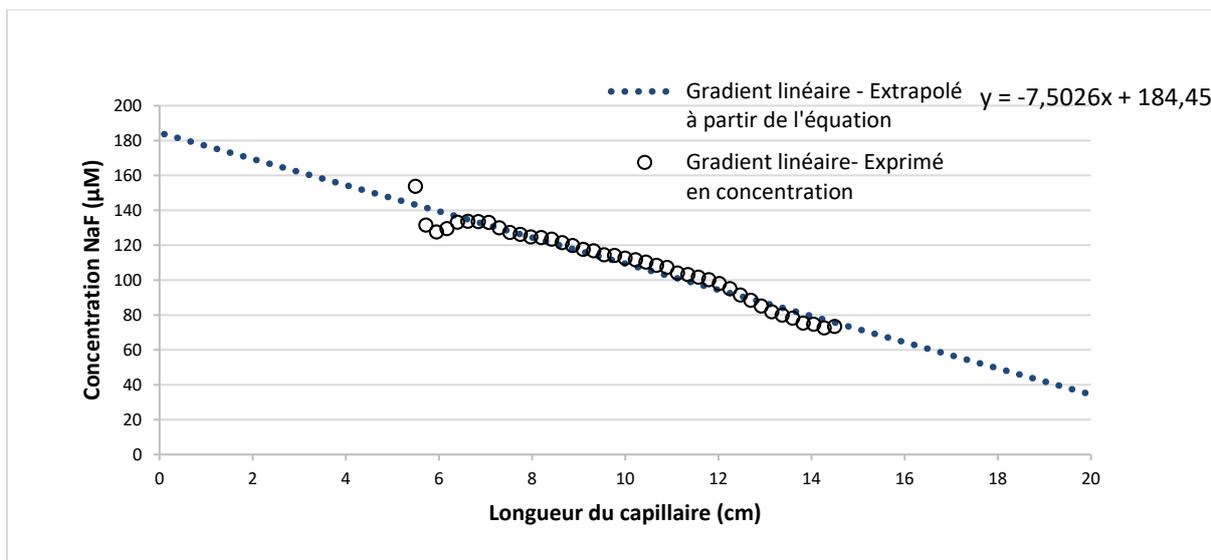


Figure 72 : Graphique montrant la portion du gradient de concentration imagé par la caméra CCD et son extrapolation afin d'estimer la longueur totale du gradient. Les valeurs tracées correspondent à la concentration de fluorescéine en fonction de la longueur du capillaire. Les valeurs ont été obtenues par le traitement du signal de fluorescence brut imagée par la caméra CCD, en utilisant une droite d'étalonnage reliant l'intensité de fluorescence imagée à une concentration en fluorescéine spécifique.

Enfin, la même expérience a été répétée 10 fois afin d'obtenir la répétabilité du gradient de concentration linéaire (Figure 73). De cette façon, pour chaque pixel l'écart-type et la valeur moyenne des 10 répétitions ont été calculés, de manière à calculer un écart-type relatif (RSD) pour chaque pixel et un écart-type relatif moyen (RSD moyen) calculé de 2,38 %.

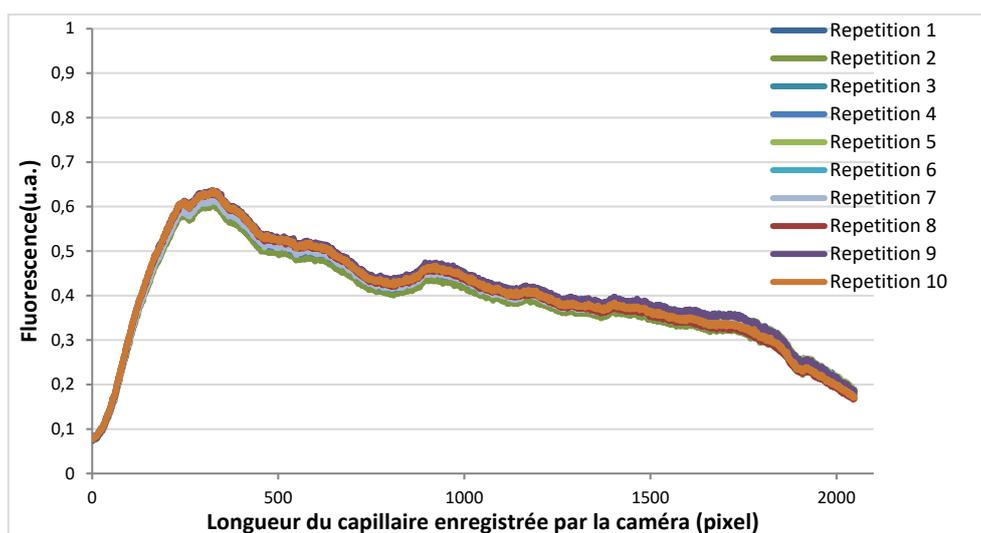


Figure 73 : Graphique montrant la répétabilité de la formation du gradient de concentration linéaire à partir de la séquence décrite dans le tableau 17, page 118. Les valeurs tracées correspondent au signal brut de fluorescence dans le capillaire imagé par la caméra CCD. La longueur du micro-canal est de 200 mm avec 317 µm de diamètre interne pour un volume total = 16 µL.

### 3.3. Mise en œuvre du nouveau montage microfluidique et d'une méthode analytique associée pour la mesure d'acidité d'échantillons d'acide nitrique

Pour la mise en œuvre du titrage ballist-mix, la séquence microfluidique décrite précédemment pour la formation du gradient de concentration a été reprise (Tableau 17 ; section 3.2). Cependant, dans le cas du titrage ballist-mix les réactifs à injecter dans le système seront modifiés. C'est pourquoi, le capillaire est d'abord rempli avec une solution A contenant  $1 \text{ mol L}^{-1}$  de NaOH et  $200 \mu\text{mol L}^{-1}$  de fluorescéine de sodium, puis une solution B contenant l'échantillon de  $\text{HNO}_3$  ( $0,75 - 2,5 \text{ mol L}^{-1}$ ) et  $200 \mu\text{mol L}^{-1}$  de fluorescéine de sodium est injectée. La base comme l'acide sont dopés avec la même concentration de fluorescéine de sodium afin de simplifier le traitement de données après le titrage ballist-mix. En effet, garder la concentration du fluorophore constante dans le capillaire, évite d'avoir à prendre en compte l'effet de dilution de la fluorescéine pouvant avoir lieu si seulement un des réactifs contient le fluorophore. Comme précisé dans la section 3.3.1 il est possible de faire varier les points d'équilibre chimique des différents échantillons d'acide en jouant sur la concentration en NaOH de la solution titrante, dans notre cas il a fallu optimiser cette concentration en NaOH pour qu'elle permette de titrer des solutions contenant de  $0,75$  à  $2,5 \text{ mol.L}^{-1}$  d'acide nitrique (domaine de concentration d'acidité ciblé).

Cette optimisation a été faite par simulation numérique en utilisant la droite de régression décrivant le gradient de concentration linéaire en fonction de la longueur du capillaire (Figure 72 ; section 3.2). En effet, la régression offre la possibilité de faire un bilan matière des espèces le long du capillaire, permettant d'estimer la position du point d'équivalence chimique pour les différentes concentrations d'acide et de base utilisées. De cette manière, pendant l'étape d'optimisation nous avons pu observer que la longueur et la position du gradient de concentration linéaire obtenu dans la section 3.2, ne permet pas de visualiser la courbe de titrage de tous les échantillons d'acide nitrique dans le domaine compris entre  $0,75 - 2,5 \text{ mol L}^{-1}$ . Nous avons montré par le calcul qu'en utilisant une solution de NaOH à  $2 \text{ mol L}^{-1}$ , le domaine d'acidité pouvant être traité ne serait compris qu'entre  $1 \text{ mol L}^{-1}$  et  $2,5 \text{ mol L}^{-1}$  (Figure 74).

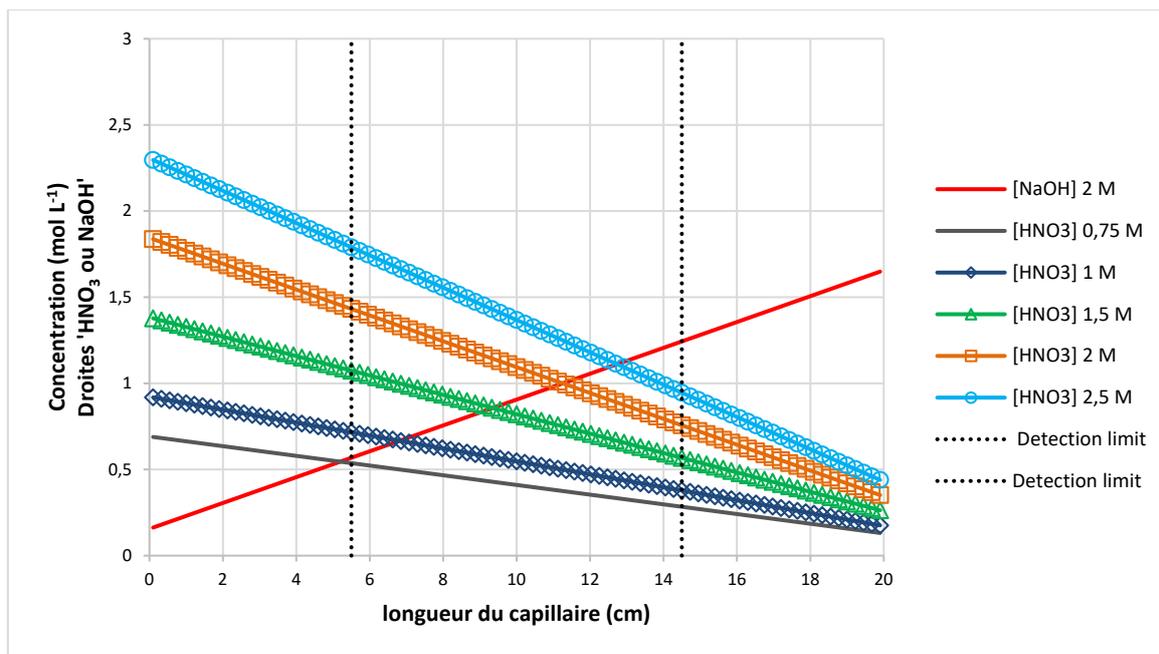


Figure 74 : Graphique montrant le gradient de concentration calculé pour le titrage de solutions contenant différentes concentrations d'acide nitrique (1- 2,5 mol L<sup>-1</sup>) dispersées dans une solution contenant 2 mol L<sup>-1</sup> de NaOH. Les intersections entre les droites correspondant aux acides avec celle correspondant à la base marquent la position du point d'équivalence chimique. La longueur du micro-canal est de 200 mm avec 317  $\mu$ m de diamètre interne pour un volume total = 16  $\mu$ L.

Il faut préciser, que pour augmenter le domaine d'acidité mesuré, il est toujours possible de réduire la longueur du gradient de concentration linéaire en changeant un des paramètres de la séquence microfluidique décrite dans la section 3.2, mais cela demanderait de refaire le bilan matière pour recalculer la longueur du gradient et estimer la position du point d'équivalence chimique pour le titrage des échantillons d'acide nitrique.

Pour la partie expérimentale du titrage ballist-mix une solution d'hydroxyde de sodium à 2 mol l<sup>-1</sup> a donc été choisie (Figure 75). Bien qu'il n'ait pas été possible d'observer la courbe de titrage correspondante à 0,75 mol L<sup>-1</sup> de HNO<sub>3</sub>, les résultats expérimentaux sont en accord avec les simulations numérique. Toutefois, il faut souligner que dans le cas de l'analyse d'un échantillon de concentration inconnue, il sera nécessaire de déterminer la position de la courbe de titrage dans le capillaire pour remonter à la concentration initiale de l'échantillon. A ce propos, il a été identifié qu'une amélioration de la qualité du traitement des données et aussi des résultats obtenus, peut être obtenue par intégration à la calibration du système optique, d'une étude de linéarité du signal de fluorescence à d'autres pH. En effet, la calibration actuelle du système optique décrit uniquement la variation du signal de fluorescence lorsque la concentration de fluorescéine varie à pH 9. Cependant, la calibration du système optique devrait en plus décrire les variations de la fluorescéine à d'autres pH puisque cette valeur est variable autour du point d'équivalence. Le manque de ces informations lors du traitement des données représente une source d'erreur, ainsi que cela limite notre capacité à choisir le point sur la courbe de transition de pH, qui sera utilisé pour remonter à la valeur d'acidité d'un échantillon inconnu.

Enfin, la même expérience a été refaite 7 fois consécutivement afin d'obtenir la répétabilité du titrage ballist-mix d'un échantillon d'acide nitrique 1,5 mol L<sup>-1</sup> avec 2 mol L<sup>-1</sup> de NaOH (Figure 76). De cette façon, pour chaque pixel l'écart-type et la valeur moyenne des 7 répétitions ont été calculés, de manière à calculer un RSD pour chaque pixel, le RSD moyen calculé étant ici de 1,58 %.

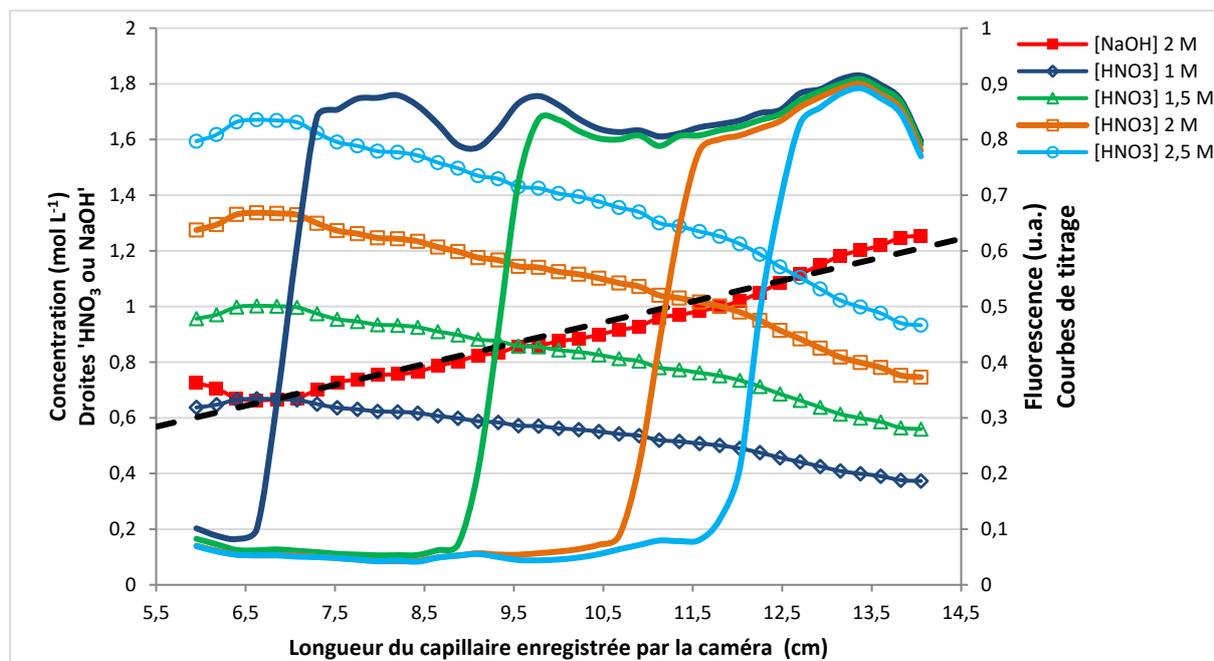


Figure 75 : Graphique montrant le signal de fluorescence enregistré lors du titrage ballist-mix de différents échantillons d'acide nitrique (1- 2,5 mol L<sup>-1</sup>) dosés avec 2 mol L<sup>-1</sup> de NaOH. Sur le graphique ont été superposés le profil de concentration des acides et de la base. Ces valeurs ont été calculées à partir du gradient de concentration linéaire obtenu expérimentalement dans la section 3.3.2. La longueur du capillaire est de 200 mm avec un diamètre interne de 317  $\mu$ m. Les acides comme la base ont été dopés avec 200  $\mu$ mol L<sup>-1</sup> de fluorescéine de sodium.

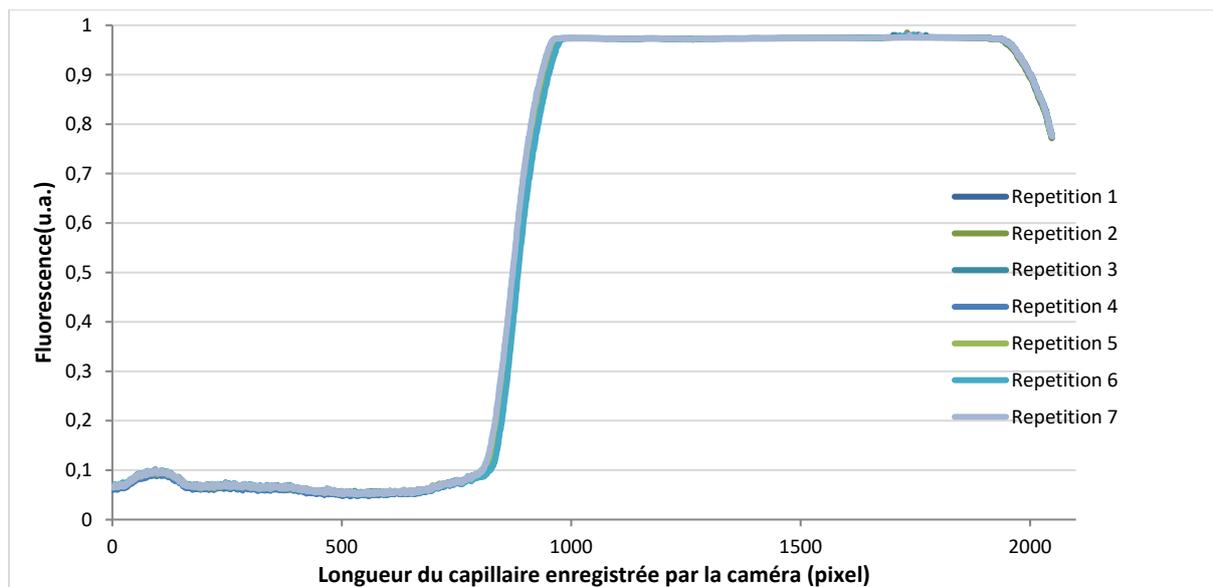


Figure 76 : Graphique montrant la répétabilité du titrage ballist-mix d'un échantillon d'acide nitrique  $1,5 \text{ mol L}^{-1}$  dosé avec  $2 \text{ mol L}^{-1}$  de NaOH. Diamètre interne du capillaire =  $317 \mu\text{m}$  ; Espèce diffusée = fluorescéine de sodium.

### 3.4. Bilan de la méthode analytique pour la mesure d'acidité d'échantillons d'acide nitrique en utilisant le nouveau montage optique

Dans cette section une méthode analytique utilisant le principe de dispersion de Taylor pour la mise en œuvre d'un titrage volumétrique à échelle micro, aussi appelé titrage ballist-mix a été présenté. Cette méthode permet de mesurer l'acidité de solutions d'acide nitrique dans un domaine compris entre  $1 - 2,5 \text{ mol L}^{-1}$  de façon répétable (RSD < 2%). Pour la mise en œuvre de la méthode un montage expérimental ayant deux fonctionnalités innovantes a été développé. D'une part les deux vannes multi position offrent la possibilité d'injecter plusieurs réactifs dans le système sans contamination croisée entre les réactifs. D'autre part, le système de détection peut imager la fluorescence de la fluorescéine sur « la longueur » du capillaire, ce qui permet de réduire le nombre d'étapes de la séquence microfluidique (il n'est plus nécessaire de pousser les réactifs vers le point de détection). Un des avantages de la méthode de titrage par dispersion est qu'il est possible de calculer au préalable la position des points d'équivalence chimique pour une diversité de concentrations d'acide nitrique et de soude, ce qui réduit le volume de réactifs et le temps nécessaire pour le développement analytique. Un inconvénient du montage en l'état est que la zone du capillaire imagée par le système optique n'est que de 9 cm, ce qui limite le domaine d'acidité pouvant être mesuré avec cette méthode d'analyse. Cependant, il est toujours possible de redimensionner le montage optique pour imager une longueur de capillaire au-delà de 9 cm.

Enfin, la méthode d'analyse et le nouveau montage expérimental s'accompagnent d'une réduction du volume de réactifs et du temps par analyse (Tableau 18), mais ne permet pour le moment de faire qu'un titrage d'un acide avec une base. Il va donc falloir trouver le moyen de mettre en œuvre la méthode de mesure d'acidité libre décrite par MAYANKUTTI et par la CETAMA (Méthode G. 23), pour laquelle il est nécessaire de diluer l'échantillon d'acide nitrique chargé en actinides dans une solution d'oxalates afin de complexer les cations hydrolysables avant de faire le titrage.

*Tableau 17 : Tableau de comparaison des performances entre la méthode de mesure de l'acidité libre proposé par MAYANKUTTI, son équivalent par titrage par titrage par SIA, et la nouvelle méthode microfluidique de titrage ballist-mix.*

	<b>Méthode microfluidique</b>	<b>Méthode SIA</b>	<b>Méthode sur paillasse</b>
V échantillon par analyse	< 15 $\mu$ L	10 $\mu$ L	5 mL
V effluents rejetés par analyse	< 1 mL	1,5 mL	60 mL
Temps d'analyse par échantillon	30 s	2 min 30 s	>20 min

#### **4. Développement d'une méthode analytique à échelle micro pour le titrage ballist-mix d'un échantillon d'acide nitrique contenant de cations hydrolysables : mesure de l'acidité libre**

L'objectif principal de la thèse, décrit dans le chapitre 1, est de développer une méthode miniaturisée pour mesurer l'acidité libre d'échantillons d'acide nitrique contenant des actinides. La méthode proposée est constituée de deux étapes. Durant la première étape, l'échantillon d'acide est mélangé avec une solution saturée en anions d'oxalate afin que ces derniers complexent les cations d'actinides pour éviter leur hydrolyse. Durant la deuxième étape cette solution est dosée avec une base forte (NaOH). Dans le chapitre 3 section 3 de la thèse, un montage microfluidique innovant a été utilisé pour mettre en œuvre un titrage volumétrique à l'échelle micro, également appelé titrage ballist-mix. Bien que la méthode analytique puisse mesurer la concentration d'échantillons d'acide nitrique de façon répétable (RSD < 2%), la méthode développée n'est valable que pour le titrage d'un acide fort avec une base forte. A ce stade ni la méthode d'analyse ni le montage microfluidique ne sont munis d'un mécanisme permettant d'effectuer, en interne, le mélange homogène entre l'échantillon d'acide et les ions d'oxalate. C'est pour cela que la première section de ce chapitre est dédiée à une étude bibliographique ayant pour objectif de trouver un dispositif ou principe microfluidique permettant la mise en œuvre de l'étape de mélange, et donc de dilution, indispensable à la méthode de mesure d'acidité libre. La deuxième section comprend, quant à elle, une étude de faisabilité du système de micro-mélanges proposé en conclusion de l'étude bibliographique et enfin, dans une

troisième section sera décrite une nouvelle méthode de titrage ballist-mix, qui cette fois-ci permettrait la mesure d'acidité libre d'échantillons d'acide nitrique contenant des ions hydrolysables.

#### 4.1. Etude bibliographique pour l'implémentation d'une étape de mélange à la méthode de titrage ballist-mix

Dans la microfluidique les liquides en mouvement sont normalement caractérisés par un écoulement en régime laminaire ( $Re < 1000$ ) (Figure 77) et un grand nombre de Péclet ( $Pe > 100$ ), car le transport convectif est prépondérant sur le transport par diffusion entre les fluides [19]. Néanmoins, ces caractéristiques sont un facteur limitant pour des applications ayant besoin d'un mélange entre réactifs, puisque l'écoulement en régime laminaire ne permet pas l'homogénéisation du fluide par micro-mélanges, contrairement à un écoulement turbulent. De plus, dans un canal de type hydrophile, la vitesse du liquide (aqueux donc) au point de contact avec la paroi est dans la limite proche de zéro, ce qui défavorise le contact entre le fluide au niveau de la paroi et le fluide au milieu du canal [20]. Les deux aspects mentionnés précédemment font que la seule possibilité de mélanger deux ou plusieurs réactifs dans un micro-canal vide est la diffusion simple [21].

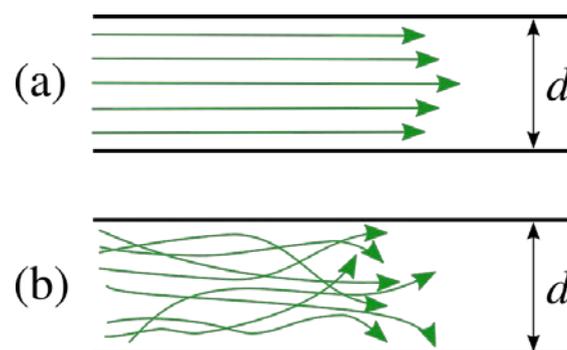


Figure 77 : Illustration de la nature de l'écoulement selon le nombre de Reynolds ( $Re$ ). a) Écoulement en régime laminaire  $Re < 1000$  ; b) Écoulement en régime turbulent  $> 1000$   $Re$ . Dans la figure, «  $d$  » représente le diamètre du micro canal [22].

En dehors des mélangeurs classiques à diffusion simple, depuis les débuts de la microfluidique vers 1999 et jusqu'à présent, plusieurs solutions ont été proposées pour améliorer le rendement du processus de mélange à l'échelle micro. Les solutions proposées mettent essentiellement en œuvre un mélangeur de nature physique. Si une force externe doit être appliquée pour perturber la cinétique d'écoulement du liquide alors il s'agit d'un mélangeur actif. Par contre, si le

mélangeur ne contient pas de parties mobiles et ne nécessite pas l'apport d'énergie externe supplémentaire à la pression d'écoulement du fluide, alors il s'agit d'un mélangeur passif [23]. Bien que chacun des types de mélangeurs ait ses avantages et ses inconvénients, pour ces travaux de thèse n'ont été pris en considération que les mélangeurs de type passif, puisqu'ils n'ont pas besoin d'une force externe pour effectuer le mélange. En effet, des mélangeurs actifs tels que ceux utilisant des ondes acoustiques, ultrasoniques ou magnétiques par exemple, nécessitent des générateurs d'ondes de taille non négligeable, ce qui peut devenir encombrant/problématique dans l'avenir pour la miniaturisation de l'ensemble du montage microfluidique [24].

#### **4.1.1. Description des systèmes de mélange de type passif**

Les mélangeurs de ce type sont des dispositifs ayant des canaux micro-fluidiques fabriqués avec une forme et/ou une structure irrégulière, ce qui modifie la direction et la vitesse de l'écoulement des réactifs passant à travers celui-ci, et en conséquence augmente les contacts entre eux. Imposer une structuration physique aux micro-canaux dès l'étape de fabrication implique, d'une part, qu'après fabrication le seul paramètre permettant de contrôler le degré de mélange est la variation du débit d'écoulement des réactifs en question et, d'autre part, que l'utilisateur n'a pas la possibilité de mettre en arrêt le mélange ou de l'activer sur demande. Cependant, un des bénéfices majeurs de ce type de mélangeurs est la rigidité du système, puisque l'absence de pièces mobiles rend les opérations simples et répétables [25]. De plus, son intégration dans des applications en microfluidique est possible lorsqu'une activation sélective du mélangeur n'est pas nécessaire. Les mélangeurs de type passif, sans compter les mélangeurs par diffusion simple, peuvent être regroupés dans deux catégories différentes : les mélangeurs par advection laminaire et les mélangeurs par advection chaotique.

##### ***4.1.1.1. Mélangeurs par advection laminaire***

Ce type de mélangeurs est le plus classique en microfluidique, son principe d'application est normalement divisé en deux étapes. La première étape consiste à faire converger dans un même micro-canal deux écoulements différents afin d'assurer un contact maximal entre les deux fluides. Dans un deuxième temps une diffusion moléculaire a lieu entre les deux espèces. Dans ce type de dispositifs, l'efficacité de mélange peut être augmentée par la longueur du micro-canal (Figure 78), la surface de contact entre les effluents (Figure 79) et l'angle entre les coudes du micro-canal (Figure 80). L'objectif principal de ce type de systèmes est de prolonger le temps de contact et d'induire par inertie une force de cisaillement entre les fluides à mélanger, ce qui favorise le

transfert de matière par mouvement brownien tant qu'un gradient de concentration est présent entre les deux fluides [26].

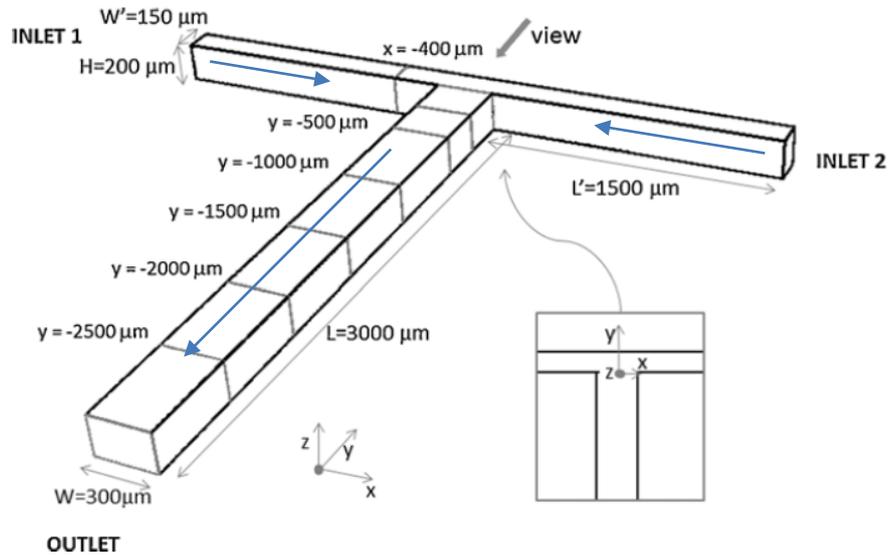


Figure 78 : Schéma d'un mélangeur à co-courant. Deux canaux à travers lesquels coulent deux réactifs différents constituent ce mélangeur, les réactifs rentrent en contact à l'intersection des canaux et sont mélangés par diffusion tout au long du trajet vers la sortie. Le temps de contact entre les fluides est déterminé par le débit et par la longueur du micro-canal [26].

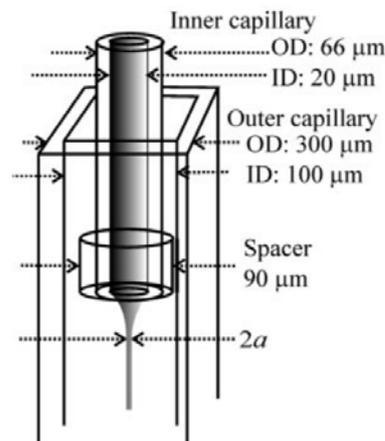


Figure 79 : Schéma d'un mélangeur à co-courant. Un liquide fluorescent contenu dans le capillaire interne est mélangé par écoulement coaxial d'une solution tampon qui l'entoure [27].

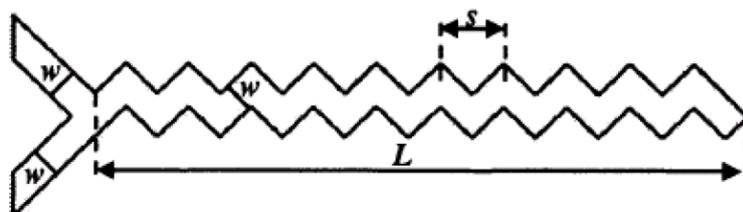


Figure 80 : Schéma d'un mélangeur en zigzag. Le système microfluidique intègre une fonction « Y » avec un canal en forme de zigzag pour augmenter les forces d'inertie et de cisaillement [28].

Une autre façon d'augmenter le taux de mélange entre les fluides consiste à séparer et recombiner les écoulements (Figure 15A – 15D ; Chapitre 1). Dans ce type de dispositifs, le mélange sera d'autant favorisé que le nombre d'intersections entre les canaux sera important. Le même principe peut être appliqué à l'étude d'une réaction chimique (Figure 81), où les canaux sont configurés de telle sorte que plusieurs réactifs peuvent être combinés de façon contrôlée, afin d'évaluer les différents rendements d'une réaction suivant les conditions de départ. Enfin, un dernier modèle de mélange par advection laminaire utilise une rotation du fluide à l'intérieur du canal (Figure 82), le fluide subit une rotation sur son axe de 90 degrés suivi d'un virage à 90 degrés pour aboutir à une séparation et à une recombinaison du fluide qui ont pour objectif de doubler la surface de contact interfaciale. Bien que les mélangeurs par advection laminaire permettent d'obtenir des taux de mélange plus importants que par diffusion simple, leur fonctionnement nécessite la fabrication de systèmes avec des géométries difficiles à réaliser et des modèles numériques pour le traitement de données très complexes.

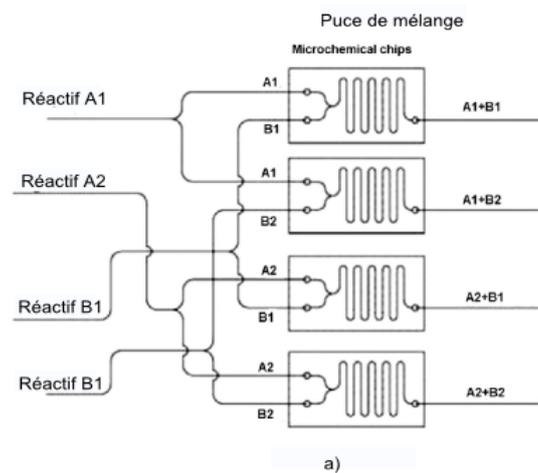


Figure 81 : Schéma d'un mélangeur à flux combiné. Système de réactions combinatoires utilisant des puces chimiques en parallèle [29].

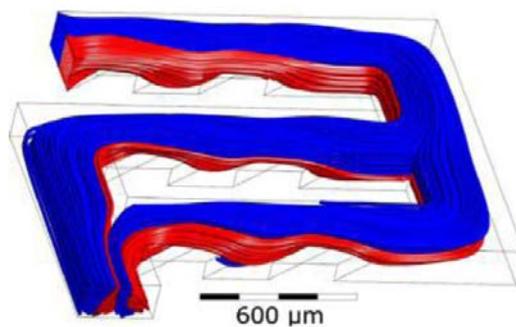


Figure 82 : Schéma d'un mélangeur à flux combiné. Le système de micro-mélange est constitué par la rotation de la géométrie du canal de 0 à 90 degrés suivie d'une séparation et recombinaison de canaux pour augmenter le taux de mélange [30].

#### 4.1.1.2. *Mélangeurs par advection chaotique*

Les mélangeurs par advection laminaire ont l'inconvénient de dépendre principalement de la longueur du micro-canal, celle-ci étant assez importante, pour assurer un temps de mélange optimal. Pour réduire cette longueur, au lieu d'avoir un écoulement laminaire stable, les mélangeurs chaotiques sont pourvus d'éléments internes capables de déstabiliser l'écoulement des fluides afin d'ajouter un transport latéral des flux, ce qui raccourcit les distances nécessaires pour le mélange.

Les microsystemes de mélange par advection chaotique ont pour principe l'usage de canaux à géométrie atypique qui sont également dotés d'un élément interne capable d'induire une perturbation à la direction de l'écoulement. Sur ce principe, des systèmes de mélange à canaux intersectés (Figure 15E; Chapitre 1) ont été développés où un écoulement principal est intersecté par plusieurs écoulements secondaires générant ainsi une force de résistance qui favorise le mélange. La génération de forces de résistance à l'écoulement pour créer des zones de micro-mélange est une technique qui a également été reprise pour les systèmes de mélange à canaux convergents-divergents (Figure 83 et 84). Dans ce type de systèmes, deux fluides coulant dans un micro-canal sont fractionnés au moment du passage par un élément obstruant pour être ensuite réinjectés à contrecourant, ce qui facilite le contact interfacial entre les deux fluides. L'efficacité du mélange sera alors donnée par le nombre d'étapes de divergence-convergence présentes dans le microsysteme.

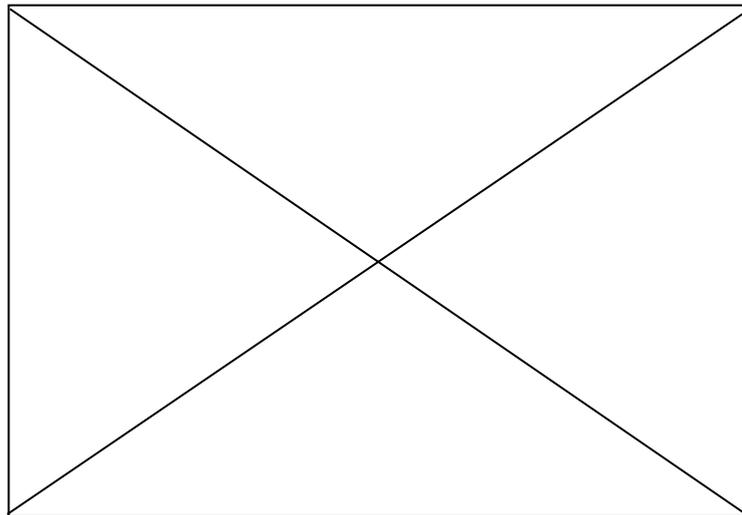


Figure 83 : Schéma d'un mélangeur à canaux convergents-divergents. Le système de micro-mélanges à fraction-recombinaison présente une asymétrie planaire (P-SAR) ainsi que des déformations dans les canaux [31].

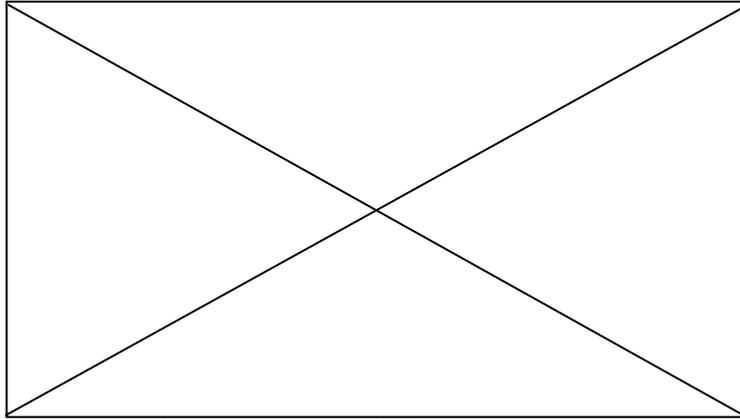


Figure 84 : Schéma du micro-mélangeur à canaux convergents-divergents. L'étranglement entre 2 « chambres rondes » sert à favoriser la formation de zones de micro mélange [32].

Comme expliqué précédemment, le mélange par advection chaotique peut être obtenu en faisant apparaître dans le micro-canal une force de résistance à l'écoulement. Dans les derniers exemples cette résistance est générée à partir d'un choc entre deux fluides rentrant en contact. Cependant, il existe d'autres dispositifs dont la géométrie oblige l'écoulement à faire des changements brutaux lors de son passage par le micro-canal. Parmi ce type de dispositifs peuvent être cités :

- le mélangeur à canaux structurés en trois dimensions (Figure 85),
- le mélangeur à chevrons échelonnés (Figure 86) où des figures géométriques ont été extrudées vers l'extérieur du micro-canal,
- le mélangeur à barrières (Figure 87) où une série de barrettes occupe partiellement l'intérieur du micro-canal,
- le mélangeur à canaux torsadés (Figure 88) où deux micro-canaux à géométrie rectangulaire sont intersectés sur un axe de rotation pour former une structure en spirale,
- le mélangeur à puits inclinés (Figure 89) où une série de puits sont placés le long du micro-canal pour favoriser le mélange,
- le mélangeur à structure de Tesla (Figure 90), où le fluide doit passer par un micro-canal à géométrie asymétrique suivant un motif de valve de Tesla.

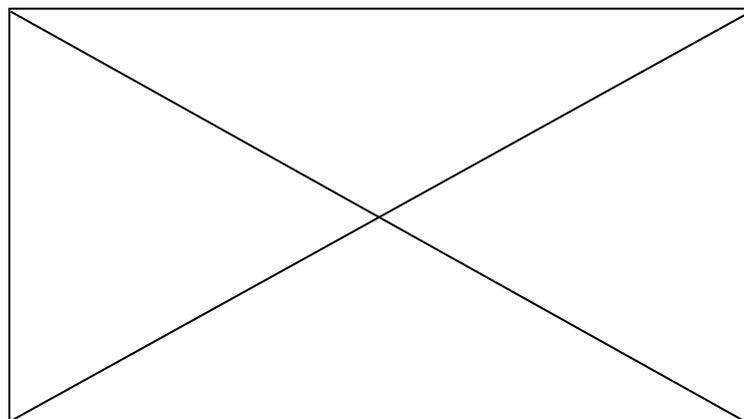


Figure 85 : Schéma d'un micro-canal avec géométrie tridimensionnelle [33].

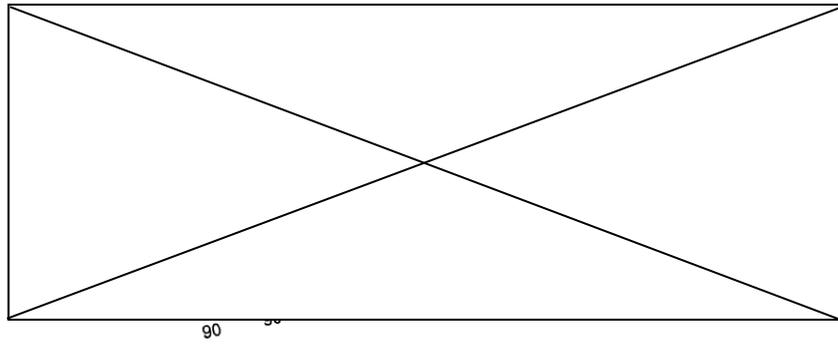


Figure 86 : Schéma d'un mélangeur à chevrons échelonnés. Dans ce système le canal de mélange présente des chevrons avec deux géométries différentes pour favoriser le taux de mélange [33].

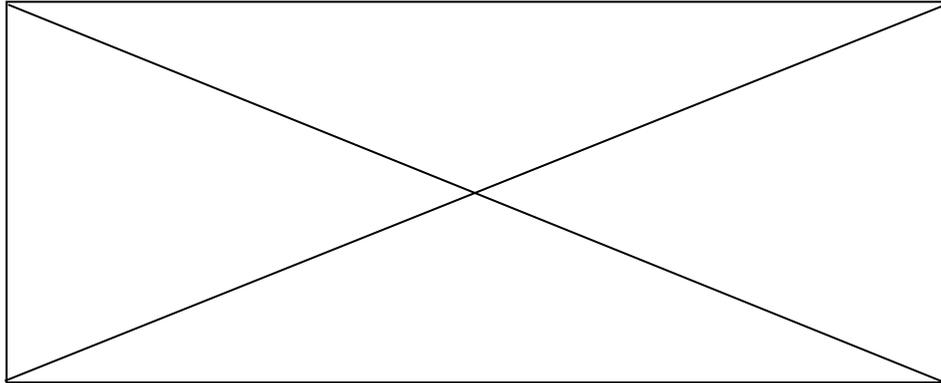


Figure 87 : Schéma d'un mélangeur à barrières incorporées. Dans ce système le canal de mélange présente des protubérances distribuées à intervalle défini présentant une géométrie asymétrique par rapport au sens de l'écoulement [34]

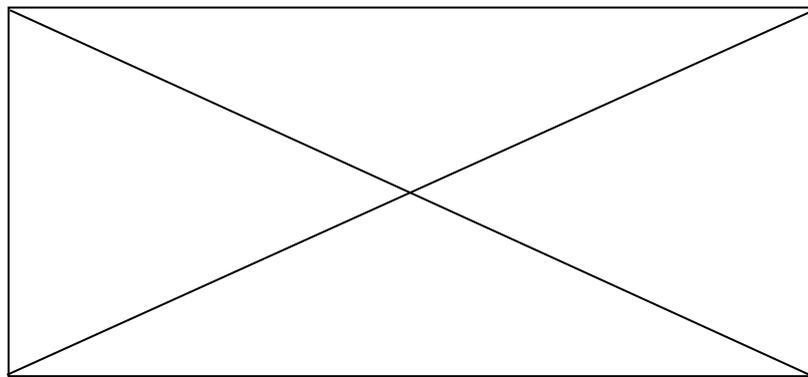


Figure 88 : Schéma d'un mélangeur à canaux torsadés. Deux canaux intersectés sur un axe de rotation pour former une structure en spirale [35].

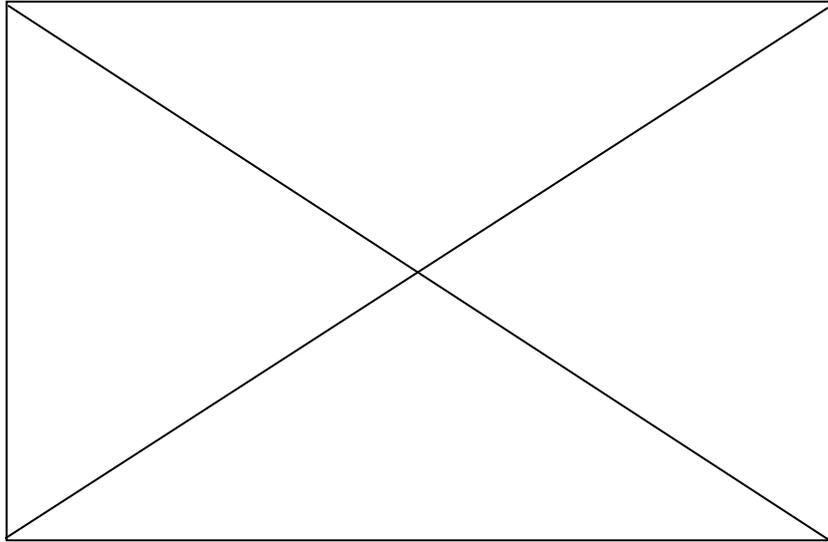


Figure 89 : Schéma d'un mélangeur à puits inclinés. Image obtenue par microscopie à champ clair, les puits interrompent l'écoulement à travers le canal, ce qui force le contact entre les réactifs de départ [36].

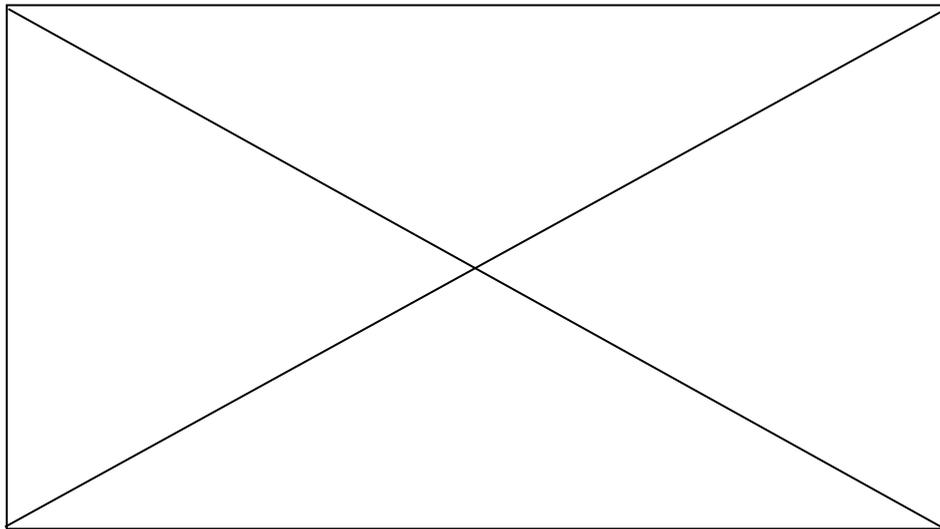


Figure 90 : Schéma d'un micro-mélangeur avec une structure de Tesla [37].

Un inconvénient majeur des mélangeurs par advection chaotique est la formation de zones de stagnation de fluide, puisque l'accumulation de fluides vient perturber la cinétique du mélange de façon continue. De même, les zones de stagnation de fluide ralentissent le nettoyage du système et, le rinçage nécessite plusieurs fois le volume du micro-canal pour éviter une contamination croisée avec les réactifs précédents. Malgré la longueur réduite de ces micro-systèmes, par rapport aux mélangeurs par diffusion et par advection laminaire, la conception de micro-systèmes avec des formes géométriques atypiques reste un défi tant pour la fabrication des microstructures que pour l'adaptation de sa connectique aux micro-instruments du commerce. Pour éviter l'utilisation de canaux de grande longueur ou de canaux à structure géométrique variable, un nouveau type de mélangeur passif fonctionnant sur le principe de dispersion de Taylor-Aris est ici proposé.

#### 4.1.1.3. *Mélangeurs par dispersion*

Dans ses travaux publiés en 1953, Sir TAYLOR a utilisé une espèce soluble en solution aqueuse, pour démontrer que dans un temps très court ( $< 1$  seconde) il est possible de transporter cette solution tout au long d'un capillaire rempli d'eau uniquement par dispersion. Pour illustrer son principe de dispersion TAYLOR a fait deux expériences différentes :

- Dans la première expérience il a rempli un capillaire d'eau, et a ensuite laissé entrer une espèce colorée dans le capillaire pour qu'elle puisse disperser tout au long du capillaire. Il a ainsi pu observer que le résultat au transport dispersif était une diminution linéaire de la concentration de l'espèce colorée entre le début et la fin du capillaire. Comme détaillé dans le chapitre 3 section 2 de cette thèse, le principe de formation d'un gradient de concentration linéaire de Taylor a été utilisé pour effectuer des titrages volumétriques à l'échelle micro.
- Dans une deuxième expérience, il a tout d'abord rempli un capillaire d'eau et ensuite il a placé à l'entrée du capillaire un petit volume d'une espèce colorée, puis il a, à nouveau, laissé entrer de l'eau dans le capillaire pour que l'espèce colorée puisse être dispersée tout au long du capillaire. Par rapport à la première expérience, où le transport dispersif sans diffusion donnait lieu à un gradient de concentration linéaire, dans la deuxième expérience le profil de concentration observé pour l'espèce colorée est un plateau, indiquant que l'espèce a été distribuée de façon uniforme dans le capillaire (Figure 91).

Dans la deuxième expérience effectuée par TAYLOR, étant donné que l'espèce colorée occupait uniquement un petit volume du capillaire au départ et qu'après dispersion la solution au sein du capillaire était uniformément colorée, il pouvait être considéré que celle-ci avait été diluée de façon uniforme sur la longueur du capillaire. A l'instar de l'exploitation des résultats de la première expérience de TAYLOR pour effectuer les titrages volumétriques par dispersion, il est raisonnable d'envisager d'adapter les résultats de sa deuxième expérience pour réaliser des mélanges entre réactifs. De cette manière, il pourrait être possible de développer une méthode permettant la mesure d'acidité libre d'échantillons d'acide nitrique contenant de cations hydrolisables dans des capillaires microfluidiques.

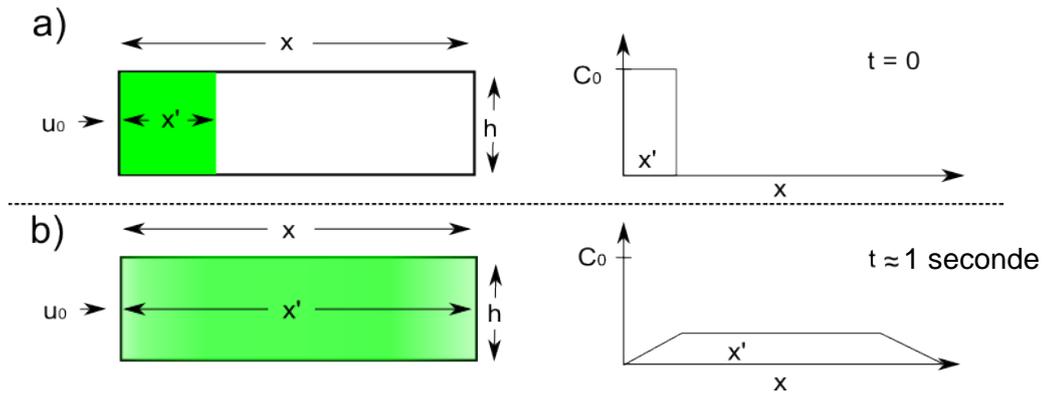


Figure 91 : Schéma de la dispersion d'un créneau d'une espèce colorée selon le principe de dispersion de Taylor. a) à gauche : un « créneau » de longueur «  $x'$  » d'une espèce colorée est placé à l'entrée d'un capillaire pré-rempli avec de l'eau ; à droite : profil de concentration de l'échantillon à  $t=0$ . b) à gauche : l'espèce colorée est dispersé à une vitesse «  $u_0$  » pendant un temps inférieur à 1 seconde ; à droite : profil de concentration de l'espèce colorée après dispersion.

#### 4.1.2. Conclusion pour les systèmes de mélange de type passif

Les microsystèmes de mélange par advection laminaire ou par advection chaotique sont constitués de canaux de grande longueur ou de canaux à structures géométriques variables, ce qui complique le processus de fabrication des microsystèmes (selon la technique et le matériau de fabrication). Dans ce type de micro-mélangeurs, le temps et la surface de contact entre les réactifs sont augmentés par le placement de coudes sur de longues trajectoires du canal, ou bien par la séparation et la recombinaison des fluides en plusieurs écoulements parallèles, ou bien par l'augmentation de la longueur du capillaire ou encore par la modification de la géométrie interne du micro-canal de mélange, ce qui assure un taux de mélange inhérent à chacune des géométries décrites dans la section antérieure et pour lesquelles une vitesse d'écoulement est définie. Par rapport aux systèmes décrits précédemment, le mélangeur par dispersion qui a été proposé pourrait permettre de faire des mélanges de réactifs ou de solvants en utilisant des micro-canaux simples à fabriquer. Puisque le micro canal utilisé pour les mélanges peut être un simple capillaire, la détection optique des espèces circulant dans celui-ci ainsi que le traitement de données associées à cette opération se verrait simplifié. De plus, la géométrie simple du canal de mélange permettrait de l'utiliser soit en tant que mélangeur, soit comme un simple canal de transport de fluide, ce qui rend le système flexible et permet de l'ajouter en amont ou en aval d'une autre opération microfluidique. Par rapport aux microsystèmes ayant des géométries de canaux complexes, le mélangeur à micro-canal cylindrique minimise la perte de charge propre à l'écoulement d'un fluide dans un canal. Enfin, le mélange par dispersion étant une opération semi-continue, il est complètement envisageable de contrôler le temps de résidence des fluides à l'intérieur du micro-canal, aspect très utile pour l'étude de réactions chimiques entre deux ou plusieurs réactifs. Aux vues de tous ces avantages, la section suivante est consacrée à nos travaux

de développement, expérimentation et innovation centrés sur les microsystèmes de mélange à dispersion pour développer un nouveau micro mélangeur de type passif.

#### **4.2. Etude de faisabilité et développement d'un micro-mélangeur par dispersion**

L'étude bibliographique a permis de déterminer qu'il serait avantageux de pouvoir effectuer des mélanges dans des capillaires par dispersion. C'est pourquoi cette section sera centrée sur une étude de faisabilité en vue du développement d'un nouveau micro-mélangeur de type passif. Cette étude a débuté par une analyse théorique du principe de dispersion de TAYLOR appliqué au processus de mélange d'un échantillon. Ensuite, les modifications qu'il faudrait faire au montage expérimental décrit dans le chapitre 3 section 2.2 de ce document ont été analysées, afin de pouvoir effectuer les mélanges par dispersion. Enfin, une démarche expérimentale a été entreprise afin de démontrer qu'il est effectivement possible d'utiliser le montage proposé en tant que micro-mélangeur de type passif.

##### **4.2.1. Analyse théorique de la faisabilité de mélanges par dispersion**

Comme expliqué dans le chapitre 3 section 4.1.1.3 (Figure 83), TAYLOR a démontré en deux expériences qu'il est possible de disperser une espèce soluble le long d'un capillaire. Pendant la première des expériences, TAYLOR a réussi à former un gradient de concentration linéaire. Dans la deuxième expérience, il a réussi à mélanger deux réactifs de façon à obtenir un mélange de concentration constante le long d'un capillaire droit. Dans ces deux expériences le même phénomène dispersif a été appliqué, permettant de visualiser une variation linéaire de la fraction volumique des réactifs contenus dans le capillaire. Néanmoins, dans la deuxième expérience le bilan global des espèces contenues dans le capillaire est différent puisqu'à différence de la première expérience, où le capillaire est rempli d'une seule espèce avant l'étape de dispersion, cette fois-ci à l'intérieur du capillaire il y a deux réactifs avant l'étape de dispersion. D'un côté le capillaire est rempli de réactif A, et d'un autre côté une petite portion du capillaire est occupée par le réactif B, qui est placé à l'entrée du capillaire à une très faible pression afin que son profil de concentration reste « plat » à l'interface avec le réactif A. De cette manière, étant donné que l'étape de dispersion consiste à injecter du réactif A à haute vitesse, pour faire le bilan des espèces présentes dans le capillaire après dispersion, il faut d'abord calculer la fraction volumétrique totale de réactif A dans le capillaire, consistant dans la somme du réactif A présent avant dispersion, plus le réactif A injecté pendant l'étape de dispersion. Ensuite, la fraction volumétrique de B peut être déduite par différence grâce à la loi de conservation de la matière (Figure 92). Le résultat du bilan matière est un « plateau » (la concentration reste constante) de

longueur  $L$  (longueur du gradient), moins la longueur du volume de réactif B placé initialement à l'entrée du capillaire. L'aspect le plus important de ce type de mélange est que la fraction volumétrique du réactif B après l'étape de dispersion, est entièrement corrélée à la longueur du gradient de concentration, et à la longueur du capillaire occupé par le réactif B avant dispersion.

L'aspect le plus important et intéressant pour notre étude concerne la relation entre la longueur du capillaire occupée par le réactif B avant dispersion et le facteur de dilution obtenu après l'étape de dispersion du réactif A. Par exemple, si la longueur du capillaire occupée par le réactif B avant dispersion est 5 fois plus petit que la longueur du gradient, alors la fraction molaire du réactif B dans le plateau sera 1/5 du réactif A, ce qui équivaut à diluer 5 fois le réactif B. En d'autres termes, le processus de dispersion par mélange est modulable et un seul système permettrait d'obtenir plusieurs rapports de dilution entre deux ou plusieurs réactifs. Après l'analyse théorique des mélanges par dispersion, une phase d'adaptation du montage microfluidique pour la mise en œuvre du premier micro mélangeur par dispersion a été menée.

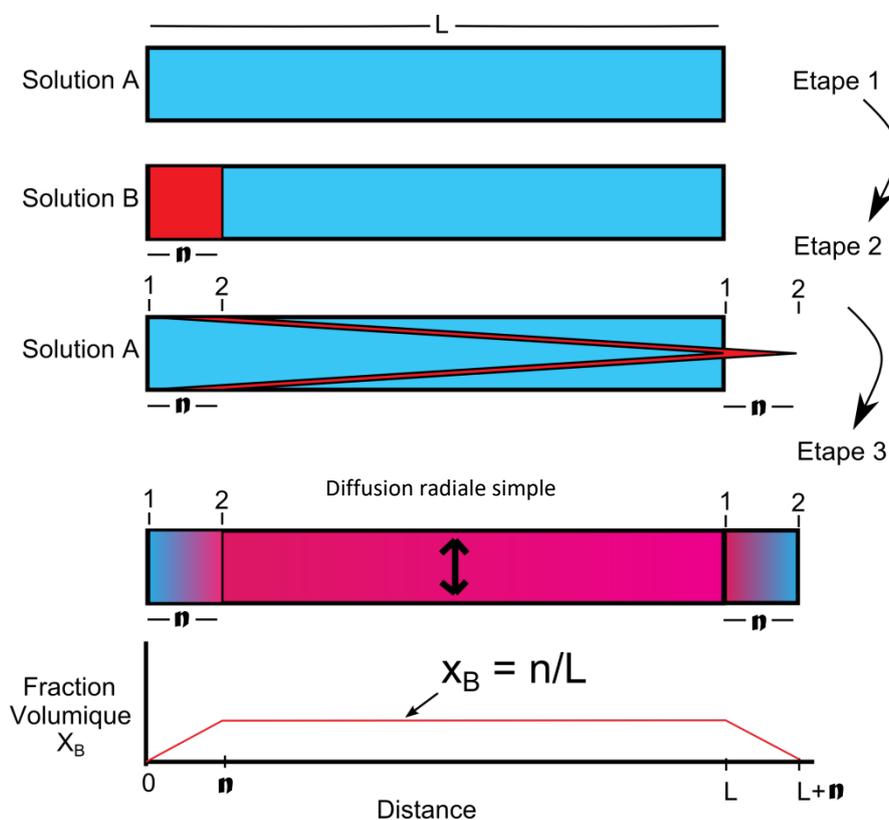


Figure 92 : Interprétation généralisée de l'expérience de TAYLOR pour le mélange homogène d'une espèce colorée par dispersion. Est ici représentée la dispersion d'un réactif B dans un réactif A. Etape 1) Remplissage du capillaire avec le réactif A et insertion d'un volume fixe de réactif B à l'entrée du capillaire ; Etape 2) Dispersion du réactif B par une injection rapide de réactif A ; Etape 3) Homogénéisation du mélange par diffusion axiale simple. Le rapport de dilution entre les deux réactifs est proportionnel au coefficient  $n/L$ , où «  $L$  » est la longueur du gradient et «  $n$  » la longueur occupée par le réactif B.

#### 4.2.2. Développement d'un montage expérimental permettant de réaliser des mélanges homogènes par dispersion

Comme nous l'avons vu précédemment, pour effectuer un mélange dans un canal microfluidique par dispersion selon la méthode décrite par Taylor, il est primordial de pouvoir introduire un volume de réactif B sans déformation. En effet, pour atteindre un mélange de concentration constante et donc homogène sur la longueur du capillaire (correspondant à un profil de concentration des réactifs en forme de plateau sur la Figure 92), il est indispensable que le créneau de réactif B injecté dans le capillaire ait une concentration constante sur la longueur du créneau. Lors de ses travaux, TAYLOR a réussi à placer le réactif B à l'entrée du capillaire en le faisant couler à faible vitesse pour ne pas modifier le front plat du volume de réactif B lors du déplacement. Pour adapter cette stratégie à notre montage microfluidique (décrit dans le chapitre 3 section 2.2) il faut environ 25 min (correspondant à une vitesse de 0,8 millimètres par minute) pour réussir à placer 2 cm de réactif B dans le capillaire sans déformer son front. Bien que la procédure proposée par TAYLOR permette de placer n'importe quel volume de réactif B à l'entrée du capillaire, ce qui offre la possibilité de changer le rapport de dilution Réactif A / Réactif B sur mesure, la procédure mise en place est lente et n'est pas en accord avec le cahier de charges de la méthode analytique rédigé à partir des besoins d'AREVA.

Pour s'affranchir de l'effet de dispersion lié à l'injection dans le tube, il a été envisagé d'utiliser une approche se rapprochant d'une boucle d'injection de volume fixe montée en ligne sur le capillaire de mélange. A cet effet, un capillaire de 5 cm monté sur la vanne multiposition VM2 est connecté au capillaire de mélange par le biais d'une vanne à trois voies notée VT1 (Figure 93 ; 94). Ce montage permet de charger les 5 cm rapidement ( $t < 5$  secondes) le capillaire de réactif B à l'entrée du capillaire. D'un point de vue de la séquence cela est réalisé en ouvrant la vanne VT1 (figure 93) en position E1-S2 pour remplir les 5 cm du capillaire entre VM2 et VT1 avec le réactif B. Ensuite, la vanne VT1 sera ouverte en position E1-S1 pour mettre l'échantillon en ligne avec le capillaire de mélange et faire le mélange par dispersion. Contrairement à la procédure d'injection du réactif B à faible débit permettant d'injecter des volumes variables d'échantillon, ce montage présente un volume (et longueur) fixe de réactif B. En effet, avec ce montage la longueur du capillaire occupé par le réactif B est fixe (5 cm), et la longueur maximale sur laquelle le réactif A peut-être dispersé est de 24 cm, le facteur de dilution maximal qui peut être atteinte avec ce montage microfluidique est donc de 4,8 fois.

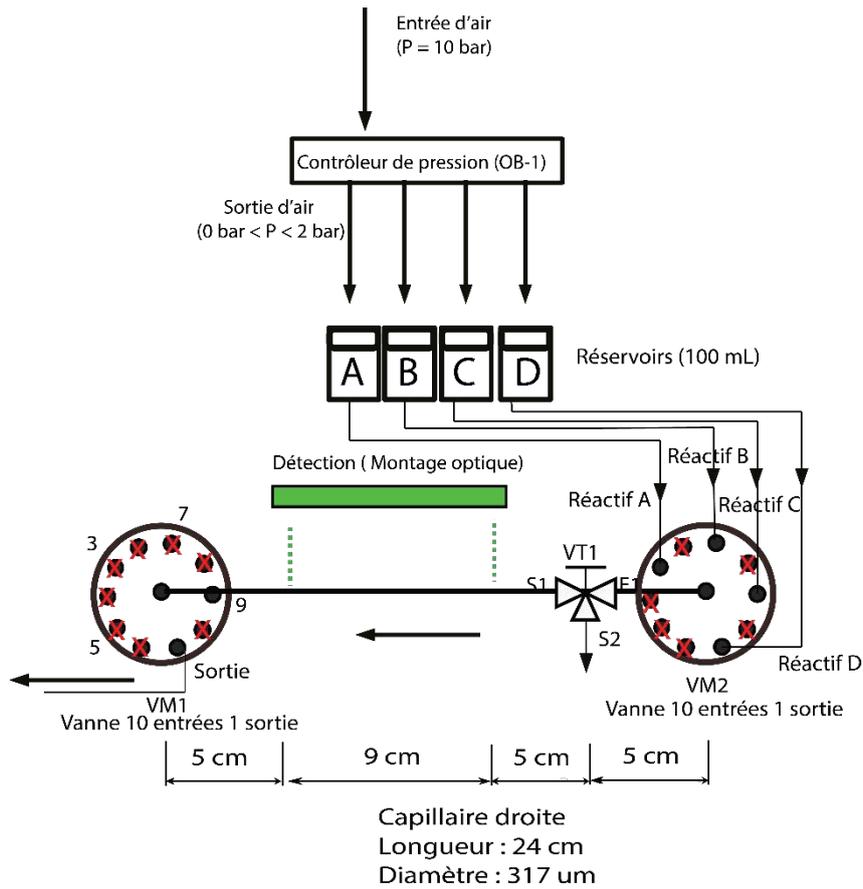


Figure 93 : Schéma du nouveau montage expérimental permettant le mélange par dispersion. VM1 et VM2) Vanne multi-position avec 10 entrées « 1-10 » et 1 sortie (au centre de la vanne), la moitié des entrées ont été bouchés pour chaque vanne. VT1) Vanne à trois voies

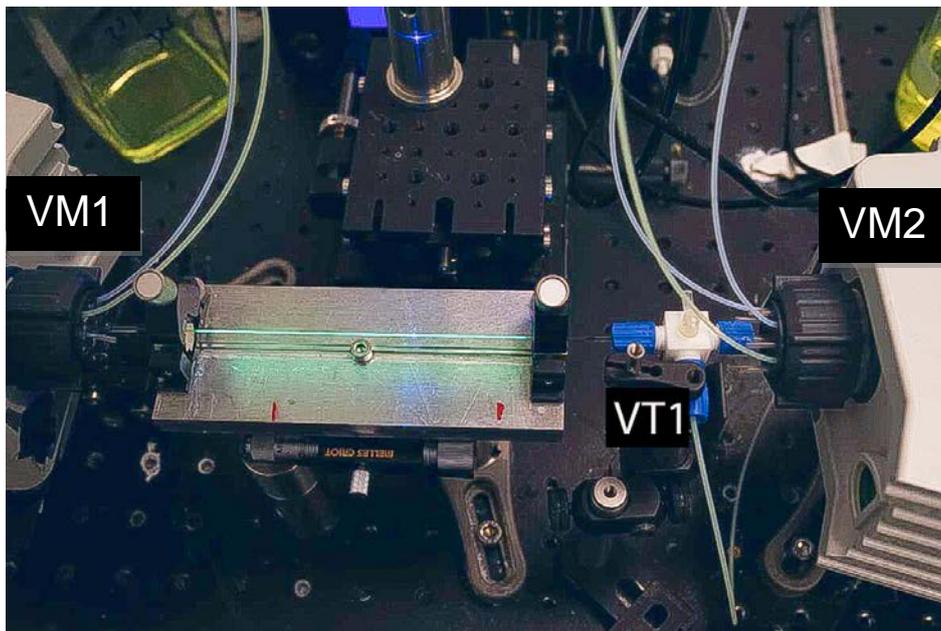


Figure 94 : Photo du nouveau montage expérimental permettant le mélange par dispersion. VM1 et VM2) Vanne multi-position avec 10 entrées « 1-10 » et 1 sortie (au centre de la vanne). VT1) Vanne à trois voies avec actionneur manuel.

### 4.2.3. Mise en œuvre du premier micro-mélangeur par dispersion

En utilisant le montage expérimental décrit dans la section précédente, une séquence microfluidique a été mise en place permettant d'effectuer un gradient de concentration linéaire pour effectuer le premier mélange par dispersion. Ce développement implique de déterminer au préalable la longueur du gradient ainsi que la calibration du système optique. Ce paramètre a été estimé en suivant la procédure décrite dans le chapitre 3 section 4.2.1. En effet, le rapport entre la longueur du capillaire occupée par le gradient de concentration et la longueur du capillaire occupé par le réactif B avant dispersion est utile pour calculer le facteur de dilution du mélange par dispersion. La procédure de calibration du système optique détaillée dans le chapitre 3 section 3.2 a été réutilisée, afin d'obtenir pour chaque pixel de la caméra CCD, une droite d'étalonnage reliant le signal de fluorescence à une concentration en fluorescéine spécifique. Il faut mentionner que, par rapport à la calibration optique effectuée dans la section 3.2, la concentration de la fluorescéine a été augmentée de  $200 \mu\text{mol L}^{-1}$  à  $500 \mu\text{mol L}^{-1}$  pour compenser la réduction du temps d'intégration de la caméra CCD, passant de 50 à 10 millisecondes. La réduction du temps d'intégration permet d'obtenir une image de la fluorescence plus nette. La définition d'une séquence permettant d'utiliser le montage microfluidique (Figure 93) pour former un gradient de concentration linéaire a ensuite, sur ces bases été réalisée :

1. Ouverture de la vanne trois voies VT1 dans la direction E1-S1 afin de remplir tout le capillaire avec une solution A contenant  $1 \text{ mol L}^{-1}$  de NaOH sans fluorescéine.
2. Ouverture de la vanne trois voies VT1 dans la direction E1-S2 afin de remplacer le contenu du capillaire entre VM2 et VT1 (5 cm) par une solution B contenant  $1 \text{ mol L}^{-1}$  de NaOH et  $500 \mu\text{mol L}^{-1}$  de fluorescéine.
3. Ouverture de la vanne trois voies dans la direction E1-S1, afin d'injecter la solution B pour former un gradient de concentration linéaire étalé sur le capillaire entre VM1 et VT1 (19 cm).

Les paramètres de la séquence (pression d'injection des réactifs, temps d'ouverture des vannes) ont été ensuite optimisés jusqu'à l'obtention d'un gradient de concentration linéaire (Tableau 19).

Tableau 18 : Séquence microfluidique optimisée pour la formation d'une mélange par dispersion dans un capillaire de 317  $\mu\text{m}$  de diamètre interne et 240 mm de longueur.

No. Étape	Description de l'étape	Pression réactif (mbar)	Vanne multi position 1 (VM1)	Vanne multi position 2 (VM2)	Vanne trois voies (VT1)	Temps (s)
1	Remplissage du capillaire entre VM1 et VT1 (19 cm) avec le Réactif A ; $[\text{NaOH}] = 1 \text{ mol L}^{-1}$	500	Ouverte vers réactif A	Ouverte vers sortie	Position E1-S1	10
2	Remplissage du capillaire entre VT1 et VM2 (5 cm) avec le Réactif B ; $[\text{NaOH}] = 1 \text{ mol L}^{-1}$ dopé avec $[\text{NaF}] = 500 \mu\text{mol L}^{-1}$ pour former le gradient	350	Ouverte vers réactif B	Ouverte vers sortie	Position E1-S2	10
3	Dispersion du réactif A dans le réactif B pour former un gradient de concentration linéaire et donc faire le mélange par dispersion sur le capillaire entre VM1 et VT1	480	Ouverte vers réactif A	Ouverte vers sortie	Position E1-S1	0,8
4	Homogénéisation du mélange radialement et mesure optique	0	Fermé	Fermé		20

Après optimisation, le gradient de concentration obtenu s'étale sur 16 cm de longueur à partir de la sortie de la vanne à trois voies VT1 vers VM1. Cette valeur a été obtenue de la même façon que dans le chapitre 3 section 3.2, où une régression linéaire sur la portion du gradient de concentration imagé par la caméra CCD a été faite, pour ensuite extrapoler la droite calculée jusqu'au point de début et de fin du gradient (respectivement concentration de fluorescéine de 500  $\mu\text{mol L}^{-1}$  et de 0  $\mu\text{mol L}^{-1}$ ) (Figure 95).

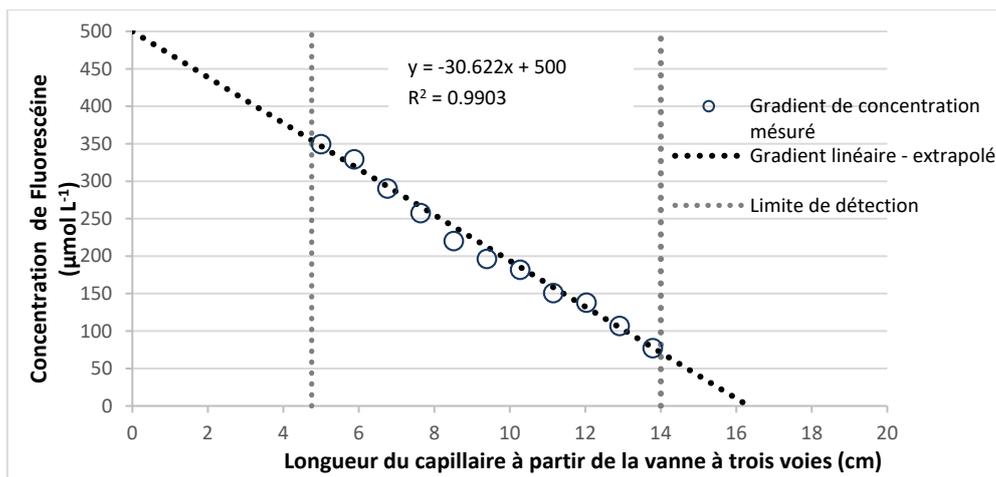


Figure 95 : Graphique montrant la portion du gradient de concentration visualisée par la caméra CCD et son extrapolation afin d'estimer la longueur totale du gradient. Les valeurs tracées correspondent à la concentration de fluorescéine en fonction de la longueur du capillaire. Les valeurs ont été obtenues par le traitement du signal de fluorescence brut mesuré avec la caméra CCD, en utilisant une droite d'étalonnage reliant la fluorescence enregistrée à une concentration en fluorescéine spécifique.

La séquence optimisée pour la formation du gradient de concentration a ensuite été utilisée pour faire le mélange par dispersion. Pour cette étude modèle, le mélange concerne la dilution d'une solution de fluorescéine. La solution B a donc été remplacée, dans la troisième étape de la séquence (Tableau 19 ; étape 3), par la solution A contenant  $1 \text{ mol L}^{-1}$  de NaOH et sans fluorescéine.

L'exploitation des résultats concerne d'une part l'estimation du facteur de dilution du réactif B après le mélange par dispersion ainsi que la vérification de l'homogénéité de la solution après mélange. Pour ce faire le rapport entre la longueur du gradient et la longueur du capillaire occupée par la réactif B a été calculé. Dans le montage expérimental, la longueur du capillaire occupée par la réactif B avant dispersion est égale à 5 cm et la longueur du gradient utilisé pour la dispersion a été estimée à 16,3 cm. Théoriquement, le réactif B doit être dilué 3,3 fois ( $16,3/5 \approx 3,3$ ) dans le réactif A. Pour vérifier ce facteur de dilution, le signal brut du réactif B ayant une concentration initiale de fluorescéine de  $500 \text{ µmol L}^{-1}$  a été comparé avec le signal brut du réactif B après dilution. Etant donné que la concentration de fluorescéine attendue après dilution est de  $151,5 \text{ µmol L}^{-1}$  ( $500/3,3 \approx 151,5$ ), le signal brut du réactif B ayant une concentration initiale de fluorescéine de  $150 \text{ µmol L}^{-1}$  (Figure 96) a également été représenté sur le graphique pour comparaison.

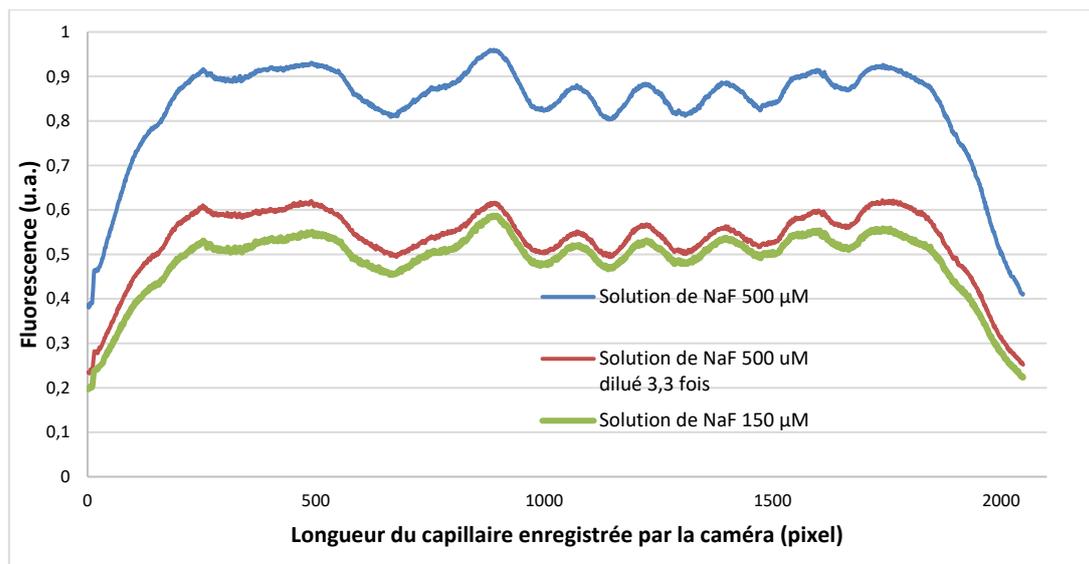


Figure 96 : Graphique montrant le signal de fluorescence brut imagé par la caméra CCD avant et après un mélange par dispersion. Les valeurs tracées correspondent au signal brut d'une solution étalon de  $1 \text{ mol L}^{-1}$  de NaOH dopée avec de  $500 \text{ } \mu\text{mol L}^{-1}$  (trait bleu) et  $150 \text{ } \mu\text{mol L}^{-1}$  (trait vert) de fluorescéine de sodium. Les valeurs ont été comparées avec le signal brut d'une solution de NaOH ( $1 \text{ mol L}^{-1}$ ) dopée avec  $500 \text{ } \mu\text{mol L}^{-1}$  de la fluorescéine de sodium diluée 3,3 fois par dispersion. Dans cette solution, la concentration de fluorescéine attendue après la dilution est de  $151,5 \text{ } \mu\text{mol L}^{-1}$ . Diamètre interne du capillaire =  $317 \text{ } \mu\text{m}$

Nous pouvons donc constater que, sur le graphique, le signal brut de la fluorescéine diluée se rapproche de celui de la fluorescéine à  $150 \text{ } \mu\text{mol L}^{-1}$ , ce qui prouve que le réactif B a été dilué conformément aux attentes. Ce résultat apporte la preuve de faisabilité de la réalisation des mélanges par dispersion. Il est cependant à noter qu'il y a un écart visible entre la solution de référence diluée 3,3 fois et la solution obtenue par le mélangeur microfluidique développé. Cet écart concerne les signaux bruts. De façon à traduire les signaux en concentration, les droites d'étalonnage du montage optique ont donc été utilisées. Ceci permet de comparer les valeurs de concentration de fluorescéine localement dans le canal de mélange après dilution. La comparaison avec la valeur théorique calculée de  $151,5 \text{ } \mu\text{mol L}^{-1}$  est présentée Figure 97. De cette façon, la concentration moyenne de la fluorescéine après dilution est estimée à  $160 \text{ } \mu\text{mol L}^{-1}$ , ce qui permet de calculer que l'erreur relative maximale de la mesure expérimentale par rapport à la théorie est de 5,6 %. En effet, pour le calcul de l'erreur il est pris comme référence un facteur de dilution théorique qui est basé uniquement sur la longueur du gradient de concentration et de la portion du capillaire occupé initialement par la fluorescéine. Cela veut dire que l'écart entre l'expérimentation et la théorie se verrait diminué si, pour le calcul du facteur de dilution théorique, ils étaient aussi considérés les différentes sources de perturbations au gradient formé. Celles-ci provenant principalement du passage des fluides par les différentes vannes montées dans le système. Tout de même, il est observé que la concentration locale de fluorescéine après dilution est plus importante à l'entrée et à la sortie du capillaire et légèrement plus faible au centre. Il semble donc indispensable de faire une étude complémentaire sur l'influence des vannes sur l'homogénéité de la solution distribuée au long du capillaire.

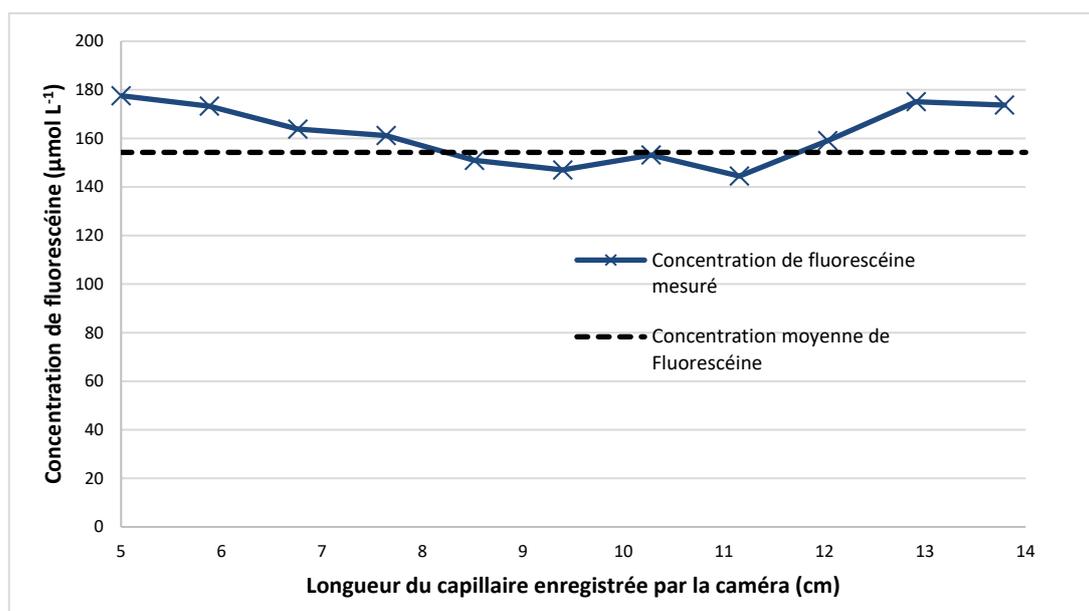


Figure 97 : Graphique montrant la concentration de la fluorescéine contenue dans la portion du capillaire imagé par la caméra CCD lors d'un mélange par dispersion. Les valeurs ont été obtenues par le traitement du signal de fluorescence brute imagée par la caméra CCD, en utilisant une droite d'étalonnage reliant la fluorescence imagée à une concentration en fluorescéine spécifique. Les valeurs tracées correspondent à la concentration d'une solution étalon de  $1 \text{ mol L}^{-1}$  de NaOH dopée avec  $500 \text{ } \mu\text{mol L}^{-1}$  de fluorescéine de sodium qui a été diluée 3,3 fois après dispersion. Dans cette solution, la concentration de fluorescéine attendue après la dilution est de  $151,5 \text{ } \mu\text{mol L}^{-1}$ , tandis que la concentration moyenne de la mesure est de  $161 \text{ } \mu\text{mol L}^{-1}$ . Diamètre interne du capillaire =  $317 \text{ } \mu\text{m}$

#### 4.3. Description d'une méthode permettant la mesure d'acidité d'échantillons d'acide nitrique contenant des cations hydrolysables

Dans le chapitre 3 section 3.4 a été présentée l'application du principe de dispersion de TAYLOR pour la mise en œuvre d'un titrage volumétrique à échelle micro. La technique en question, aussi appelé titrage ballist-mix, a été utilisée pour mesurer l'acidité de solutions d'acide nitrique dans un domaine compris entre  $1 - 2,5 \text{ mol L}^{-1}$  de façon répétable (RSD < 2%). Bien que le montage expérimental et la méthode associée mettent en œuvre des volumes de réactifs inférieurs à 1 mL, et que le temps par analyse soit de moins de 30 secondes, la méthode développée n'est adaptée qu'aux titrages volumétriques simples (réaction acido-basique). En effet, pour pouvoir effectuer la mesure d'acidité libre (par complexation des ions hydrolysables), il est nécessaire d'implémenter une étape afin de diluer l'échantillon d'acide nitrique chargé en actinides dans une solution d'oxalate de sodium avant le titrage volumétrique. Le développement d'un nouveau type de micromélangeur passif basé sur la dispersion de Taylor pouvant être intégré en ligne doit permettre d'étendre la gamme d'utilisation du système ballist-mix à la mesure d'acidité libre. Le montage expérimental doit être adapté pour permettre la mesure d'acidité libre d'échantillons d'acide nitrique chargés en uranyle. Pour rappel, l'intégration d'une étape de mélange et dilution

de l'échantillon avec une solution d'oxalate doit tenir compte des critères physicochimiques définis dans le chapitre 1 section 3 de la thèse, à savoir le maintien du pH du mélange à une valeur inférieure à 6. Cette gamme de pH garantit la complexation des cations hydrolysables par l'oxalate et permet d'éviter la formation de produits d'hydrolyse et de précipités. De plus, la méthode doit inclure une étape de dilution permettant l'obtention d'un rapport de concentrations  $[C_2O_4]^{2-} / [\text{cation d'uranyle}] \geq 5$  partout dans le mélange pour maximiser la quantité d'ions uranyle complexés. D'un point de vue méthodologique, la méthode d'analyse chimique sera simulée pour s'assurer de son bon fonctionnement et du respect des conditions précédemment citées. Comme il a été dit précédemment, l'avantage majeur du titrage et mélange ballist-mix est que grâce à la linéarité du profil de concentration des réactifs, il est facile de simuler leur concentration en fonction d'une position dans le capillaire. Ces simulations permettent de faire un bilan matière pour définir, avant la phase d'expérimentation, la gamme de concentration initiale des réactifs et leur fraction volumique dans le capillaire et estimer le degré de complexation des ions d'uranyle. Le plus important étant de déterminer la position dans le capillaire où le nombre de moles d'acide est égal au nombre de moles de la base. Cela implique que le mode de fonctionnement du titrage ballist-mix muni d'un micro-mélangeur reste toujours un titrage volumétrique.

Pour commencer le développement analytique, une méthode microfluidique permettant de doser l'acidité libre en 6 étapes a été proposée (Figure 98) :

- la vanne trois voies (VT1) est ouverte en position E1-S1 pour remplir le capillaire d'une solution saturée d'oxalate de sodium ( $0,27 \text{ mol L}^{-1}$ ).
- la vanne trois voies est ouverte en position E1-S2 afin de remplir d'échantillon le capillaire court L1 et laisser inchangé l'oxalate de sodium occupant le capillaire long L2.
- la vanne trois voies est ouverte en position E1-S1 pour faire le premier mélange par dispersion. Ainsi, l'échantillon contenu en L1 sera dispersé sur l'oxalate de sodium contenu dans le capillaire long L2 à l'aide d'oxalate rentrant dans le système par VM2. A la fin de cette étape, l'oxalate de sodium et l'échantillon seront dispersés le long du capillaire en moins d'une seconde.
- la vanne trois voies est ouverte en position E1-S2 afin de remplir le capillaire court L1 avec du NaOH dopé avec de la fluorescéine. Pendant ce temps, le mélange entre l'oxalate de sodium et l'échantillon s'homogénéise de façon radiale dans le capillaire.
- la vanne trois voies est ouverte en position E1-S1 pour faire le deuxième mélange par dispersion. Ainsi, la base dopée avec la fluorescéine contenue en L1 sera dispersée sur le mélange d'oxalate de sodium et d'échantillon contenu dans le capillaire long L2 à l'aide d'oxalate rentrant dans le système par VM2. A la fin de cette étape, l'oxalate de sodium, le NaOH, la fluorescéine et le mélange homogène d'échantillon et d'oxalate seront dispersés le long du capillaire en moins d'une seconde.

- Les vannes multi-positions VM1 et VM2 sont fermées afin de laisser homogénéiser les réactifs de façon radiale dans le capillaire. Finalement, après homogénéisation la détection optique est effectuée.

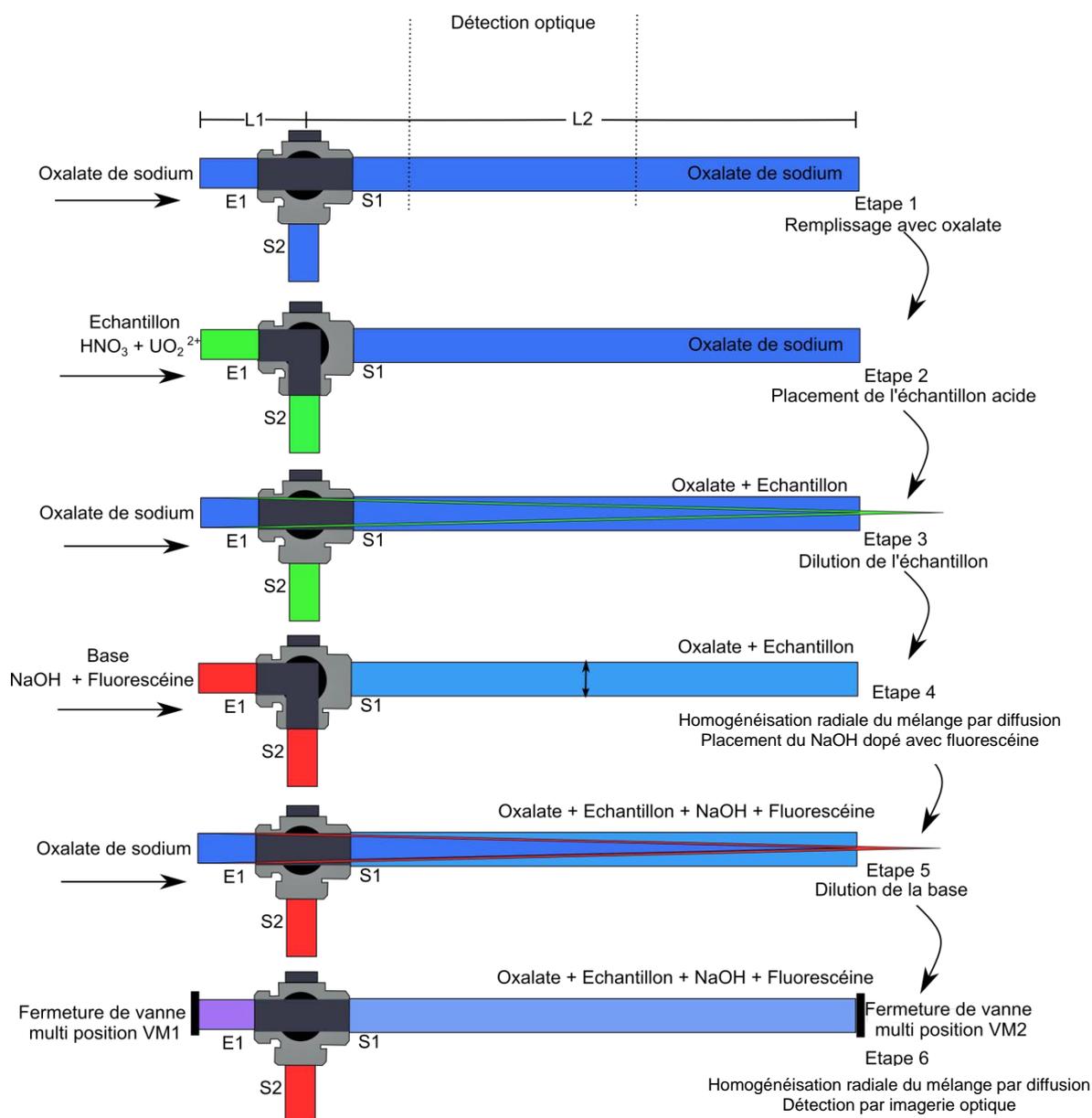


Figure 98 : Illustration de la séquence microfluidique adaptée à la mesure de l'acidité libre. Cette séquence a deux étapes de dispersion. L'étape numéro 3 où l'échantillon d'acide est dispersé sur une solution saturée d'oxalate de sodium et l'étape numéro 5 où la solution de NaOH contenant de la fluorescéine est dispersée sur le mélange résultant de l'étape numéro 3.

Pour se placer dans des conditions d'analyse adaptées, un bilan matière de chacune des étapes de la séquence microfluidique a été posé. Comme mentionné lors du développement du titrage ballist-mix simple (chapitre 3 section 3.3), cette modélisation est une étape importante car elle permet d'optimiser rapidement les concentrations des réactifs, afin de placer les points d'équivalence d'intérêt sur la partie imagée par la caméra. Cela reste vrai dans le cas du titrage de l'acidité libre, cependant pour ce dernier le bilan permettra également d'estimer le rapport de

concentration entre l'oxalate et les ions uranyle et, par conséquent il sera possible d'estimer avec CHESS le degré de complexation des ions uranyle autour du point d'équivalence chimique.

Cette méthodologie permet notamment de déterminer théoriquement les fractions volumiques de l'oxalate, de l'échantillon et de la base en fonction de la position dans le capillaire. Cette détermination permet de remonter à la concentration des éléments dans le capillaire. Pour ce calcul, le titrage d'échantillons d'acide nitrique (de concentration comprise entre 1 mol L<sup>-1</sup> et 3 mol L<sup>-1</sup>) chargés avec 1 mol L<sup>-1</sup> d'UO<sub>2</sub><sup>2+</sup>, dosés avec une base contenant 1 mol L<sup>-1</sup> de NaOH et 1 mmol L<sup>-1</sup> de NaF, et 0,27 mol L<sup>-1</sup> d'oxalate de sodium en tant que complexant des cations a été considéré. Cette première condition d'analyse ne semble pas répondre à tous les critères d'analyse selon les simulations. En effet, le montage expérimental et conditions présentés ne permettent pas une dilution suffisante dans la solution d'oxalate. Le facteur de dilution de l'échantillon dans l'oxalate n'est que de 3,3 au lieu de 5. C'est pourquoi, un nouveau bilan matière a été simulé afin de d'optimiser la longueur des capillaires L1 et L2 pour atteindre un rapport de dilution de 5 entre l'oxalate et l'uranyle à l'étape 6 de la séquence microfluidique (Figure 99 ; 100). Les conditions optimisées impliquent une réduction de la longueur du capillaire court de 5 cm à 3 cm, et une augmentation de la longueur du capillaire long de 19 cm à 30 cm.

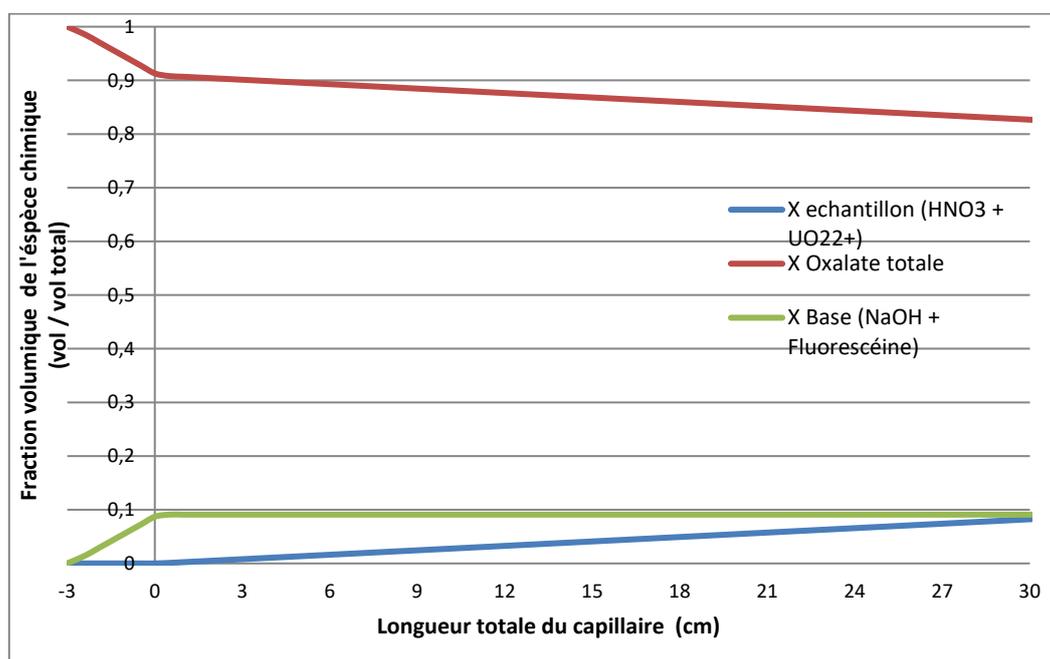


Figure 99 : Graphique présentant le bilan matière d'un titrage ballist-mix de l'acidité libre. Les courbes montrent la fraction volumique de chacun des réactifs dispersés le long du capillaire. La somme des fractions volumiques à chaque point sur le capillaire est égale 1. La longueur totale du capillaire, constitué de 2 parties, est de 33 centimètres, une première partie de 3 centimètres est située avant la vanne à trois voies (capillaire court L1) et une deuxième partie de 30 centimètres est située après la vanne à trois voies (capillaire long L2). Le diamètre interne du capillaire est de 317 μm.

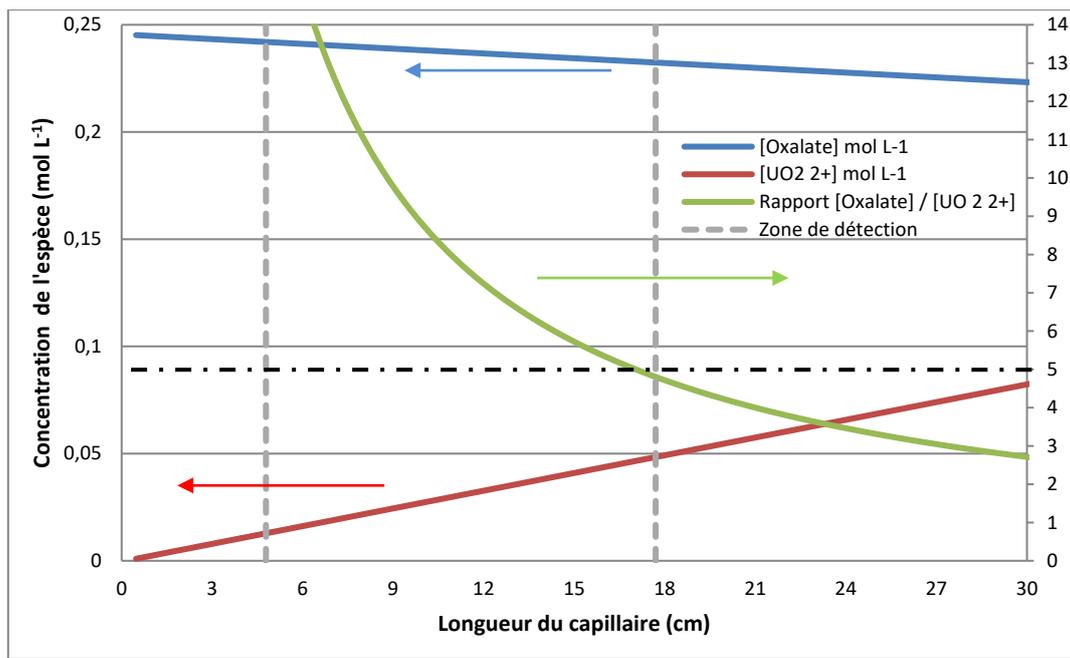


Figure 100 : Illustration graphique du profil de concentration simulé pour l'oxalate et pour l'uranyle pendant l'étape 6 de la séquence microfluidique. Sur le graphique a été tracé le contenu du capillaire long (30 cm). La concentration initiale de l'oxalate et de l'uranyle avant les dilutions est de  $0,27 \text{ mol L}^{-1}$  et  $1 \text{ mol L}^{-1}$  respectivement. La courbe en vert montre le rapport entre la concentration d'oxalate et celle de l'uranyle le long du capillaire. Il peut être observé que dans la zone de détection le rapport (oxalate/uranyle) est supérieur à 5.

Ce bilan matière correspondant aux nouvelles dimensions du montage expérimental a été utilisé pour optimiser la concentration de la solution de NaOH à utiliser pour le titrage d'échantillons d'acide nitrique ayant une concentration comprise entre  $1 \text{ mol L}^{-1}$  et  $3 \text{ mol L}^{-1}$  (Figure 101).

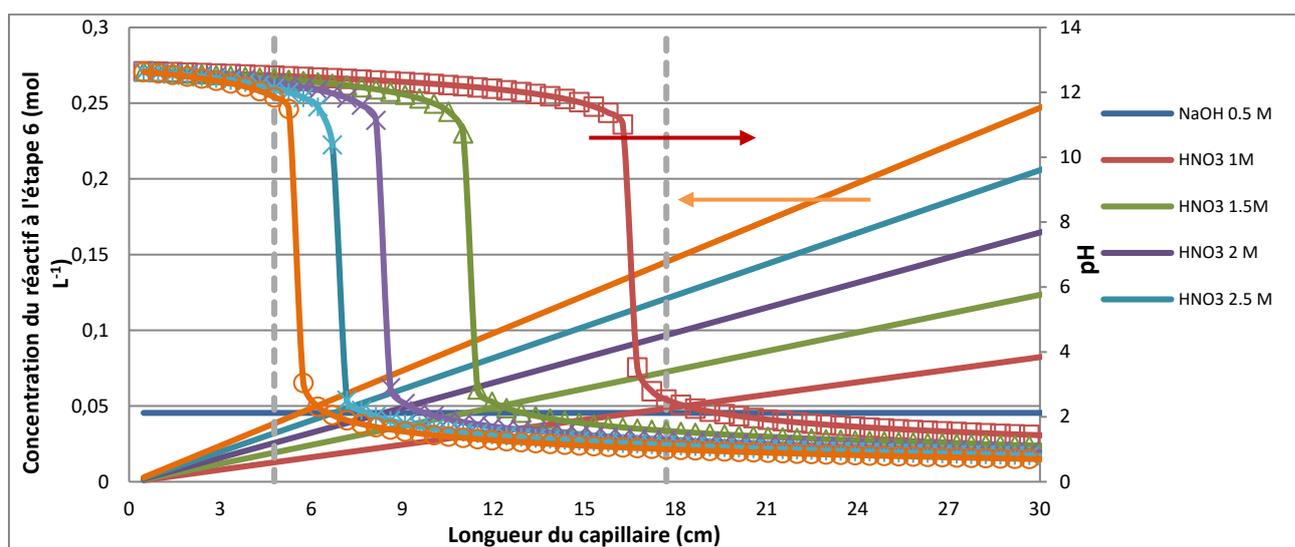


Figure 101 : Représentation graphique de la méthode de titrage par dispersion de l'acidité libre. Le graphique montre la relation existante entre la longueur du micro-canal et les différentes concentrations d'acide nitrique ( $1 - 3 \text{ mol L}^{-1}$ ) dosés avec  $0,5 \text{ mol L}^{-1}$  de NaOH. Les lignes verticales montrent la position dans le capillaire du courbe de titrage. La longueur du micro-canal est de 30 cm avec  $317 \mu\text{m}$  de diamètre interne pour un volume total =  $24 \mu\text{L}$ .

L'objectif de l'optimisation est de s'assurer que le système permet de mesurer l'acidité libre de solutions chargées sur la plage de concentration en acide ciblée. Cette étape d'optimisation nous a également permis de conclure qu'avant expérimentation, la taille de la zone visualisée par la caméra CCD doit être augmentée de 9 cm à 12,5 cm. Enfin, grâce à la simulation, nous avons pu calculer que la concentration de titrage optimale de NaOH est de  $0,5 \text{ mol L}^{-1}$  pour titrer des échantillons d'acide nitrique dont la concentration serait comprise entre  $3 \text{ mol L}^{-1}$  et  $7 \text{ mol L}^{-1}$  (Figure 102). Il faut mentionner, que l'optimisation de la longueur des capillaires L1 et L2, ainsi que tous les calculs qui ont été faits, prennent en compte le fait que la concentration initiale de l'oxalate de sodium est de  $0,27 \text{ mol L}^{-1}$  et que la concentration d'uranyle dans les échantillons est de  $1 \text{ mol L}^{-1}$ . Si la concentration d'uranyle est supérieure, il faut modifier une nouvelle fois la longueur des capillaires L1 et L2 pour obtenir un facteur de dilution permettant de conserver un rapport de concentration entre l'oxalate et l'uranyle supérieur à 5.

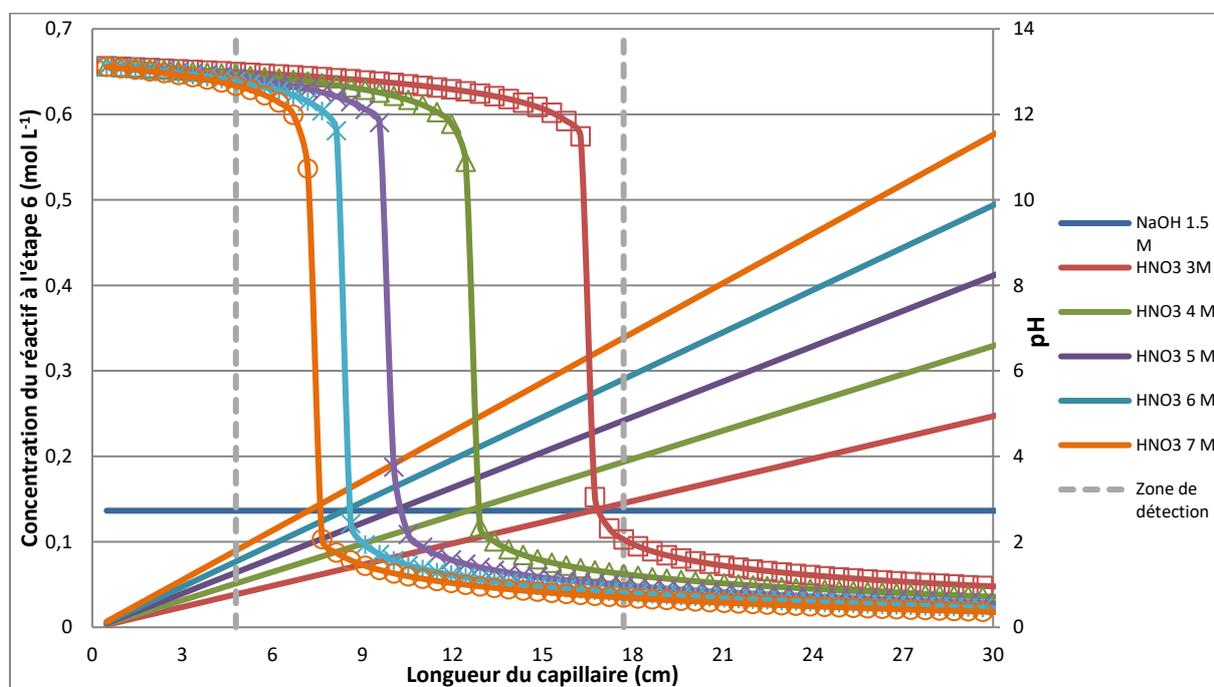


Figure 102 : Représentation graphique de la méthode de titrage ballist-mix de l'acidité libre. Le graphique montre la relation existante entre la longueur du micro-canal et les différentes concentrations d'acide nitrique ( $3 - 7 \text{ mol L}^{-1}$ ) dosés avec  $1,5 \text{ mol L}^{-1}$  de NaOH. La longueur du micro-canal est de 30 cm avec  $317 \mu\text{m}$  de diamètre interne. Volume total =  $24 \mu\text{L}$ .

#### **4.4. Conclusions et perspectives pour le développement d'une méthode d'analyse pour la mesure d'acidité d'échantillons d'acide nitrique contenant des cations hydrolysables**

L'objectif du chapitre 3 de ce document porte sur le développement d'un système et une méthode d'analyse à l'échelle micro permettant de mesurer l'acidité libre d'échantillons d'acide nitrique contenant des ions hydrolysables. Pour effectuer cette mesure en suivant les recommandations détaillées dans le chapitre 1 section 3 de la thèse, il faut mélanger l'échantillon d'acide avec une solution saturée en anions oxalate avant le titrage. Cette étape de complexation des cations d'actinides est indispensable pour éviter leur hydrolyse. La mise en œuvre d'un dosage acidobasique en système microfluidique a été envisagée selon une approche simple et innovante. Cependant, la méthode de titrage développée, appelée titrage ballist-mix, nécessite une étape préalable de dilution de l'échantillon acide avec une solution d'oxalate pour permettre de remonter à l'acidité libre de solution contenant des cations hydrolysables. Dans l'objectif de réaliser en ligne de façon intégrée l'étape de dilution/complexation en amont du titrage, une étude bibliographique dédiée (section 4.1 de ce chapitre) a permis d'émettre l'hypothèse qu'il était possible d'effectuer un mélange entre réactifs à partir du principe de dispersion de TAYLOR. Une première série d'expérience a permis de valider cette approche (section 4.2) sur une version modifiée du montage utilisé pour le titrage ballist-mix (chapitre 3 ; section 3). Finalement, la section 4.3 détaille la méthodologie d'optimisation d'une séquence microfluidique qui utilise de façon conjointe le principe des titrages ballist-mix avec le micromélangeur passif. Ce nouvel outil doit permettre de réaliser la mesure d'acidité libre d'échantillons d'acide nitrique contenant des ions hydrolysables.

Au moment de la rédaction de cette thèse les expérimentations pour tester le déroulement expérimental de la séquence microfluidique n'ont pas pu être réalisées. Il faut souligner que celle-ci n'est qu'une proposition parmi d'autres qui peuvent aussi être imaginées. En effet, il a été démontré que l'avantage majeur des titrage ballist-mix, par rapport au titrage par SIA, est la possibilité de simuler, avant l'expérimentation, toute la séquence microfluidique pour optimiser d'une part, le montage expérimental et, d'autre part, la concentration des réactifs à utiliser. Finalement, le principe de formation de gradients de concentration linéaires a été exploité dans ce chapitre pour effectuer une réaction acidobasique appliquée à l'industrie nucléaire. Néanmoins, il est possible d'imaginer que ce montage et son principe de dispersion soit applicable à d'autres types d'industries, tels que la chimie environnementale (l'analyse d'eaux usées), la chimie agroalimentaire (l'analyse de vitamines dans les jus de fruits, l'analyse d'acidité du vin), la chimie pharmaceutique (détermination de composés actifs dans les médicaments) entre d'autres. De là l'objectif d'utiliser deux vannes multi-position à 10 entrées, pour offrir la possibilité d'adapter le titrage ballist-mix pour d'autres systèmes chimiques, et ainsi générer des gradients de concentration et des mélanges entre plusieurs réactifs en utilisant un simple micro canal droit.

## Références

1. MAGNALDO, A.DAVIN, D., *Procédé Et Système D'analyse D'un Échantillon Liquide*. 2003: France.
2. MANZ, A., GRABER, N., WIDMER, H.M., *Miniaturized total chemical analysis systems: A novel concept for chemical sensing*, Sensors and Actuators B-Chem, 1990. **1** : p. 244-248
3. MARK, D., HAEBERLE, S., ROTH, G., *et al.*, *Microfluidic Lab-on-a-Chip Platforms: Requirements, Characteristics and Applications*. Chemical Society Reviews, 2010. **39** : p. 1153-1182.
4. ISI Search for Topic on "Microfluidic". ISI Web of Knowledge, 2014.
5. US PATENT, o. *Search Issued Patents for "Microfluidics"*. United States Patent and Trademark office, 2014.
6. VLADISAVLJEVIC, G.T., KHALID, N., NEVES, M.A., *et al.*, *Industrial Lab-on-a-Chip: Design, Applications and Scale-up for Drug Discovery and Delivery*. Advanced drug delivery reviews, 2013. **65** (11-12): p. 1626-1663.
7. BRUK, M.A.ISAEVA, G.G., *Radiolysis of Thin Layers of Polymers on the Surface of Solids of Various Kinds*. 1992. **26** (1): p. 39-42.
8. CAI, H.POON, A.W., *Optical Trapping of Microparticles Using Silicon Nitride Waveguide Junctions and Tapered-Waveguide Junctions on an Optofluidic Chip*. Lab on a chip, 2012. **12** : p. 3803-3809.
9. FOERSTER, M., LAM, K.F., SORENSEN, E., *et al.*, *In Situ Monitoring of Microfluidic Distillation*. Chemical Engineering Journal, 2013. **227** : p. 13-21.
10. CATARINO, S.O., SILVA, L.R., MENDES, P.M., *et al.*, *Piezoelectric Actuators for Acoustic Mixing in Microfluidic devices—Numerical Prediction and Experimental Validation of Heat and Mass Transport*. Sensors and Actuators B: Chemicals, 2014. **205** : p. 206-214.
11. SUN, B.J., SHUM, H.C., HOLTZE, C., *et al.*, *Microfluidic Melt Emulsification for Encapsulation and Release of Actives*. ACS applied materials and interfaces, 2010. **2** (12): p. 3411-3416.
12. BAYRAKTAR, T.PIDUGU, S.B., *Characterization of Liquid Flows in Microfluidic Systems*. International Journal of Heat and Mass Transfer, 2006. **49** : p. 815-824.
13. TAYLOR, A.M.JEON, N.L., *Micro-Scale and Microfluidic Devices for Neurobiology*. Current Opinion in Neurobiology, 2010. **20** : p. 640-647.
14. COLIN, *Microfluidique*. 2004: Hermes Science Publications.
15. KIRBY, B.J., *Micro and Nanoscale Fluid Mechanics*. 2010, New York: Cambridge University Press.
16. WU, J., ZHENG, G.LEE, L.M., *Optical Imaging Techniques in Microfluidics and Their Applications*. Lab on a Chip, 2012. **12** : p. 3566-3575.
17. SJÖBACK, R., NYGREN, J.KUBISTA, M., *Absorption and Fluorescence Properties of Fluorescein*. Spectrochimica Acta A, 1995. **51** : p. L7-L21.
18. CASALINI, T., SALVALAGLIO, M., PERALE, G., *et al.*, *Diffusion and Aggregation of Sodium Fluorescein in Aqueous Solutions*. 2011. **115** (44): p. 12896-12904.
19. RICHARDSON, D.H., SEKULIC, D.P.CAMPO, A., *Low Reynolds Number Flow inside Straight Micro Channels with Irregular Cross Sections*. Heat and mass transfer, 2000. **36** (3) : p. 187-193.
20. LEE, Y., KIM, J.K., CHUNG, S., *et al.* *Flow Characteristics of Hydrophilic/Hydrophobic Capillaries Considering Surface Tension*. 2002. Corée du Sud: 2nd Annual International IEEE-EMBS Special Topic Conference on Microtechnologies in Medicine and Biology.
21. HEREEN, A., LUO, C.P., ROTH, G., *et al.*, *Diffusion Along Microfluidic Channels*. Microelectronic Engineering, 2006. **83** (4-9): p. 1669-1672.
22. CARLO, D.d., *Inertial Microfluidics*. 2009. **9** : p. 3038-3046.
23. KUMAR, V., PARASCHIVOIU, M.NIGAM, K.D.P., *Single Phase Fluid Flow and Mixing in Microchannels*. Chemical Engineering Science, 2011. **66** : p. 1329-1373.
24. LEE, C.-Y., CHANG, C.-L., WANG, Y.-N., *et al.*, *Microfluidic Mixing: A Review*. International Journal of Molecular Sciences, 2011. **12** : p. 3263-3287.

25. MENSING, G., PEARCE, M., GRAHAM, M., *et al.*, *An Externally Driven Magnetic Microstirrer*. Philosophical Transactions of the Royal Society a-Mathematical Physical and Engineering Sciences, 2004. **362** (1818): p. 1059 - 1068.
26. GALLETTI , C., ROUDGAR, M., BRUNAZ, E., *et al.*, *Effect of Inlet Conditions on the Engulfment Pattern in a T-Shaped Micro-Mixer*. 2012. **185-186** : p. 300-313.
27. PABIT, S.HAGEN, S., *Laminar-Flow Fluid Mixer for Fast Fluorescence Kinetics Studies*. Biophysical Journal, 2002. **83** (5): p. 2872 - 2878.
28. MENGEAUD, V., JOSSERAND, J.GIRAULT, H.H., *Mixing Processes in a Zigzag Microchannel: Finite Element Simulations and Optical Study*. Analytical Chemistry, 2002. **174** (16): p. 4279- 4286.
29. KIKUTANI, Y., MASAHARU, U., HISAMOTO, H., *et al.*, *Continuous-Flow Chemical Processing in Three-Dimensional Microchannel Network for on-Chip Integration of Multiple Reactions in a Combinatorial Mode*. QSAR & Combinatorial Science, 2005. **24** (6 ): p. 742-757.
30. TOFTEBERG, T., SKOLIMOWSKI, M., ANDREASSEN , E., *et al.*, *A Novel Passive Micromixer : Lamination in a Planar Channel System*. Microfluid Nanofluid, 2010. **8** : p. 209 -215.
31. LI, J., XIA, G.LI, Y., *Numerical and Experimental Analyses of Planar Asymmetric Split-and-Recombine Micromixer with Dislocation Sub-Channels*. 2013. **88** : p. 1757 - 1765.
32. AFZAL, A.KIM, K.-Y., *Passive Split and Recombination Micromixer with Convergent–Divergent Walls*. 2012. **203** : p. 182-192.
33. LIU , Y.Z., KIM , B.J.SU, H.J., *Two-Fluid Mixing in a Microchannel*. International Journal of Heat and Fluid Flow, 2004. **25** : p. 986 - 995.
34. KIM, B.S., KWAK, B.S., SHIN, S., *et al.*, *Optimization of Microscale Vortex Generators in a Microchannel Using Advanced Response Surface Method*. International Journal of Heat and Mass Transfer, 2011. **54** : p. 118- 125.
35. CARRIER, O., FUNFSCHILLING, D., DEBAS, H., *et al.*, *Pressure Drop in a Split-and-Recombine Caterpillar Micromixer in Case of Newtonian and Non-Newtonian Fluids*. 2013. **59** ( ): p. 2679 - 2685.
36. JOHNSON, T.J., ROSS, D.LAURIE, E., *Rapid Microfluidic Mixing*. Analytical Chemistry, 2002. **74** (1): p. 45 -51.
37. HOSSAIN, S., ANSARI, M.A., HUS, A., *et al.*, *Analysis and Optimization of a Micromixer with a Modified Tesla Structure*. Chemical Engineering Journal, 2010. **158** : p. 305 - 314.



## Conclusions et perspectives

---

Le sujet abordé pendant la thèse fait suite à une étude menée conjointement par AREVA La Hague et le CEA, qui avait pour objectif la définition des besoins des usines de traitement/recyclage du combustible nucléaire actuelles et futures. Cette étude montre que pour améliorer les performances en termes de sûreté du personnel, de développement durable, d'impact sur l'environnement et pour réduire les coûts de fonctionnement du laboratoire il est nécessaire de simplifier les systèmes d'analyse du laboratoire de contrôle et de réduire les volumes mis en jeux lors des analyses. Parmi les différentes analyses menées dans l'activité courante des usines de traitement-recyclage, la mesure de l'acidité libre (acide nitrique), qui fait partie des analyses les plus fréquentes, a été identifiée comme une analyse clé pour pouvoir piloter correctement le procédé d'extraction d'uranium et de plutonium. En effet, l'analyse en question n'est pas triviale puisque les échantillons d'acide contiennent des ions d'actinides qui, étant hydrolysables, produisent des ions  $H^+$  lors du titrage et amènent à une surestimation de l'acidité de la solution.

Ainsi, les activités de recherche décrites dans le premier chapitre de la thèse ont été centrées sur le choix d'une méthode de mesure d'acidité qui tient compte de la présence d'actinides tels que l'U(VI) et le Pu(IV) dans la solution à analyser. Après avoir défini la méthodologie de référence pour la mesure de l'acidité libre (Méthode CETAMA G.23, Méthode de MAYANKUTTI), une étude bibliographique a été faite dans le but de comparer les différents systèmes d'analyse d'acidité disponibles, afin de déterminer celui qui est le plus approprié pour faire une étape de mélange entre l'échantillon et l'oxalate de sodium, puis un titrage acidobasique, tout en respectant le cahier de charges du projet (défini par AREVA). Le système d'analyse retenu doit également permettre d'atteindre les performances de la méthode d'analyse actuelle d'une part et, d'autre part, doit permettre de mettre en œuvre une méthode d'analyse simple, automatisée, rapide ( $< 20$  min), adaptée au travail en milieu hostile, répétable (RSD  $< 10\%$ ), précise ( $\pm 10\%$  de la valeur vraie), robuste et avec des volumes de travail inférieurs à la méthode de mesure actuellement utilisée ( $< 60$  mL). Par conséquent, deux techniques de titrage volumétrique ont été retenues : le titrage par injection séquentielle (SIA), qui est un dispositif occupant un espace équivalent à un solide de 25 L de volume, et le titrage ballist-mix, qui emploie un dispositif microfluidique qui après intégration et réduction des composants peut occuper un espace équivalent à un solide de 25 mL de volume. Les deux systèmes présentent l'avantage de minimiser les volumes d'échantillons, de réactifs et de déchets par analyse et d'être automatisés, ce qui permet de diminuer les risques pour le personnel et les coûts de fonctionnement.

Une fois ces deux techniques retenues une étude approfondie de la SIA (chapitre 2 de la thèse) a été réalisée afin de comprendre comment utiliser la technique pour mettre en œuvre le titrage de

l'acidité libre. Ensuite, les enseignements de cette étude ont été exploités pour développer une méthode d'analyse permettant de mesurer dans un laboratoire contrôlé en radioprotection, la concentration en acide nitrique de solutions contenant entre 0,5 et 3 mol L<sup>-1</sup> de HNO<sub>3</sub>, avec des concentrations de UO<sub>2</sub><sup>2+</sup> allant jusqu'à 0,54 mol L<sup>-1</sup> avec un RSD inférieur à 7,5% entre les valeurs obtenues et la valeur vraie de l'échantillon. La justesse de la méthode analytique à ±9% la valeur de référence de l'échantillon a également pu être démontrée dans le domaine d'analyse précisé précédemment. Par rapport à la méthode d'analyse mise en œuvre sur paillasse, la nouvelle méthode SIA réduit 500 fois le volume d'échantillon nécessaire pour l'analyse, 8 fois le temps d'analyse et 40 fois le volume de déchets générés, ces critères étant déterminant pour l'amélioration de la sûreté du personnel et de l'impact sur l'environnement. De plus, l'automatisation de la séquence d'analyse diminue les sources d'erreurs sur la mesure et offre la possibilité d'effectuer des analyses à haut-débit (jusqu'à 20 mesures par heure) et donc d'obtenir un fonctionnement analytique plus rentable. Sachant que la SIA est un outil analytique bien connu dans l'industrie, le transfert de la méthode vers un laboratoire d'analyse de routine peut être accompli dans un délai de temps plus court que pour d'autres technologies expérimentales telles que la microfluidique. Enfin, il est à noter que la méthode SIA développée est, à notre connaissance, la première application d'un système SIA pour la mesure de l'acidité libre.

Malgré les performances analytiques du titrage de l'acidité libre par SIA, le développement de la méthode d'analyse a été long du fait de la complexité du mélange réactionnel. En effet, la séquence SIA développée pour le titrage de l'acidité libre n'est valable que pour l'analyse d'échantillons ayant une concentration en acide nitrique et en uranyle appartenant au domaine de concentrations spécifié. Tout échantillon en dehors de ces conditions ne pourrait être analysé que si la séquence SIA est adaptée en conséquence. De ce fait, le développement d'une méthode d'analyse pour des échantillons radioactifs doit être préparé correctement afin de minimiser le temps durant lequel le laborantin est à proximité des sources de contamination radiologique. Il serait avantageux dans ce cas-là, de pouvoir simuler au préalable les expériences à effectuer en zone contrôlée afin d'optimiser le temps de développement. Cependant, les mélanges qui ont lieu lors d'un titrage par SIA sont si complexes qu'une simulation du mélange réactionnel est très compliquée. C'est pourquoi une étude approfondie des techniques microfluidiques (ballist-mix) a également été menée (chapitre 3 de la thèse) en s'appuyant sur le brevet de principe de MAGNALDO et DAVIN déposé en 2002, qui décrit la possibilité d'appliquer le modèle de dispersion développé par TAYLOR (en 1953) pour faire un titrage volumétrique à partir d'un gradient de concentration linéaire. Ce type de titrage volumétrique, appelé aussi titrage ballist-mix facilite le travail de compréhension des mélanges entre réactifs, et permet de simuler les mélanges ayant lieu lors du titrage en utilisant de simples logiciels de calcul bureautiques tel que MS EXCEL, et donc facilite grandement le développement analytique tout en limitant l'exposition du personnel. Lors du développement d'un système d'analyse utilisant des outils microfluidiques, nécessaire pour effectuer un titrage ballist-mix de l'acidité libre, le signal de fluorescence de la

fluorescéine (dépendant du pH) a été utilisé pour suivre l'évolution de l'acidité dans les microsystèmes. Le suivi de fluorescence a nécessité la mise au point d'un montage optique permettant, d'une part, d'exciter les fluorophores et, d'autre part, de suivre le signal de fluorescence de ces derniers dans les capillaires de manière à déterminer la position du point d'équivalence d'une réaction acido-basique. Ensuite, il a fallu travailler sur un système de mélange microfluidique afin de pouvoir mélanger et obtenir une dilution homogène d'un échantillon d'acide dans une solution d'oxalate en moins d'une minute. De plus, l'intégration au système fluidique d'une vanne multi-position a permis la formation de mélanges consécutifs entre plusieurs réactifs. Le point le plus important de tous ces développements réside dans le fait que toutes les opérations unitaires, nécessaires à l'analyse de l'acidité libre, sont effectuées à l'intérieur d'un micro-canal droit, ce qui va simplifier le processus de miniaturisation par rapport à d'autres techniques de mélanges ayant besoin de canaux avec des géométries complexes. Les innovations sur le montage expérimental ont été effectuées dans le but d'aboutir à une méthode de titrage ballist-mix pour la mesure d'acidité d'échantillons contenant entre 1 – 2,5 mol L<sup>-1</sup> d'acide nitrique et en utilisant comme titrant une solution de soude 2 mol L<sup>-1</sup>. Le système développé a également été étudié pour permettre un titrage ballist-mix pour la mesure de l'acidité libre d'échantillons d'acide nitrique contenant de cations (hydrolysables) d'uranyle mais le temps a manqué pour une étude expérimentale, notamment parce que la rédaction et le dépôt de deux brevets à ce sujet ont été chronophage. Les exemples de titrage présentés dans le chapitre 3 illustrent les avantages d'utiliser des gradients de concentration linéaires pour effectuer les titrages volumétriques, notamment la possibilité de simuler la mécanique des fluides donnant lieu aux titrages ballist-mix avant l'expérimentation, ce qui permet de connaître les limitations du système expérimental pour l'analyse ciblée, et donc de le modifier afin d'optimiser le temps de développement analytique.

Finalement, les techniques et les méthodes d'analyse développées pendant la thèse marquent la première étape d'un processus de miniaturisation de l'actuelle méthode CETAMA (Méthode G.23) utilisée pour la mesure de l'acidité libre. Les deux méthodes d'analyse au cœur de ces travaux de thèse sont en accord avec la réduction du volume d'échantillon requis par analyse et la réduction du volume des effluents générés à quelques millilitres attendues. Néanmoins, il faut mentionner que les deux méthodes d'analyse proposées ont été conçues pour le titrage d'échantillons dont la concentration en acide est comprise entre 0,75 mol L<sup>-1</sup> et 3 mol L<sup>-1</sup>, et ayant une concentration maximale de 1 mol L<sup>-1</sup> en ions d'uranyle. Cela veut dire qu'une étape d'optimisation devra être réalisée dans le cas de l'analyse d'échantillons à des concentrations plus élevées en acide nitrique, en uranyle, ou encore dans le cas où l'échantillon d'acide à doser contient d'autres actinides tels que le plutonium ou l'américium. Dans ce cas, il faudra adapter le système SIA comme le système ballist-mix, bien que pour ce dernier l'adaptation soit beaucoup plus simple et rapide du fait de la possibilité de simuler facilement les réactions au sein des capillaires.

En termes de perspectives, l'axe d'amélioration le plus important du système microfluidique proposé concerne le système de détection. En effet, la partie microfluidique étant, par essence, de taille réduite, afin d'avoir un système le plus compact et réduit possible, il est nécessaire de travailler à réduire la taille du système optique. Dans ce but, un effort conjoint entre l'équipe LAMM du CEA Marcoule et l'IMEP-LAHC de Grenoble a conduit récemment à la co-intégration de fonctions microfluidiques et optiques sur un lab-on-chip en verre pour créer deux types de capteurs. Le premier des capteurs obtenus exploite certaines propriétés des ondes évanescentes pour mesurer l'absorbance d'un fluide qui passe au travers d'un canal de 100 nm d'épaisseur [1] (Figure 103 ; a). Le deuxième capteur, à lentille thermique, est constitué d'un interféromètre dont les deux bras passent par un canal microfluidique dans lequel circule le liquide à analyser [2]. Un laser vient exciter les éléments à analyser devant un des deux bras de l'interféromètre ce qui va engendrer une variation locale d'indice de réfraction (liée à un échauffement local dû à la désexcitation non radiative des éléments à analyser), donc une différence de chemin optique entre les bras de l'interféromètre, ce qui va se traduire par un déphasage de la figure d'interférence, c'est ce déphasage qui va permettre d'effectuer une mesure (Figure 103 ; b). Les résultats obtenus encouragent à approfondir le développement de systèmes co-intégrant microfluidique et fonctions optiques.

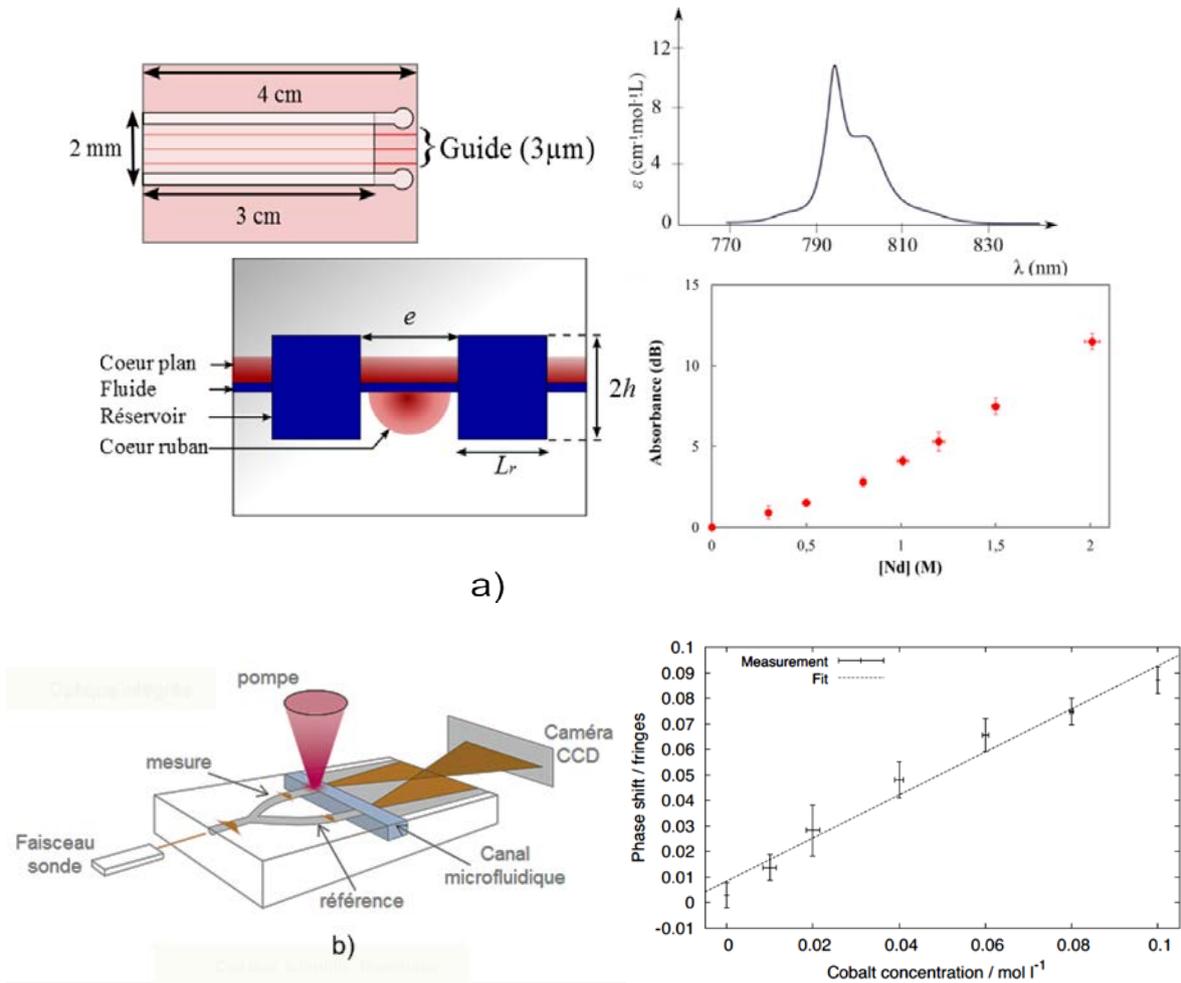


Figure 103 : Co-intégration de fonctions microfluidiques et optiques sur substrat de verre. a) Capteur absorptométrique ; b) Capteur à lentille thermique

## Références

1. JARDINIER, E., *Co-Intégration De Fonctions Micro-Fluidiques Et Optiques Sur Substrat De Verre Pour L'analyse En Milieu Hostile*, in *IMEP-LAHC*. 2013, Université de Grenoble: Grenoble.
2. SCHIMPF, A., BUCCI, D., NANNINI, M., *et al.*, *Photothermal Microfluidic Sensor Based on an Integrated Young Interferometer Made by Ion Exchange in Glass*. *Sensors and Actuators B*, 2012. **163** : p. 29-37.



## Annexe 1 : Terminologie en métrologie

---

Les définitions présentées ici ont été compilées à partir du Vocabulaire International de Métrologie [1], et du « Vocabulaire de l'analyse » édités par les Techniques l'ingénieur [2].

**Mesurande (measurande)** : Grandeur particulière soumise au mesurage.

**Mesurage (measurement)** : Ensemble d'opérations ayant pour but de déterminer une valeur d'une grandeur.

**Étalon ([measurement] standard, étalon)** : Mesure matérialisée, appareil de mesure, matériau de référence ou système de mesure destiné à définir, réaliser, conserver ou reproduire une unité ou une ou plusieurs valeurs d'une grandeur pour servir de référence.

**Matériau de référence (reference material)** : Matériau ou substance dont une (ou plusieurs) valeur(s) de la (des) propriété(s) est (sont) suffisamment homogène(s) et bien définie(s) pour permettre de l'utiliser pour l'étalonnage d'un appareil, l'évaluation d'une méthode de mesure ou l'attribution de valeurs aux matériaux.

**Valeur vraie (d'une grandeur) (true value [of a quantity])** : Valeur compatible avec la définition d'une grandeur particulière donnée.

Note : 1) C'est une valeur que l'on obtiendrait par un mesurage parfait ; 2) Toute valeur vraie est par nature indéterminée ; 3) L'article indéfini « une » plutôt que l'article défini « la », est utilisé en conjonction avec valeur vraie, parce qu'il peut y avoir plusieurs valeurs correspondant à la définition d'une grandeur particulière donnée.

**Valeur conventionnellement vraie (d'une grandeur) (conventional true value [of a quantity])** : Valeur attribuée à une grandeur particulière et reconnue, parfois par convention, comme la représentant avec une incertitude appropriée pour un usage donné. Exemples :

a) en un lieu donné, la valeur attribuée à la grandeur réalisée par un étalon de référence peut être prise comme étant une valeur conventionnellement vraie ;

b) valeur recommandée par CODATA (1986) pour la constante d'Avogadro :  $N_A = 6,022\ 136\ 7 \times 10^{23}$  mol<sup>-1</sup>.

Notes : 1) La valeur conventionnellement vraie est quelquefois appelée valeur assignée, meilleure estimation de la valeur, valeur convenue ou valeur de référence ; 2) On utilise souvent un grand nombre de résultats de mesure d'une grandeur pour établir une valeur conventionnellement vraie.

**Résultat d'un mesurage (result of a measurement)** : Valeur attribuée à un mesurande, obtenue par mesurage.

**Erreur de mesure (error of measurement)** : Résultat d'un mesurage moins une valeur vraie du mesurande

**Erreur relative (relative error)** : Rapport de l'erreur de mesure à une valeur vraie du mesurande.

**Exactitude de mesure (accuracy of measurement)** : Étroitesse de l'accord entre le résultat d'un mesurage et une valeur vraie du mesurande.

Notes : 1) Le concept d'exactitude est qualitatif ; 2) Le terme précision ne doit pas être utilisé pour exactitude

**Incertitude de mesure (uncertainty of measurement) :** Paramètre, associé au résultat d'un mesurage, qui caractérise la dispersion des valeurs qui pourraient raisonnablement être attribuées au mesurande.

Notes : 1) Le paramètre peut être, par exemple, un écart-type (ou un multiple de celui-ci) ou la demi-largeur d'un intervalle de niveau de confiance déterminé ; 2) L'incertitude de mesure est calculée \* en général, à partir de plusieurs composantes. Certaines peuvent être évaluées à partir de la distribution statistique des résultats de séries de mesurages et peuvent être caractérisées par des écarts-types expérimentaux. Les autres composantes, qui peuvent aussi être caractérisées par des écarts-types, sont évaluées en admettant des lois de probabilité d'après l'expérience acquise ou d'après d'autres informations ; 3) Il est entendu que le résultat du mesurage est la meilleure estimation de la valeur du mesurande et que toutes les composantes de l'incertitude, y compris celles qui proviennent d'effets systématiques, telles que les composantes associées aux corrections et aux étalons de référence, contribuent à la dispersion.

**Fidélité d'un instrument de mesure (repeatability of a measuring instrument) :** Aptitude d'un instrument de mesure à donner des indications très voisines lors de l'application répétée du même mesurande dans les mêmes conditions de mesure.

Notes : 1) Ces conditions comprennent : réduction au minimum des variations dues à l'observateur, même mode opératoire de mesure, même observateur, même équipement de mesure utilisé dans les mêmes conditions, même lieu, répétition durant une courte période de temps.

**Fidélité d'une méthode (repeatability of a method) :** Étroitesse de l'accord entre des résultats d'essai indépendants obtenus sous des conditions stipulées. Fidélité est le terme général qui exprime la variabilité entre des mesures répétées. Deux conditions de fidélité, appelées *répétabilité* et *reproductibilité* sont classiques pour décrire la variabilité d'une méthode de mesure.

**Répétabilité (des résultats de mesurage) (repeatability [of results of measurements]) :** Étroitesse de l'accord entre les résultats des mesurages successifs du même mesurande, mesurages effectués dans la totalité des mêmes conditions de mesure.

Notes : 1) Ces conditions sont appelées conditions de répétabilité ; 2) Les conditions de répétabilité comprennent le même mode opératoire, le même observateur, le même instrument de mesure utilisé dans les mêmes conditions, le même lieu, la répétition durant une courte période de temps.

**Reproductibilité (des résultats de mesurage) (reproducibility [of results of measurements])** Aussi appelé fidélité intermédiaire, est l'étroitesse de l'accord entre les résultats des mesurages du même mesurande, mesurages effectués en faisant varier les conditions de mesure.

Notes : 1) Pour qu'une expression de la reproductibilité soit valable, il est nécessaire de spécifier les conditions que l'on fait varier ; 2) Les conditions que l'on fait varier peuvent comprendre le principe de mesure, la méthode de mesure, l'observateur, l'instrument de mesure, le lieu, les conditions d'utilisation, le temps ; 3) La reproductibilité peut s'exprimer quantitativement à l'aide des caractéristiques de dispersion des résultats ; 4) Les résultats considérés ici sont habituellement les résultats corrigés.

**Erreur aléatoire (random error) :** Résultat de mesurage moins la moyenne d'un nombre infini de mesurages du même mesurande dans les conditions de répétabilité.

**Erreur systématique (systematic error) :** Moyenne qui résulterait d'un nombre infini de mesurages du même mesurande effectués dans les conditions de répétabilité, moins une valeur vraie du mesurande.

**Justesse (d'un instrument de mesure) (freedom from bias [of a measuring instrument ])** Aptitude d'un instrument de mesure à donner des indications exemptes d'erreur systématique.

**Justesse (d'une méthode de mesure) :** Étroitesse de l'accord entre la moyenne d'un nombre infini de valeurs mesurées répétées et une valeur de référence. Pour évaluer cette erreur de justesse, il faut une valeur de référence. La valeur de référence peut être matérialisée par un étalon, un matériau de référence, une méthode de référence, un essai interlaboratoires (essai d'aptitude).

**Linéarité (d'une méthode d'analyse) (linearity [of an analytical method]) :** Capacité dans un intervalle donné d'obtenir des résultats de titrage directement proportionnels à la concentration ou à la quantité d'analyte dans l'échantillon.

**Sensibilité (sensitivity) :** La sensibilité d'une méthode de mesure est caractérisée par la variation minimale qu'il faut imposer à la grandeur mesurée pour obtenir une variation significative du résultat de mesure, c'est-à-dire pour que la différence entre les résultats ne puisse pas être expliquée par l'existence des erreurs de répétabilité. Dans le cas d'une droite de régression, le coefficient  $b_1$  (pente) dans la droite s'interprète comme la sensibilité.

**Sélectivité / spécificité (specificity) :** La sélectivité est l'aptitude de la méthode d'analyse à discerner un analyte donné dans un mélange complexe.

**Limite de détection (detection limit) :** Est la valeur minimale que doit avoir la grandeur mesurée pour que le résultat soit significativement différent de celui obtenu pour le mesurage du blanc. La différence entre les résultats de mesure obtenus sur la grandeur mesurée et sur le blanc est significative quand elle dépasse un seuil appelé seuil de décision (decision limit) et choisi en fonction du risque  $\alpha$  de fausse alarme ou risque de considérer comme différente de zéro la valeur d'une grandeur nulle. Lorsque la différence mesurée dépasse le seuil de décision, la grandeur est dite détectée.

**Robustesse (Robustness) :** La robustesse mesure l'importance des effets observés lorsqu'on fait subir de légères variations aux conditions opératoires initiales.

## Références

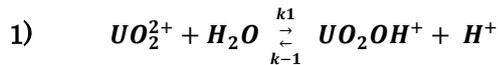
1. *Vocabulaire International De Métrologie – Concepts Fondamentaux Et Généraux Et Termes Associés (Vim)* 2008.
2. NEUILLY, M.COURTIER, J.-C. *Vocabulaire De L'analyse - Erreurs Et Incertitude De Mesure*. 1997.



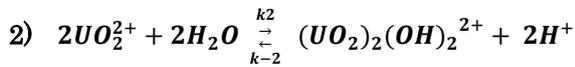
## Annexe 2 : Constantes d'équilibre chimique utilisés pour les calculs assistés par ordinateur (CHESS)

---

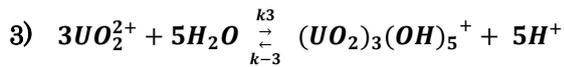
Pour tous les calculs effectués avec CHESS la méthode numérique de Newton-Raphson a été utilisée pour obtenir la solution des équations d'équilibre, et le modèle de Davies a été utilisé pour la correction des constantes d'activité. Les constantes chimiques fournies à CHESS font partie d'une base de données interne au CEA, celles correspondantes aux équations 2 et 3 du chapitre 1 section 3 sont mentionnées ci-dessous.



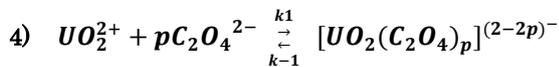
$\log K_1 = -5.2$  (298K)



$\log K_2 = -6.2234$  (273K),  $-5.6205$  (298K),  $-5.1109$  (323K) \\  
 $-4.6745$ (348K),  $-4.2965$ (373K)



$\log K_3 = -17.1068$ (273K),  $-15.5505$ (298K),  $-14.235$ (323K) \\  
 $-13.1085$ (348K),  $-12.1328$ (373K)



$UO_2(C_2O_4)$   $\log K_1 = 7.1$ (298K)

$UO_2(C_2O_4)_2^{2-}$   $\log K_1 = 11.7$  (298K)