HAL
open science

Développements analytiques pour le criblage d'interactions lanthanides/ligands

Fanny Varenne

To cite this version:

Fanny Varenne. Développements analytiques pour le criblage d'interactions lanthanides/ligands. Autre. Université de Strasbourg, 2012. Français. NNT : 2012STRAF015 . tel-00763230

HAL Id: tel-00763230

https://theses.hal.science/tel-00763230v1

Submitted on 10 Dec 2012

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.

UNIVERSITÉ DE STRASBOURG

ÉCOLE DOCTORALE DES SCIENCES CHIMIQUES

UMR 7178-UDS-CNRS

THÈSE

présentée par

Fanny VARENNE

soutenue le : **03 juillet 2012**

pour obtenir le grade de

Docteur de l'Université de Strasbourg

Discipline / Spécialité : Chimie Analytique

Développements analytiques pour le criblage d'interactions lanthanides/ligands

THÈSE dirigée par :

M. CHARBONNIERE Loïc	Directeur de recherche, CNRS
Mme HAGEGE Agnès	Chargé de recherche, CNRS

RAPPORTEURS :

M. HEBRANT Marc	Professeur, Université de Nancy
M. MEYER Daniel	Ingénieur-Chercheur, CEA

MEMBRES DU JURY :

Mme BILLARD Isabelle	Directeur de recherche, CNRS
M. CHARBONNIERE Loïc	Directeur de recherche, CNRS
Mme HAGEGE Agnès	Chargé de recherche, CNRS
M. HEBRANT Marc	Professeur, Université de Nancy
M. MEYER Daniel	Ingénieur-Chercheur, CEA

Remerciements

Cette thèse représente la finalité de trois années de travail au sein du Laboratoire d'Ingénierie Moléculaire Appliquée à l'Analyse.
En premier lieu, je tiens à remercier ceux sans qui ces travaux n'auraient jamais vu le jour. Ainsi, je remercie Madame Agnès HAGEGE et Monsieur Loïc CHARBONNIERE, mes directeurs de thèse, pour leur gentillesse, leurs excellents conseils, leurs discussions et pour avoir toujours répondu présent à mes sollicitations.

Je tiens également à exprimer ma gratitude envers Madame Isabelle BILLARD et Messieurs Marc HEBRANT et Daniel MEYER pour avoir accepté d'évaluer ce travail et pour l'intérêt qu'ils y ont porté. Je souhaite aussi remercier Monsieur Rachid BAATI, membre invité, pour avoir pris le temps de juger ce travail.

Les résultats présentés dans ce travail sont l'aboutissement d'une collaboration avec le Service de Chimie Bioorganique et de Marquage du CEA de Saclay, le Laboratoire des Systèmes Chimiques Fonctionnels de l'Université de Strasbourg et l'Institut de Chimie Moléculaire de l'Université de Bourgogne. Un grand merci à celles et ceux qui ont apporté leur contribution à ces travaux, Madame Christelle ZANDANEL et Monsieur Michel MOSSER pour la synthèse des polymères, Mesdames Yi LIN et Marie BRELLIER pour la synthèse des ligands et Madame Mélanie BOURDILLON pour les titrages spectrophotométriques. Merci pour leur disponibilité et leur grande réactivité. Je n'oublie pas d'associer aussi Monsieur Michel MEYER pour son aide dans les interprétations.

Je tiens à exprimer ma reconnaissance à Madame Anne BOOS pour tous les conseils et les remarques objectives qu'elle m'a apportés.
Je remercie Madame Pascale RONOT pour son expertise en matière de fonctionnement et d'utilisation des différents appareils du laboratoire, dont elle m'a fait profiter tout au long de ces années.

J'adresse mes plus vifs remerciements à Monsieur Yvan ZIMMERMANN pour son efficacité lorsque les appareils étaient en panne.

J'exprime toute ma gratitude à Mesdames Anne BOOS, Câline CHRISTINE, Geneviève GOETZ, Aline NONAT, Pascale RONOT et Sylvie SCHUH et Monsieur Yvan ZIMMERMANN pour leur gentillesse, leur sourire et leurs encouragements.

Une pensée également pour toutes les autres personnes, post-docs, thésards, stagiaires que j'ai pu côtoyer au cours de ces années : Djamila, Katia, Laëtitia, Manuel, Marou, Mireia, Nabila, Samir, Zeina, ...

Je tiens également à remercier l'Agence Nationale de la Recherche (Projet « Chelan » n° 06-BLAN-0198) et le Ministère de la Recherche et de l'Enseignement Supérieur pour le financement de ces travaux.

Enfin, je veux remercier, mes ami(e)s et ma famille qui m'ont toujours supportée. Merci à mon mari Pascal, pour son soutien sans faille et à ma sœur Ludivine, sans qui je ne me serais pas lancée dans un tel projet d'études.

Table des matières

Introduction générale **1**

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES **5**

Chapitre I : Conception et étude de ligands pour la complexation des lanthanides **7**

1. INTRODUCTION **9**

2. PROPRIETES DES LANTHANIDES **9**

2.1. Propriétés fondamentales **9**

2.1.1. Propriétés électroniques *10*

2.1.2. Propriétés ioniques *11*

2.2. Propriétés spectroscopiques des ions lanthanides **13**

2.2.1. Luminescence *13*

2.2.2.. Paramagnétisme *14*

2.3. Nature de la liaison lanthanide/ligand **15**

3. STRATEGIE DE RECHERCHE **16**

3.1. Conception "rationnelle" de ligand **16**

3.1.1. Influence des atomes donneurs *17*

3.1.2. Influence de la denticité et de la préorganisation *20*

3.2. Synthèse de bibliothèque de ligands **23**

4. ETUDE DE L'AFFINITE LANTHANIDE/LIGAND **24**

4.1. Méthode d'étude en milieu homogène **25**

4.1.1.. Méthodes analytiques non séparatives *25*

4.1.1.1.Potentiométrie *25*

4.1.1.2.Spectrophotométrie UV-Visible *25*

4.1.1.3.Spectroscopie de fluorescence *27*

4.1.1.4.Comparaison des différentes méthodes *28*

4.1.2.. Méthodes analytiques séparatives *29*

4.1.2.1.L'électrophorèse capillaire, généralités *29*

4.1.2.2.Différentes méthodes électrophorétiques pour la détermination de constante de complexation *30*

4.1.2.2.1. Influence de la cinétique de complexation 30

4.1.2.2.2. Différentes méthodes électrophorétiques permettant la détermination de constantes de complexation dans le cas d'espèces labiles 33

4.2. Méthodes d'étude en système biphasique 41

4.2.1. Extraction liquide/liquide 41

4.2.1.1.Principe 41

4.2.1.2.Mécanismes d'extraction 42

4.2.1.3.Effet synergique 43

4.2.2. Extraction solide/liquide 44

4.2.2.1.Généralités sur l'extraction solide/liquide 44

4.2.2.2.Les matériaux les plus classiques 46

4.2.2.3.Une nouvelle classe de polymères extractants : les polymères à empreinte ionique 47

4.2.2.3.1. Principe 47

4.2.2.3.2. Mode d'impression 48

4.2.2.3.3. Les polymères à empreinte ionique appliqués aux lanthanides 50

5. Objectifs de la thèse 55

6. REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES 57

Chapitre II : Application du couplage CE-ICP/MS à la détermination des constantes de complexation de ligands phosphorés 63

1. INTRODUCTION 65

2. ELECTROPHORESE CAPILLAIRE 66

2.1. Principe de l'électrophorèse capillaire 66

2.1.1. Electromigration - Mobilité électrophorétique 66

2.1.2. Electroosmose - Mobilité électroosmotique 67

2.1.3. Vitesse de migration apparente - Mobilité apparente 71

2.2. Electrophorèse capillaire d'affinité 72

2.2.1. Isotherme de complexation 72

2.2.2. Traitement mathématique 75

2.2.2.1.Constante de complexation pour un complexe métal : ligand de stœchiométrie 1 : 1 76

2.2.2.2.Constantes de complexation successives 79

3. DEVELOPPEMENT D'UN SYSTEME PERMETTANT D'EVALUER RAPIDEMENT L'AFFINITE POUR UN METAL 80

3.1. Présentation des ligands 80

3.2. Appareillage utilisé 82

3.3. Mise au point de l'interfaçage CE-ICP/MS 83

3.4. Mise au point des conditions d'analyse 86

3.4.1. Modification de la surface interne du capillaire 87

3.4.1.1.Procédure expérimentale 87

3.4.1.2.Evaluation du greffage 88

3.4.2. Détermination de la concentration maximale en europium 90

3.4.3. Récapitulatif des conditions expérimentales 92

3.4.4. Performances de la méthode 93

3.4.4.1.Reproductibilité des analyses 93

3.4.4.2.Limites de détection 94

4. ETUDE DE LA COMPLEXATION DE L'EUROPIUM PAR LES LIGANDS PHOSPHORES 95

4.1. Procédure expérimentale 95

4.2. Criblage rapide des ligands : mise en évidence d'une éventuelle complexation.. 96

4.3. Détermination des constantes apparentes de complexation 99

4.3.1. Mise en évidence de la stœchiométrie des complexes formés 100

4.3.2. Etude des complexes de stœchiométrie 1 : 1 103

4.3.2.1.Détermination des constantes de complexation à partir de l'isotherme de complexation 104

4.3.2.2.Détermination des constantes de complexation à partir des méthodes de linéarisation de l'isotherme 106

4.3.3. Etude des complexes successifs 1 : 1 et 2 : 1 110

4.3.4. Récapitulatif des constantes apparentes de complexation 116

4.4. Prise en compte de l'effet de force ionique 117

4.5. Détermination des constantes de complexation par spectrophotométrie UV-visible : Validation des résultats obtenus par CE-ICP/MS 120

5. CONCLUSION 122

6. REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES 125

Chapitre III : Extraction solide/liquide d'ions lanthanides par des copolymères 127

1. INTRODUCTION 129

2. PRINCIPE DE L'EXTRACTION SOLIDE/LIQUIDE 129

2.1. Formes des isothermes 130

2.2. Modélisation des isothermes 132

2.2.1. Modèle de Langmuir 132

2.2.2. Modèle de Freundlich 134

3. INFLUENCE DES DIFFERENTS COMPOSANTS D'UN POLYMERE 138

3.1. Solvant 138

3.2. Agent de réticulation 139

3.3. Monomère 140

4. PRESENTATION DES POLYMERES 141

5. CRIBLAGE DES POLYMERES 143

5.1. Procédure expérimentale 143

5.2. Résultats du criblage 145

6. ETUDE DE LA CAPACITE D'EXTRACTION DES POLYMERES 147

6.1. Procédure expérimentale 147

6.2. Reproductibilité des extractions 148

6.3. Polymères blancs 149

6.4. Comparaison des polymères fonctionnalisés 151

6.4.1. Vérification de la stœchiométrie monomère/agent de réticulation 151

6.4.1.1.Procédure expérimentale 151

6.4.1.2.Taux d'incorporation du monomère dans le polymère 155

6.4.1.3.Reproductibilité des synthèses 157

6.4.2. Influence de la stœchiométrie 159

6.4.3. Influence de l'agent de réticulation 160

6.4.3.1.Polymères à base d'acide 2-trifluorométhylpropénoïque 160

6.4.3.2.Polymères à base d'acide acrylamido-2-méthyl-2-propane sulfonique ... 162

6.4.3.3.Polymères à base d'acide vinylphosphonique 164

6.4.4. Influence du monomère 167

7. ETUDE DE LA SELECTIVITE 168

7.1. Procédure expérimentale 168

7.2. Résultats **169**

8. CONCLUSION **172**

9. REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES **173**

Conclusion et perspectives **175**

Liste des figures **181**

Liste des tableaux **187**

Abréviations **193**

Symboles **197**

Introduction générale

Les lanthanides sont devenus des éléments majeurs de par leurs propriétés et leurs applications. La chimie de coordination des lanthanides a longtemps été délaissée compte tenu d'un contrôle difficile de l'environnement de coordination de ces derniers. Toutefois, la maîtrise de l'environnement de coordination est motivée par les nombreuses applications. Les propriétés spectroscopiques et magnétiques ont été exploitées en imagerie médicale. En effet, des complexes de gadolinium sont utilisés en imagerie par résonance magnétique en tant qu'agents de contraste [1 - 3] et des complexes d'europium, de terbium ou d'ytterbium sont utilisés en imagerie optique en tant que marqueurs fluorescents [4, 5]. Les propriétés spectroscopiques des lanthanides ont également été exploitées pour la mise au point de convertisseurs de lumière [6, 7]. Ils trouvent également de nombreuses applications dans le traitement de combustible nucléaire pour la séparation actinides/lanthanides [8] ou encore en biologie pour la catalyse de l'hydrolyse de l'ADN [9].

Dans la recherche de nouveaux ligands, les approches de synthèse parallèle ou combinatoire connaissent un succès important, notamment dans le domaine de la chimie des médicaments ou de la catalyse. Compte tenu des bénéfices de ces voies de synthèse, notamment en termes de coût et de rapidité, celles-ci commencent à être envisagées dans d'autres domaines. Récemment, ce concept a été exploité dans la recherche de ligands possédant une forte affinité pour les actinides vis-à-vis des lanthanides [10]. Cependant, au vu du nombre de ligands et des quantités disponibles, le succès de telles stratégies repose également sur le développement concomitant d'outils analytiques rapides et peu consommateurs de ligand.
En collaboration avec les équipes de chimie organique du CEA de Saclay et de l'UMR 7199 de Strasbourg, nous avons choisi de générer par synthèse parallèle des bibliothèques de ligands et de polymères présentant une affinité pour l'europium. Nos recherches se sont donc orientées vers le développement d'outils analytiques permettant non seulement la sélection mais aussi la caractérisation en termes d'affinité pour les lanthanides de ces ligands ou polymères extractants conçus pour leur complexation.

Il a donc été nécessaire d'envisager à la fois une méthode d'étude en milieu homogène pour les bibliothèques de petits ligands et une méthode d'étude en milieu biphasique pour les polymères.
Parmi les méthodes d'étude en milieu homogène, la potentiométrie, la spectrophotométrie UV-Visible ou encore la spectroscopie de fluorescence sont très populaires et largement utilisées. Toutefois, ces méthodes nécessitent des quantités relativement importantes de

ligands au regard des quelques milligrammes obtenus lors de synthèses parallèles ou combinatoires. Nous nous sommes donc intéressés au potentiel de l'électrophorèse capillaire. En effet, l'électrophorèse capillaire ne nécessite que quelques nanolitres d'échantillon, ce qui fortement avantageux pour notre étude. Par ailleurs, les récents développements en terme d'interface entre l'électrophorèse capillaire et la spectrométrie de masse ICP/MS nous permettent d'allier l'efficacité de séparation et la faible consommation d'échantillon de l'électrophorèse capillaire à la haute sensibilité et au caractère multi-élémentaire de la détection par spectrométrie de masse ICP/MS.

Parallèlement, nous nous sommes intéressés à l'extraction solide/liquide par des copolymères à base d'acrylate. Nous nous sommes alors focalisés sur le développement d'un protocole d'extraction solide/liquide des lanthanides rapide et peu consommateur de polymères pour sélectionner les polymères les plus affins.

Dans un premier chapitre, après un bref rappel des propriétés des lanthanides, les méthodes permettant d'appréhender les interactions lanthanide/ligand seront recensées. Nous montrerons, tout au long de ce chapitre, l'intérêt de nos choix pour mener à bien l'ensemble de nos travaux.

Le second chapitre sera consacré à l'application du couplage de l'électrophorèse et de la spectrométrie de masse ICP/MS à la détermination de constantes de complexation d'une bibliothèque de ligands phosphorés. La première partie de ce chapitre sera destinée à présenter en détails la méthode utilisée. La seconde partie sera employée à décrire le criblage des différents ligands pour mettre en évidence les ligands les plus affins. Dans une troisième et dernière partie, pour les ligands les plus affins, les équilibres en présence seront décrits si possible.

Enfin, le troisième chapitre sera dédié à l'étude de différents copolymères afin d'évaluer l'influence de chaque composant d'un polymère. La première partie de ce chapitre sera consacrées à quelques rappels sur l'extraction solide/liquide et à la présentation des différents composants d'un polymère influençant les propriétés d'extraction de ce dernier. La seconde partie sera employée à décrire le criblage des différents copolymères afin d'en dégager les plus prometteurs. Dans une troisième partie, les propriétés d'extraction (l'affinité et la capacité) des polymères les plus prometteurs seront déterminées. Dans une quatrième et dernière partie, la sélectivité $La^{3+}/Eu^{3+}/Lu^{3+}$ sera évaluée pour différents copolymères.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

[1] S. Gu, H.-K. Kim, G. H. Lee, B.-S. Kang, Y. Chang, T.-J. Kim, J. Med. Chem., 54 (2011) 143-152.

[2] Y.-T. Chang, C.-M. Cheng, Y.-Z. Su, W.-T. Lee, J.-S. Hsu, G.-C. Liu, T.-L. Cheng, Y.-M. Wang, Bioconjugate Chem., 18 (2007) 1716-1727.

[3] M. Giardiello, M. Botta, M. P. Lowe, J. Incl. Phenom. Macrocycl. Chem., 71 (2011) 435-444.

[4] D. J. Bornhop, J. M. M. Griffin, T. S. Goebel, M. R. Sudduth, B. Bell, M. Motamedi, Appl. Spectrosc., 57 (2003) 1216-1222.

[5] R. Weissleder, Nature Biotechnology, 19 (4) (2001) 316-317.

[6] C. Piguet, J.-C. Bünzli, G. Bernardinelli, C. G. Bochet, P. Froidevaux, J. Chem. Soc. Dalton Trans., (1995) 83-97.

[7] J.-C. Bünzli, C. Piguet, Chem. Soc. Rev., 34 (2005) 1048-1077.

[8] H. H. Dam, D. N. Reinhoudt, W. Verboom, Chem. Soc. Rev., 36 (2007) 367-377.

[9] E. L. Hegg, J. N. Burstyn, Coord. Chem. Rev., 173 (1998) 133-165.

[10] H. H. Dam, H. Beijleveld, D. N. Reinhoudt, W. Verboom, J. Am. Chem. Soc., 130 (2008) 5542-5551.

Chapitre 1 :

Conception et étude de ligands pour la complexation des lanthanides

1. INTRODUCTION

Ce premier chapitre est consacré à la présentation générale de l'état des connaissances qui, sans être exhaustive, permettra d'appréhender la démarche expérimentale que nous avons adoptée au cours de ces travaux.

Un rappel des propriétés des lanthanides sera, tout d'abord, présenté. Dans une seconde partie, les démarches de synthèse de ligands complexants qu'il est possible d'adopter seront présentées. Nous montrerons alors la difficulté d'une synthèse a priori et ainsi l'intérêt d'une approche par synthèse parallèle, approche adoptée, dans ces travaux, pour la recherche de ligands complexant les lanthanides. Pour finir, les méthodes permettant l'étude des interactions lanthanide/ligand seront détaillées. Nous montrerons que le choix de la méthode est fonction de diverses considérations telles que les propriétés physico-chimiques des ligands et des lanthanides, les considérations économiques, le temps consacré à l'analyse ainsi que les domaines d'application du ligand.

Une attention particulière sera portée à l'électrophorèse capillaire et plus particulièrement aux différentes méthodes électrophorétiques pour déterminer les constantes de complexation, ainsi qu'aux polymères imprimés, une nouvelle classe d'extractants solides présentant un fort potentiel pour l'extraction solide/liquide des lanthanides.

2. PROPRIETES DES LANTHANIDES

2.1. Propriétés fondamentales

Les lanthanides ont été principalement découverts au 19ième siècle. Grâce aux travaux de Seaborg [1], ils ont été classés en famille à partir de 1940. Avec le scandium et l'yttrium, ils constituent la famille des "Terres Rares", bien que certains éléments comme le cérium (60 $\mu g.g^{-1}$), le néodyme (33 $\mu g.g^{-1}$) soient présents en quantité plus importante que d'autres éléments non qualifiés de rares tels le plomb (6,3 $ng.g^{-1}$). Ces éléments 4f présentent une homogénéité dans leurs propriétés chimiques. Leur chimie de coordination a longtemps été délaissée. Cependant, depuis une vingtaine d'années, elle connait un véritable élan de par les

nombreuses applications en imagerie médicale, dans le domaine des matériaux ou encore dans celui de la séparation lanthanides/actinides pour le retraitement du combustible nucléaire.

2.1.1. Propriétés électroniques

Les lanthanides représentent les 15 éléments de la première période du bloc f, allant du lanthane de configuration électronique [Xe] $4f^0$ $5d^1$ $6s^2$ au lutécium de configuration électronique [Xe] $4f^{14}$ $5d^1$ $6s^2$. Cette série est caractérisée par le remplissage progressif des orbitales 4f (tableau I.1). La couche 4f est une couche électronique interne. Un lanthanide quelconque est représenté par le symbole Ln.

Tableau I.1 : Configuration électronique des atomes et des ions trivalents de la série des lanthanides à l'état fondamental [1].

Ln	Symbole	Z	Configuration électronique Ln	Configuration électronique Ln^{3+}
Lanthane	La	57	[Xe] $4f^0$ $5d^1$ $6s^2$	[Xe]
Cérium	Ce	58	[Xe] $4f^1$ $5d^1$ $6s^2$	[Xe] $4f^1$
Praséodyme	Pr	59	[Xe] $4f^3$ $6s^2$	[Xe] $4f^2$
Néodyme	Nd	60	[Xe] $4f^4$ $6s^2$	[Xe] $4f^3$
Prométhium	Pm	61	[Xe] $4f^5$ $6s^2$	[Xe] $4f^4$
Samarium	Sm	62	[Xe] $4f^6$ $6s^2$	[Xe] $4f^5$
Europium	Eu	63	[Xe] $4f^7$ $6s^2$	[Xe] $4f^6$
Gadolinium	Gd	64	[Xe] $4f^7$ $5d^1$ $6s^2$	[Xe] $4f^7$
Terbium	Tb	65	[Xe] $4f^9$ $6s^2$	[Xe] $4f^8$
Dysprosium	Dy	66	[Xe] $4f^{10}$ $6s^2$	[Xe] $4f^9$
Holmium	Ho	67	[Xe] $4f^{11}$ $6s^2$	[Xe] $4f^{10}$
Erbium	Er	68	[Xe] $4f^{12}$ $6s^2$	[Xe] $4f^{11}$
Thulium	Tm	69	[Xe] $4f^{13}$ $6s^2$	[Xe] $4f^{12}$
Ytterbium	Yb	70	[Xe] $4f^{14}$ $6s^2$	[Xe] $4f^{13}$
Lutécium	Lu	71	[Xe] $4f^{14}$ $5d^1$ $6s^2$	[Xe] $4f^{14}$

La perte d'un électron 4f ou 5d et des deux électrons 6s conduit à des ions trivalents, cet état d'oxydation étant le plus stable de ces éléments [2]. Ces ions trivalents sont notés Ln^{3+} (ou

Ln(III)). Cependant, le samarium, l'europium et l'ytterbium peuvent exister à l'état d'oxydation 2 ; le cérium, le praséodyme et le thulium à l'état d'oxydation 4 (tableau I.2).

Tableau I.2 : Degrés d'oxydation communs des lanthanides [3].

Elément	La	Ce	Pr	Nd	Pm	Sm	Eu	Gd	Tb	Dy	Ho	Er	Tm	Yb	Lu
Etat d'oxydation				(2)	(2)	2	2			(2)	(2)		(2)	2	
	3	**3**	**3**	**3**	**3**	**3**	**3**	**3**	**3**	**3**	**3**	**3**	**3**	**3**	**3**
		4	4	(4)						(4)			4		

Les chiffres en gras indiquent les états les plus stables et ceux entre parenthèses un état instable.

2.1.2. Propriétés ioniques

Les lanthanides présentent une grande similitude dans leurs propriétés chimiques, seul le rayon ionique évoluant lentement du début à la fin de la série.

Les orbitales 4f présentent une faible extension radiale et sont écrantées par les orbitales $5s^2$ et $5p^6$ pleines. Elles sont alors protégées vis-à-vis des perturbations extérieures. Les électrons 4f sont peu sensibles à l'environnement chimique [4]. Une liaison chimique par interaction covalente est impossible avec les électrons 4f. L'interaction lanthanide - ligand est alors décrite par un modèle purement ionique.

Les ions lanthanides trivalents présentent une décroissance régulière du rayon ionique lorsque le numéro atomique augmente. Ce phénomène est appelé contraction lanthanidique (tableau I.3) [5, 6]. Cette contraction provient de l'augmentation de la charge nucléaire effective lors de l'ajout d'un électron dans les orbitales f. L'effet d'écran d'un électron 4f sur un autre est faible ce qui entraîne une contraction progressive des orbitales 5s et 5p. Cette variation est de 15 % entre le lanthane et le lutécium mais reste faible entre ions successifs, de l'ordre de 1 %, d'où la difficulté de concevoir un récepteur spécifique d'un ion lanthanide donné.

Le caractère non directionnel de la liaison M-L se manifeste au travers d'une faible préférence stéréochimique donc un nombre de coordination et une géométrie associée variables. La géométrie et le nombre de coordination sont conditionnés par les interactions électrostatiques et stériques entre le cation métallique et le ligand, mais également entre les ligands [6, 7].

Les ions lanthanides présentent un nombre de coordination allant de 6 à 12, les plus fréquemment observés étant 8 et 9. Une décroissance du nombre de coordination est observée tout au long de la série du fait de la diminution du rayon ionique. En solution aqueuse, les complexes aquo des ions lanthanides du début de la série du lanthane au praséodyme présentent un nombre de coordination de 9 tandis que les ions lanthanides de la fin de la série allant du dysprosium au lutécium présentent un nombre de coordination de 8. Pour les lanthanides entre le néodyme et le terbium, un équilibre entre les deux nombres de coordination 8 et 9 est observable [8].

Les contraintes stériques ont une influence sur la sphère de coordination. Une coordination particulière autour de l'ion peut être imposée par un ligand multidentate donné.

Tableau I.3 : Rayon ionique (Å) des ions lanthanides Ln^{3+} pour différents nombres de coordination (NC) [9].

Ln^{3+}	NC = 6	NC = 7	NC = 8	NC = 9	NC = 10	NC = 12
La	1,032	1,100	1,160	1,216	1,270	1,360
Ce	1,010	1,070	1,143	1,196	1,250	1,340
Pr	0,990		1,126	1,179		
Nd	0,983		1,109	1,163		1,270
Pm	0,970		1,093	1,144		
Sm	0,958	1,020	1,079	1,132		1,240
Eu	0,947	1,010	1,066	1,120		
Gd	0,938	1,000	1,053	1,107		
Tb	0,923	0,980	1,040	1,095		
Dy	0,912	0,970	1,027	1,083		
Ho	0,901		1,015	1,072	1,120	
Er	0,890	0,945	1,004	1,062		
Tm	0,880		0,994	1,052		
Yb	0,868	0,925	0,985	1,042		
Lu	0,861		0,977	1,032		

Le rayon ionique décroît de 1,032 Å pour le lanthane à 0,861 Å pour le lutécium, pour un nombre de coordination de 6. Pour un nombre de coordination identique, le rayon ionique des actinides décroît de 1,120 Å pour l'actinium à 0,896 Å pour le lawrencium. Bien que l'ion

actinide soit légèrement plus gros que l'ion lanthanide, la différence reste insuffisante pour une discrimination entre les deux familles sur des critères stériques.

2.2. Propriétés spectroscopiques des ions lanthanides

2.2.1. Luminescence

La luminescence des lanthanides a été exploitée dans le domaine médical notamment les sondes luminescentes [10 - 13], les tests immunologiques [14 - 16] ou encore l'imagerie optique [17, 18].

A l'exception du La^{3+} et du Lu^{3+} de configuration [Xe] $4f^0$ et [Xe] $4f^{14}$ respectivement, les ions lanthanides sont luminescents. L'origine de cette luminescence se trouve dans les transitions f-f. Comme nous l'avons vu précédemment, les électrons 4f sont peu perturbés par l'effet du champ des ligands. Les spectres de luminescence des ions lanthanides se présentent sous la forme de bandes d'émission fines à des énergies spécifiques dans l'ultra-violet, dans le visible et dans le proche infrarouge.
Les transitions f-f sont théoriquement interdites par les règles de sélection de Laporte et par la règle de sélection de spin [19]. Cette interdiction est atténuée par le couplage des états électroniques avec les états vibrationnels et les mélanges de fonctions d'ondes de différents nombres quantiques J ou de différentes parités.
De long temps de vie des états excités et donc un temps de vie de luminescence allant de la microseconde à la milliseconde sont observés pour les ions lanthanides [20]. L'Eu^{3+} et le Tb^{3+} sont les plus utilisés du fait de leur temps de luminescence de l'ordre de la milliseconde et de leur émission dans le visible (vert $\lambda_{ém}$ = 545 nm et rouge $\lambda_{ém}$ = 620 nm pour le Tb^{3+} et l'Eu^{3+} respectivement). Par ailleurs, les désexcitations non radiatives sont limitées pour ces deux lanthanides compte tenu des grandes différences d'énergie entre l'état fondamental et l'état excité de chacun, ce qui implique une forte émission. L'efficacité de luminescence est dépendante de la différence entre état fondamental et état excité de l'ion considéré ; si la différence est faible, les processus de désexcitation non radiatifs sont probables. La luminescence de certains ions lanthanides en solution présente un intérêt remarquable dans le domaine médical. Les complexes de Nd, Er ou Yb sont bien adaptés, leur luminescence étant dans le rouge ou le proche infrarouge, domaine de transparence des milieux biologiques (absorption des tissus et de l'eau) [18]. Les temps de luminescence étant longs, il est possible

de réaliser l'analyse après un temps donné pour s'affranchir des signaux de luminescence non désirés du milieu ; ces mesures sont dites en temps résolu.

La probabilité des transitons f-f étant faible, le coefficient d'extinction molaire est faible [21]. Dès lors, il n'est pas possible d'utiliser les ions lanthanides directement en tant que chromophores, à moins de disposer de sources d'excitation intenses (LASER). Il est possible de procéder à l'excitation indirecte des lanthanides, ce processus étant appelé "effet d'antenne". Les ions lanthanides peuvent être complexés par un ligand présentant un chromophore susceptible d'absorber des photons de manière efficace. Le lanthanide va favoriser le croisement inter-système qui conduira au transfert de l'énergie à l'ion lanthanide.

De nombreux complexes de lanthanides présentent de faibles rendements quantiques de luminescence en solution aqueuse à cause de désactivations non radiatives liées à la présence de molécules d'eau coordinées [22]. Lors de l'utilisation des complexes de lanthanides dans le domaine médical, la première sphère de coordination de l'ion lanthanide doit être saturée pour éviter cette diminution de luminescence.

2.2.2. Paramagnétisme

A l'exception du La^{3+} et du Lu^{3+} de configuration [Xe] $4f^0$ et [Xe] $4f^{14}$ qui sont diamagnétiques, tous les ions lanthanides sont paramagnétiques compte tenu de la présence d'électrons non appariés dans les orbitales 4f.

Le paramagnétisme des ions lanthanides a été exploité dans le domaine médical, dans l'élaboration d'agents de contraste pour imagerie par résonance magnétique. Les complexes de Gd^{3+} sont les plus utilisés, les ligands utilisés allant des polyaminocarboxylates [23 - 28], des hydroxypyridinonates [29, 30] aux tripodes [31]. En effet, le Gd^{3+} possède sept électrons non appariés, ce qui lui permet de disposer d'un moment magnétique élevé et d'un temps de relaxation électronique long, supérieur à la nanoseconde du fait de l'état symétrique S du Gd^{3+}. L'utilisation de complexes de Gd^{3+} induit un couplage dipolaire efficace entre le moment magnétique du Gd^{3+} et le moment dipolaire des protons à proximité [32], ce qui contribue fortement à la relaxation des protons et donc à l'amélioration du contraste [33].

Par ailleurs, la sphère de coordination du Gd^{3+} ne doit pas être saturée. En effet, au moins un site de coordination doit être disponible pour intégrer une molécule d'eau et ainsi collecter les

informations. La relaxation des protons est d'autant plus importante que le nombre de sites de coordination disponibles est élevé.

Toutefois, l'utilisation de complexes de Gd^{3+} impose une stabilité thermodynamique et cinétique dans le but de ne pas relarguer de Gd^{3+} compte tenu de sa toxicité. En effet, il peut interagir avec les protéines du sang, les phosphates, les carbonates ou former des hydroxydes endogènes et se déposer dans le foie ou les os sous forme de $Gd(OH)_3$. Du fait de leurs rayons ioniques similaires, le Gd^{3+} est également susceptible d'occuper des sites destinés au calcium.

2.3. Nature de la liaison lanthanide/ligand

Pearson a introduit le concept de dureté chimique en 1963 [34]. Il a classé les acides et les bases de Lewis en deux groupes selon différentes caractéristiques : les espèces dites dures et les espèces dites molles. Les espèces dites dures sont de petite taille, faiblement polarisables et présentent des densités de charge élevées. Les acides durs sont difficiles à oxyder et les bases dures sont difficiles à réduire. De plus, les acides durs présentent des degrés d'oxydation élevés. Les espèces dites molles, quant à elles, sont de grande taille, fortement polarisables et présentent des densités de charges faibles. Les acides mous sont faciles à oxyder et les bases molles faciles à réduire. Il émet alors le postulat que les acides de Lewis ont une préférence à établir des liaisons de coordination avec des bases présentant les mêmes caractéristiques. En d'autres termes, les acides durs interagissent plus fortement avec les bases dures, les acides mous avec les bases molles.

Les interactions acide mou/base molle sont principalement de nature covalente. Les interactions acide dur/base dure sont principalement de nature ionique.

Les ions lanthanides au degré d'oxydation +3 présentent une densité de charge élevée et sont peu polarisables, du fait de la faible extension spatiale des orbitales f. Les ions lanthanides sont donc des acides durs selon la classification de Pearson [35]. Ils interagissent préférentiellement avec des ligands à atomes donneurs durs tels que des atomes d'oxygène (carboxylates, phosphonates, ...) par des interactions électrostatiques. Pour former un complexe stable en solution aqueuse, le ligand doit être capable de déplacer des molécules d'eau qui sont fortement liées à l'ion lanthanide.

La forte acidité au sens de Lewis induit l'activation des molécules d'eau coordinées à l'ion lanthanide. Cela conduit à la formation, à des pH supérieurs à 7, de complexes insolubles de type $Ln(OH)_3$.

Tout comme les lanthanides, les actinides sont des acides durs selon la classification de Pearson. Cependant, ils le sont moins que les lanthanides du fait de l'extension spatiale des orbitales f plus importante, les électrons étant plus polarisables parce qu'ils sont moins protégés par les électrons de valence. Un faible pourcentage de covalence peut alors intervenir dans les liaisons formées avec des ligands présentant des atomes donneurs mous (S, N aromatique) [36]. Cette différence électronique entre les deux familles est exploitée pour la conception de ligands pour la séparation des deux séries du bloc f.

3. STRATEGIE DE RECHERCHE

3.1. Conception "rationnelle" de ligand

Le principe de la conception rationnelle d'un ligand implique la connaissance préalable des propriétés de l'ion ciblé. Entre d'autres termes, il s'agit de « construire » des ligands pour interagir spécifiquement avec l'ion ciblé, et ce à partir des propriétés connues de l'ion ciblé.

Pour la conception d'un ligand, plusieurs facteurs doivent être pris en compte, à savoir le choix des fonctions complexantes, la denticité du ligand et l'architecture du ligand. En effet, les fonctions complexantes sont choisies en fonction de leur capacité à interagir avec l'ion ciblé. Par ailleurs, le phénomène de complexation étant généralement gouverné par des effets entropiques, des ligands multidentates sont préférés pour leur effet chélate. La préorganisation du ligand permet d'améliorer les propriétés de coordination de celui-ci par des échanges entropiques plus favorables. La denticité et la préorganisation du ligand doivent être adaptées respectivement au nombre et à la géométrie de coordination de l'ion ciblé.

Selon l'application (médicale, nucléaire, etc...), des contraintes de stabilité, de toxicité et des conditions de pH, de lipophilie sont également à prendre en compte. Ainsi, dans le domaine du nucléaire, les ligands sont soumis à des milieux à la fois très acides et radiolytiques. La

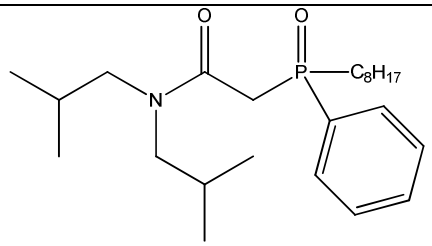
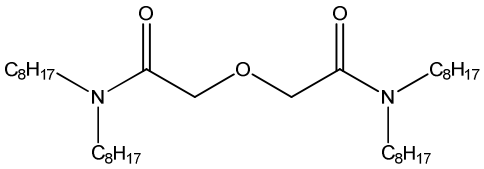
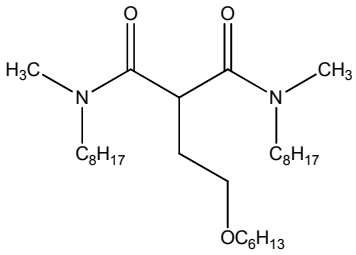
sensibilité des ligands au milieu acide et au phénomène de radiolyse doit être prise en considération pour l'évaluation de nouveaux ligands extractants. En plus des contraintes liées au milieu dans ce domaine, il est nécessaire que les ligands respectent le principe CHON pour réduire les quantités de déchets secondaires ; les produits issus de leur combustion étant alors peu nocifs.

3.1.1. Influence des atomes donneurs

Rappelons que les lanthanides sont des acides durs selon la classification de Pearson, qui interagiront préférentiellement avec des atomes durs. Ils présentent un nombre de coordination de 8 ou 9 et une géométrie de coordination « flexible ».
Compte tenu des propriétés des lanthanides, les recherches sont orientées vers des ligands O-donneurs ou encore des ligands N-donneurs.

Les ligands O-donneurs présentent différentes fonctions oxygénées : les phosphonates, les phosphinates, les oxydes de phosphines, les malonamides, les diglycolamides, les acides carboxyliques, etc...
L'atome d'oxygène, possédant un caractère dur, confère à ces ligands de bonnes propriétés de complexation. Le tableau I.4 présente quelques exemples de ligands O-donneurs.

Tableau I.4 : Exemples de ligands O-donneur.

Ligand	Acronyme	Formule
Oxyde de octyl(phényl)-N,N-diisobutyl-carbamoylméthylphosphine	CMPO	
N,N'-diméthyl-N,N'-dioctyl-2-hexyloxyéthylmalonamide	DMDOHEMA	
N,N,N',N'-tétraoctyldiglycolamide	TODGA	

Parmi les oxydes de phosphine, le ligand le plus connu est l'oxyde de octyl(phényl)-N,N-diisobutyl-carbamoylméthylphosphine (CMPO). Il est admis que le lanthanide est coordonné principalement par l'atome d'oxygène du groupement oxyde de phosphine, l'atome d'oxygène du groupement carbonyle participant faiblement à la coordination du lanthanide.

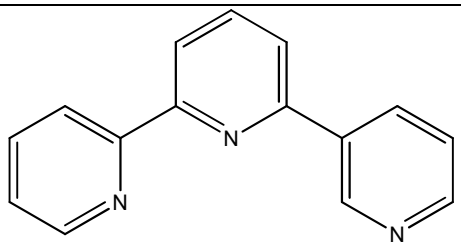
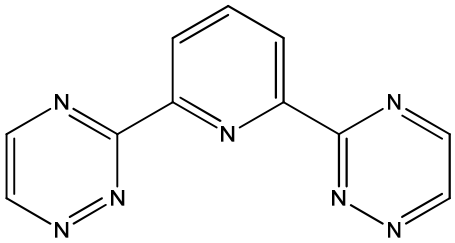
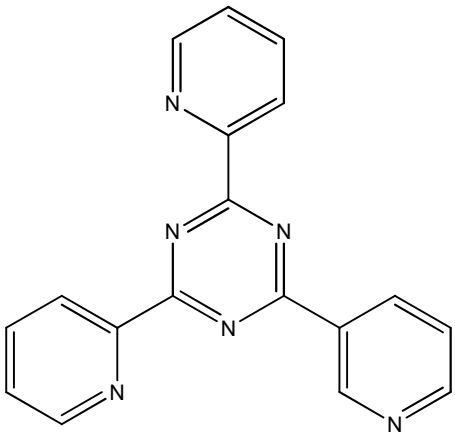
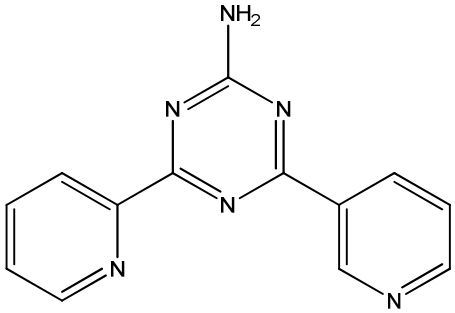
Les malonamides sont des ligands bidentates de par les atomes d'oxygène des deux groupements carbonyles. Le N,N'-diméthyl-N,N'-dioctyl-2-hexyloxyéthylmalonamide (DMDOHEMA) appartient à cette famille et est utilisé dans le procédé d'extraction DIAMEX pour la co-extraction des lanthanides et des actinides.

Le N,N,N',N'-tétraoctyldiglycolamide (TODGA) appartient à la famille des diglycolamides. Ces ligands sont des ligands tridentates compte tenu de la participation de l'atome central d'oxygène à la coordination du lanthanide. Le TODGA est impliqué dans le procédé d'extraction TODGA également pour la co-extraction des lanthanides et des actinides.

Pour les ligands N-donneurs, l'atome d'azote est, dans la plupart des cas, incorporé dans un cycle aromatique. Des ligands tels que les terpyridines, les *bis*-triazinyl-pyridines, les *tris*-

pyridinyl-triazines, les amino-*di*-pyridinyl-triazines par exemple ont été étudiés pour la complexation des lanthanides et des actinides. Le tableau I.5 présente quelques exemples de ligands N-donneurs.

Tableau I.5 : Exemples de ligands N-donneur.

Ligand	Acronyme	Formule
2,2' : 6',2''-Terpyridine	Tpy	
2,6-Bis(1,2,4-triazin-3-yl)pyridine	BTP	
2,4,6-Tri(pyridin-2yl)-1,3,5-triazine	Tptz	
2,6-Bis(pyridin-2-yl)4-amino-1,3,5-triazine	Adptz	

3.1.2. Influence de la denticité et de la préorganisation

Les ligands possédant un site donneur sont dits unidentates, ceux possédant deux sites donneurs, bidentates, etc... En d'autres termes, les termes unidentate, bidentate, tridentate, tétradentate, ... sont utilisés pour spécifier le nombre de sites donneurs présents au sein d'un ligand donné, soit la denticité de ce ligand. D'une manière générale, plus la denticité d'un ligand sera élevée, plus les complexes formés seront stables ; le nombre de coordination de l'ion métallique considéré étant alors au mieux satisfait.

Pour améliorer les propriétés de complexation, il est possible de préorganiser le ligand sur une plateforme. Un nombre conséquent d'atomes donneurs est alors présent dans la sphère de coordination du métal, ce qui conduit le plus souvent à de meilleures propriétés de complexation.
La préorganisation est influencée par les paramètres structuraux des différentes plateformes.

De nombreux exemples de préorganisation de ligand pour la complexation des métaux ont été rapportés dans la littérature. Les calixarènes ont été utilisés comme plateforme pour la préorganisation des ligands pour les lanthanides. La structure générale d'un calix[4]arène est présentée dans la figure I.1.

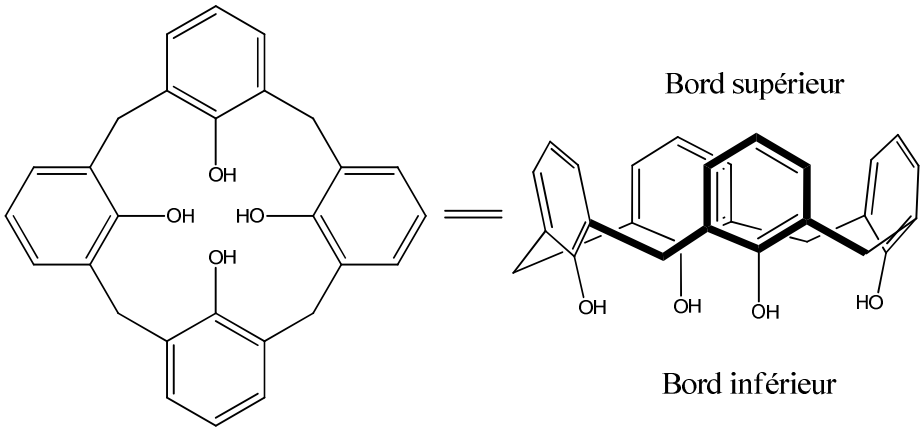


Figure I.1 : Représentation de la structure d'un calix[4]arène.

Les calix[n]arènes sont des macrocycles formés par n unités phénoliques (n pouvant aller jusqu'à 20), ces dernières étant liées entre elles par un pont méthylène en position ortho du groupement hydroxyle. La fonctionnalisation de la plateforme pour la complexation est possible soit par fonctionnalisation du bord inférieur (petite cavité) soit par fonctionnalisation

du bord supérieur de la plateforme (grande cavité) ; l'autre bord pouvant alors être fonctionnalisé pour moduler la solubilité ou la conformation de la plateforme.

L'affinité et la sélectivité de ces structures sont influencées par différents facteurs incluant le degré de condensation (nombre d'unités phénoliques), la conformation du calixarène et la nature des fonctions complexantes.

L'utilisation de calixarènes pour la complexation des lanthanides est un vaste domaine, les exemples étant nombreux dans la littérature. La figure I.2 présente des exemples de calixarènes utilisés pour la complexation des lanthanides. Les calix[4]arènes et les calix[6]arènes fonctionnalisés par des fonctions acides carboxyliques (figure I.2 (a) [37]), acides hydroxamiques (figure I.2 (b) [38]), phosphonates (figure I.2 (c) [39] et (d) [40]) ou encore par des oxydes de phosphine (figure I.2 (e) [41] et (f) [42]) sont parmi les plus utilisés pour la complexation des lanthanides.

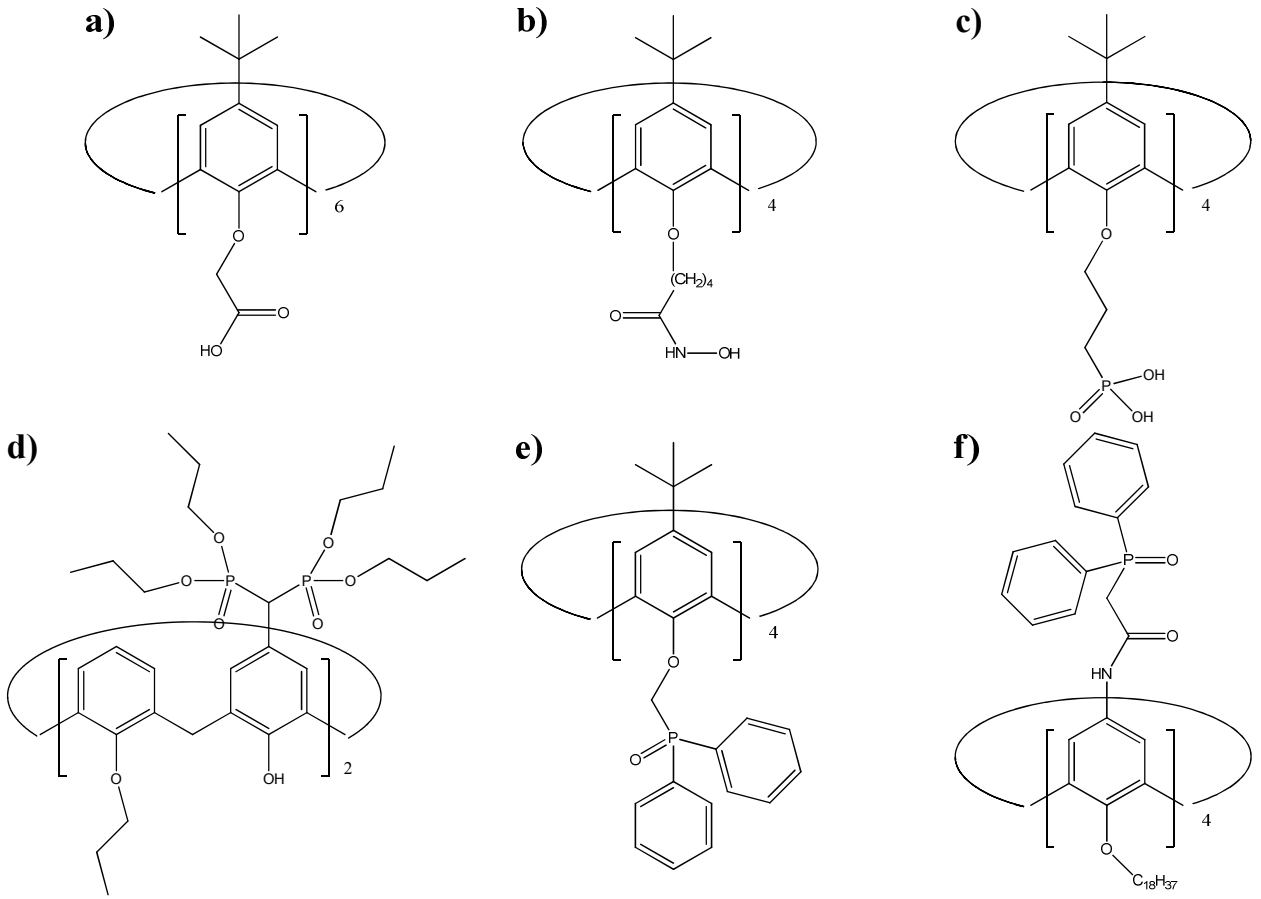


Figure I.2 : Exemples de calixarènes.

Les propriétés d'extraction du calixarène f) substitué par quatre groupements CMPO [$NHC(O)CH_2P(O)Ph_2$] ont été étudiées. L'extraction de différents cations incluant l'Eu^{3+} d'une

solution d'acide nitrique 1 M dans le dichlorométhane a été réalisée. L'extraction des cations par le calixarène fonctionnalisé par le CMPO est plus efficace par rapport à l'extraction par le CMPO [$iBu_2NC(O)CH_2P(O)(Oct)Ph$] compte tenu de la préorganisation du ligand [42].

Contrairement aux calixarènes, seuls quelques cavitands ont été développés pour la complexation des lanthanides [43 - 46]. La structure des cavitands est similaire à celle des calixarènes comme le suggère la figure I.3. Cependant, la structure des cavitands est plus rigide compte tenu de l'introduction de pont méthylène glycol entre deux phényles et ce, au niveau du bord supérieur. A la différence des calixarènes pour lesquels il est possible de moduler la rigidité de la plateforme par l'introduction de substituants encombrants, la rigidité des cavitands n'en sera pas affectée. La plateforme peut être fonctionnalisée soit par le bord inférieur soit par le bord supérieur de cette dernière ; l'autre bord pouvant être fonctionnalisé pour moduler la solubilité de l'ensemble.

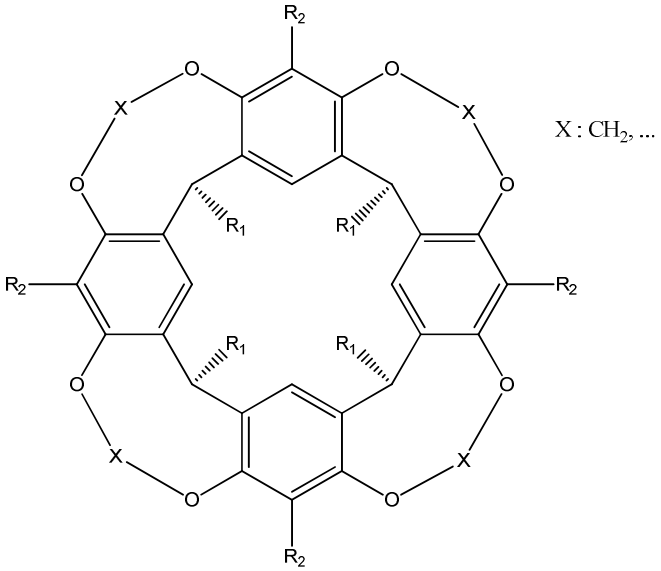


Figure I.3 : Représentation de la structure d'un cavitand.

La figure I.4 présente des exemples de cavitands utilisés pour la complexation des lanthanides. Les cavitands fonctionnalisés par des oxydes de phosphine (figure I.4 (a) [43]) ou des phosphinates (figure I.4 (b) [45] et (c) [46]) ont été développés.

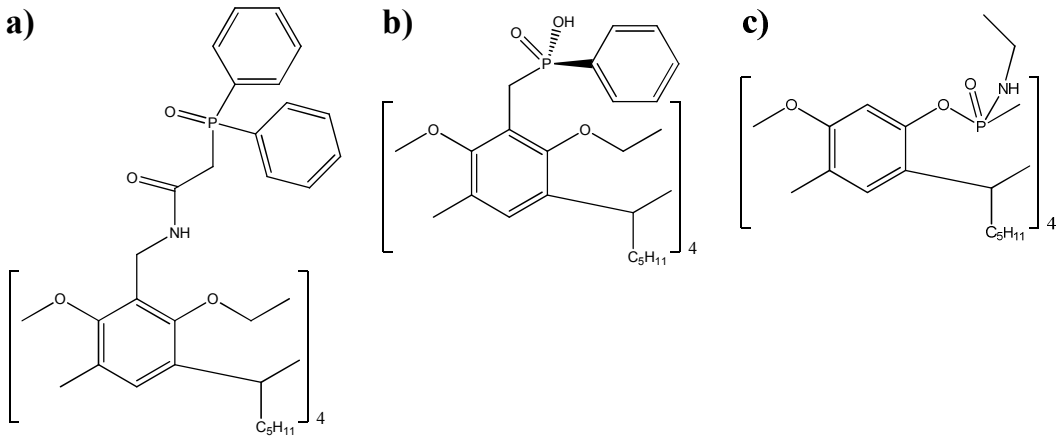


Figure I.4 : Exemples de résorcinarènes.

En condition synergique avec le Br6-COSAN, le cavitand a), fonctionnalisé par quatre groupements CMPO, présente des coefficients de distribution, pour des concentrations en acide nitrique inférieures à 1 M, supérieurs à ceux obtenus pour le CMPO seul [47].

3.2. Synthèse de bibliothèque de ligands

Dans le cadre de la recherche de nouveaux ligands pour la complexation des lanthanides, il semble cependant difficile de prévoir quel ligand présentera les caractéristiques structurales optimales liées à la complexation sélective du lanthanide étudié. En effet, comme nous l'avons vu précédemment, les différentes propriétés des lanthanides sont similaires (rayon ionique, état d'oxydation identique, nombre de coordination). Ils présentent donc des réactivités voisines. En d'autres termes, la similitude de leurs propriétés induit un comportement très comparable dans diverses réactions chimiques.

Une autre approche de synthèse consiste à ne faire varier qu'un seul facteur à la fois. Cependant, les bibliothèques ainsi générées comptent tout de même un nombre de ligands relativement conséquent. Il est donc nécessaire de mettre au point des synthèses rapides et efficaces. Cette approche nécessite également le développement d'outils de criblage rapides et peu consommateurs, puisque, le plus souvent, les ligands sont synthétisés à l'échelle du milligramme.

Au milieu des années 2000, fut publiée, pour la première fois, l'idée que les approches de synthèse de type combinatoire ou de type parallèle pourraient constituer une alternative

efficace dans le domaine de la recherche de ligands complexants les lanthanides et les actinides.

Sawicki *et al.* ont utilisé cette approche dans le cadre de la recherche de ligands complexant l'UO_2^{2+} ; une centaine de ligands étant alors disponibles [48]. Un protocole rapide et peu consommateur de ligand, basé sur un dosage colorimétrique par compétition, a été développé pour réaliser le criblage de cette bibliothèque. A partir de ce criblage, les auteurs ont pu comparer l'affinité des différents ligands pour l'UO_2^{2+}. Ainsi, il leur a été possible de classer les différents ligands de la bibliothèque criblée.

Dam *et al.* ont également utilisé cette approche pour la synthèse d'une bibliothèque composée de près d'une centaine de ligands immobilisés sur une résine dans la recherche de ligands pour l'Am^{3+} et l'Eu^{3+} [49]. Un protocole peu consommateur de matière, basé sur l'extraction solide/liquide de l'Am^{3+} et de l'Eu^{3+} suivie de la mesure du rayonnement γ spécifique de chaque radionucléide pour déterminer la quantité retenue, a été développé. Ainsi, les auteurs ont pu mettre en évidence deux nouveaux motifs complexants l'Am^{3+}.

Ces exemples d'application de synthèse parallèle ou combinatoire dans la découverte de nouveaux ligands pour les lanthanides et les actinides montrent le potentiel que présentent ces approches. Toutefois, il faut noter que chaque exemple est associé à une méthode d'analyse rapide.

4. ETUDE DE L'AFFINITE LANTHANIDE/LIGAND

Le choix de la méthode pour étudier l'affinité lanthanide/ligand est fonction des propriétés physico-chimiques des ligands et des lanthanides. Ce choix est également dicté par les applications et par des considérations en termes de temps et d'argent.

4.1. Méthode d'étude en milieu homogène

4.1.1. Méthodes analytiques non séparatives

4.1.1.1.Potentiométrie

La potentiométrie consiste d'une part à déterminer les constantes de protonation d'un ligand par titrage acido-basique (ligand sous forme basique titré par un acide fort ou ligand sous forme acide titré par une base forte), et d'autre part, à réaliser un dosage en présence de l'ion métallique. Dans le cas où le cation sera complexé par le ligand, la courbe de titrage sera modifiée de par la perturbation de la basicité du ligand suite à la compétition avec les protons pour les sites basiques.
Lors d'un titrage potentiométrique, le pH de la solution sera suivi en fonction du volume de titrant ajouté.
Après traitement de ces données, il est possible de déterminer les constantes d'équilibre des diverses espèces en présence dans la solution (constantes de protonation du ligand ou constantes de complexation).

La potentiométrie est l'une des techniques les plus utilisées pour appréhender les interactions lanthanide/ligand. Cependant, la potentiométrie requiert l'utilisation de solutions de ligand et de métal de concentration de l'ordre du millimolaire. Des quantités de ligand allant de quelques centaines de microgrammes à quelques dizaines de milligrammes sont nécessaires, ce qui n'est pas compatible avec l'étude de systèmes dont l'un des partenaires est disponible en très faible quantité. Ce constat est également valable pour les quantités de métaux utilisées.
Il faut également garder à l'esprit que cette technique ne s'adresse qu'aux ligands présentant des sites de protonation.

4.1.1.2.Spectrophotométrie UV-Visible

La spectrophotométrie UV-Visible repose sur les transitions électroniques après absorption d'ondes dont les fréquences se situent dans le visible et l'ultraviolet.
Au moins l'une des espèces mises en jeu dans les équilibres, le ligand en général, absorbe. Lorsque que le métal est complexé par le ligand, une perturbation électronique apparait et fait varier les niveaux d'énergie, ce qui se traduit, dans le spectre, par des modifications et/ou des

déplacements de pics. Les modifications observées dans le spectre sont caractéristiques du complexe formé. Ces modifications sont engendrées par des variations de pH et/ou une variation du rapport métal/ligand. Elles permettent, après traitement des différents spectres, de déterminer la stœchiométrie du complexe formé ainsi que la (es) constante (s) de complexation associée (s) à l'équilibre.

L'adsorption en UV-Visible est caractérisée par la loi de Beer-Lambert, définie par l'équation suivante :

$$I = I_0 \,.\, 10^{-\varepsilon \,.\, l \,.\, C} \qquad \text{(Eq. 1)}$$

Avec I : Intensité lumineuse transmise

I_0 : Intensité de la radiation d'excitation

ε : Coefficient d'extinction molaire ($L.mol^{-1}.cm^{-1}$)

l : Trajet optique parcouru par la lumière à travers l'échantillon (cm)

C : Concentration (M)

Les spectres UV-Visible sont alors caractérisés par l'absorbance (A), définie par :

$$A = \log\left(\frac{I_0}{I}\right) = \varepsilon \,.\, l \,.\, C \qquad \text{(Eq. 2)}$$

En pratique, des séries de solutions sont réalisées où la concentration du ligand est maintenue constante et la concentration du métal est variable ou inversement, soit des titrages spectrophotométriques.

Tout comme la potentiométrie, la spectrophotométrie UV-Visible est une des techniques très utilisées pour appréhender les interactions lanthanide/ligand. Toutefois, cette technique n'est pas adaptée à l'étude de système dont l'un des partenaires n'est disponible qu'en très faible quantité. En effet, la spectrophotométrie exige des quantités de ligand pouvant atteindre la centaine de microgrammes. Il faut noter que cette technique ne s'adresse qu'aux ligands possédant des chromophores.

Une approche alternative pour le criblage des bibliothèques a été l'utilisation de dosages colorimétriques par compétition, simples et rapides, pour classer une centaine de ligands en fonction de leur affinité pour l'UO_2^{2+} [48]. Le déplacement d'un complexe initial chromogène par le ligand d'intérêt induit des variations d'absorbance. Cinq classes de constantes de

complexation conditionnelles ont été distinguées en fonction des changements d'absorbance observés. Il faut noter que les différentes expérimentations, réalisées en duplicat, pour l'évaluation de l'affinité d'un ligand, n’ont nécessité que quelques dizaines de microgrammes de ligand et une dizaine de microgrammes d'uranyle. Une détermination plus précise de ces constantes nécessiterait néanmoins le recours aux protocoles classiques.

4.1.1.3.Spectroscopie de fluorescence

Lors de l'adsorption d'un photon par une molécule initialement dans son état fondamental, il en découle un état excité de plus haute énergie, l'énergie de ce photon correspondant au minimum à la différente d'énergie entre le niveau de plus basse énergie et un des niveaux électroniques excités de plus haute énergie. L'état excité n'étant pas stable, le retour de l'état S1 vert l'état S0 peut être réalisé par des processus non radiatifs ou par des processus radiatifs. Les processus non radiatifs correspondent à des processus non associés à l'émission d'un photon tels que les collisions avec les molécules de solvant. Les processus radiatifs impliquent l'émission d'un photon d'énergie égale à la différence d'énergie entre les deux niveaux d'énergie ; la relaxation d'un état électroniquement excité par émission d'un photon est appelée luminescence. Deux types de luminescence sont distingués : la fluorescence et la phosphorescence, la différenciation étant réalisée au niveau des temps caractéristiques de chacune. La fluorescence correspond au retour vers le niveau fondamental S0 à partir du niveau excité de même multiplicité S1. La phosphorescence correspond, quant à elle, au retour vers le niveau fondamental S0 à partir du niveau excité triplet T1. Les transitions électroniques entre deux niveaux de multiplicité différente étant interdite par les règles de la mécanique quantique, il en résulte que la fluorescence est un mécanisme rapide alors que la phosphorescence est un mécanisme plus lent.

L'état excité peut être peuplé par excitation laser. L'intensité du signal de fluorescence (F) est proportionnelle à la concentration du fluorophore :

$$F = FI(\lambda) \,.\, I_0 \,.\, \phi \,.\, \varepsilon \,.\, b \,.\, C \qquad \text{(Eq. 3)}$$

Avec $FI(\lambda)$: Fonction instrumentale

I_0 : Intensité de la radiation d'excitation

ϕ : Rendement quantique de fluorescence

ε : Coefficient d'extinction molaire spécifique à la longueur d'onde d'excitation ($L.mol^{-1}.cm^{-1}$)

b : Trajet optique parcouru par la lumière à travers l'échantillon (cm)

C : Concentration du fluorophore (M)

Cette équation n'est seulement valable dans des conditions de haute dilution.

La spectroscopie de fluorescence requiert des solutions de ligand de concentration de l'ordre du dixième de millimolaire, ce qui implique l'utilisation de quelques dizaines de microgrammes.

Elle requiert également des concentrations en métal de l'ordre du micromolaire voire du dixième de millimolaire. Les quantités de métal utilisées sont de l'ordre du nanogramme voire du microgramme.

Elle ne s'adresse qu'aux ligands portant des fluorophores et/ou des cations luminescents tels que l'Eu^{3+}, le Cm^{3+}, l'UO_2^{2+} ou encore l'Am^{3+}. Bien que plus sensible par rapport à la potentiométrie et à la spectrophotométrie UV-Visible, elle ne peut donc être considérée comme une technique de routine pour appréhender les interactions métal/ligand.

4.1.1.4.Comparaison des différentes méthodes

Les différentes caractéristiques des techniques utilisées pour appréhender les interactions lanthanide/ligand, présentées précédemment, sont rappelées dans le tableau I.6 pour comparaison.

Tableau I.6 : Caractéristiques de chaque technique pour appréhender les interactions lanthanide/ligand.

Technique	Spectrophotométrie UV-Visible	Potentiométrie	Spectroscopie de fluorescence
Consommation de ligand	10^{-3} - 10^{-5} M (1 - 50 mL)	10^{-3} M (1 - 50 mL)	10^{-4} - 10^{-6} M (0,25 - 1 mL)
Consommation de métal	10^{-3} M	10^{-3} - 10^{-4} M	10^{-5} - 10^{-6} M
Type de ligand	Portant un ou des chromophores	Portant des sites de proton	Portant un ou des fluorophores (ou cation luminescent)

Dans le cadre de l'étude d'une bibliothèque de ligands disponibles en faible quantité, ces trois techniques ne semblent pas envisageables. En effet, spectrophotométrie UV-Visible et la potentiométrie nécessitent des quantités de ligands trop importantes. La spectrophotométrie UV-Visible et la potentiométrie requièrent des quantités de métal également non négligeables contrairement à la spectroscopie de fluorescence. Malgré le fait que cette dernière soit plus sensible, elle ne peut constituer une méthode standard pour l'étude des interactions métal/ligand puisqu'elle est restreinte à l'étude de systèmes impliquant des ligands portant des fluorophores ou des cations luminescents. La potentiométrie et la spectrophotométrie UV-Visible sont, quant à elles, destinées à l'étude de systèmes impliquant des ligands comportant des sites de protonation et des ligands portant des chromophores respectivement.

4.1.2. Méthodes analytiques séparatives

4.1.2.1.L'électrophorèse capillaire, généralités

L'électrophorèse capillaire, disponible commercialement et intégrant à la fois la séparation et la détection apparait comme intéressante pour l'étude des interactions lanthanide/ligand. En effet, l'utilisation de l'électrophorèse capillaire présente l'avantage d'une faible consommation d'échantillon et d'électrolyte, quelques nanolitres et quelques microlitres respectivement. Ainsi, l'électrophorèse capillaire peut s'adapter à des échantillons disponibles en faible quantité. De plus, dans la mesure où la nature des électrolytes et des échantillons est

contrôlée, les équilibres chimiques ne sont pas perturbés, contrairement à d'autres méthodes séparatives nécessitant l'utilisant d'une phase mobile et d'une phase stationnaire.

Le principe de l'électrophorèse capillaire repose sur la migration d'espèces chargées en solution sous l'effet d'un champ électrique.

La migration des espèces chargées présentes dans l'échantillon est due à la contribution de deux phénomènes : l'électrophorèse caractérisée par la mobilité électrophorétique (μ_{ep}) des espèces chargées, principalement fonction de leur densité de charge, et l'électroosmose conduisant à une mobilité électroosmotique (μ_{eo}) induite par la présence de charges à la surface du capillaire. La mobilité d'une espèce chargée est la résultante de sa mobilité électrophorétique et de la mobilité électroosmotique.

Les séparations sont réalisées dans un capillaire de silice fondue rempli d'électrolyte ; les deux extrémités du capillaire plongeant dans des réservoirs d'électrolyte dans lesquels sont immergées deux électrodes de platine. L'échantillon est injecté à l'une des extrémités du capillaire, la détection est réalisée à l'autre extrémité. Lors de la séparation, une différence de potentiel est appliquée aux extrémités du capillaire.

Classiquement, les différents appareils commerciaux sont dotés d'une détection UV. Ce type de détection est donc plus adapté aux espèces présentant des groupements chromophores si l'on veut atteindre la sensibilité suffisante nécessaire à l'étude de ligands en faibles quantités. Les récents développements en termes d'interface mais aussi d'instrumentation permettent à l'électrophorèse capillaire couplée à la spectrométrie de masse ICP/MS de constituer une alternative aux méthodes classiquement utilisées. Le couplage CE-ICP/MS permet d'allier l'efficacité de séparation par électrophorèse capillaire et la haute sensibilité ainsi que la possibilité d'analyse multi-élémentaire de la détection par spectrométrie de masse.

4.1.2.2.Différentes méthodes électrophorétiques pour la détermination de constante de complexation

4.1.2.2.1. Influence de la cinétique de complexation

Lors de l'application d'un champ électrique, les espèces sont séparées en zones distinctes et se trouvent alors en déséquilibre, conduisant à une modification de la spéciation. La détermination de constantes de complexation en électrophorèse capillaire aura alors recours à différents protocoles, dépendant de la stabilité du complexe formé.

Dans le cas simplifié d'un complexe 1 : 1 entre un ligand et un métal, Sonke *et al.* ont établi un diagramme permettant l'évaluation de la stabilité du complexe par rapport au temps d'une séparation [50]. Ils ont ainsi défini la stabilité d'un complexe à partir de la constante thermodynamique de complexation et de sa constante cinétique de formation.

Ils ont estimé la constante cinétique de formation d'un complexe à partir de la constante de complexation en sphère externe K_{OS} et de la constante d'échange de l'eau k_{-w} entre la sphère externe et la sphère interne de complexation selon l'équation suivante :

$$k_f = K_{OS} \cdot k_{-w} \qquad \text{(Eq. 4)}$$

La constante K_{OS} dépend de la charge des espèces considérées et de la force ionique. Toutefois, elle est approximée à 1 dans la mesure où elle ne joue pas un rôle important.

Le temps de demi-vie d'un complexe dans l'eau pure est donné par la relation suivante :

$$t_{1/2} = -\frac{\ln(0{,}5)}{k_d} \qquad \text{(Eq. 5)}$$

Avec k_d : Constante cinétique de dissociation

A partir de ces deux équations, ils ont établi le diagramme présenté dans la figure I.5.

Figure I.5 : Diagramme de stabilité des complexes métal-ligand au cours d'une séparation électrophorétique [50].

La zone grisée correspond aux complexes dont les temps de demi-vie sont compris entre 0,001 et 1000 s.

Abscisses : constante cinétique de formation du complexe

Ordonnées : constante thermodynamique de complexation.

Trois zones de stabilité des complexes sont mises en évidence sur ce diagramme au cours d'une analyse par électrophorèse ; ces zones étant fonction de la constante cinétique de formation du complexe, de la constante thermodynamique de complexation et du temps de demi-vie du complexe.

Lorsque le temps de demi-vie du complexe est supérieur au temps d'analyse, le complexe sera stable. Ce dernier présentera une constante thermodynamique de complexation élevée et une constante cinétique de dissociation lente. Deux pics seront alors observés correspondant pour l'un à la forme libre et pour l'autre à la forme liée.

Dans le cas où le temps de demi-vie du complexe est inférieur au temps d'analyse, le complexe formé sera dissocié au cours de l'analyse. Ce complexe, labile, présentera une constante thermodynamique de complexation faible et une constante cinétique de dissociation

élevée. Si les deux espèces sont absentes de l'électrolyte, la séparation conduira à terme à l'obtention de deux espèces, l'une correspondant au métal libre et l'autre au ligand libre. Si l'une des espèces est présente dans l'électrolyte, un unique pic sera observé dont la mobilité équivaudra à la mobilité apparente globale de toutes les formes complexées.

4.1.2.2.2. Différentes méthodes électrophorétiques permettant la détermination de constantes de complexation dans le cas d'espèces labiles

Différentes méthodes électrophorétiques sont décrites, dans la littérature, pour la détermination de constantes de complexation. Ces méthodes sont basées sur deux principes différents :

- les méthodes basées sur les variations de la mobilité électrophorétique d'un soluté dues à la complexation (électrophorèse capillaire d'affinité ou électrophorèse capillaire d'affinité de vacance)
- les méthodes basées sur la quantification des espèces libres et des espèces liées (méthode de Hummel-Dreyer, méthode de pic de vacance et analyse frontale).

* Méthodes basées sur les variations de mobilité électrophorétique

- Electrophorèse capillaire d'affinité

L'électrophorèse capillaire d'affinité consiste à conditionner un capillaire avec un électrolyte de fond contentant l'un des protagonistes (composé A) à différentes concentrations et à injecter le second (composé B). S'il y a complexation, un déplacement du pic correspondant au composé B et par conséquent une variation de sa mobilité électrophorétique effective seront observés. Cette variation de mobilité électrophorétique observée peut être reliée aux constantes de complexation des différents complexes, à leur mobilité électrophorétique propre ainsi qu'à la concentration du composé A dans l'électrolyte.

Un exemple d'application de cette méthode pour le système Np (V) / sulfate et le système Pu (V) / sulfate est présenté dans la figure I.6 [51]. Le Np (V) et le Pu (V) ont été injectés dans un électrolyte contenant des concentrations croissantes en sulfate. Au travers de cet exemple,

nous pouvons observer le déplacement du pic du Np (V) et du Pu (V) ce qui montre la complexation de ces derniers par le sulfate.

Figure I.6 : Application de l'électrophorèse capillaire d'affinité au système Np (V) / sulfate et au système Pu (V) / sulfate [51].

Conditions de séparation : - Capillaire de silice fondue 60 cm x 50 µm d.i. - T = 25 °C - Injection : 1 psi, 4 sec (7,9 nl) - Détection : ICP-SF-MS - Electrolyte : $Na_2SO_4/NaClO_4$ I = 0,7 M, pH = 6.

Un des avantages de cette méthode réside dans le fait qu'il n'est pas nécessaire de connaitre la concentration du composé injecté. Notons toutefois que l'électrophorèse capillaire d'affinité ne sera bien adaptée qu'aux cinétiques rapides de formation et de dissociation du complexe, la complexation s'effectuant de façon dynamique au cours de l'analyse.

Les exemples d'application de l'électrophorèse capillaire d'affinité sont nombreux et concernent notamment la détermination de constante d'association métal/ligand [51 - 54], la détermination de constantes d'association métal/biomolécule [55 - 58], la détermination de constantes d'association médicament/protéine [59, 60] ou encore la détermination de constantes de protonation de bases faibles [61, 62].

Des études de spéciation sur les lanthanides, par électrophorèse capillaire d'affinité, ont été rapportées par Petit *et al.* [52, 53]. Ils se sont intéressés à l'étude du système lanthane/oxalate

pour appréhender la complexation et déterminer le nombre de complexes successifs, les constantes d'équilibre associées ainsi que la mobilité électrophorétique de chaque complexe et ce par le couplage de l'électrophorèse capillaire à la spectrométrie de masse à plasma à couplage inductif (ICP-MS) afin de détecter le métal avec une grande sensibilité. La première étude a consisté à déterminer la constante d'équilibre associée à la formation du complexe de stœchiométrie 1 : 1 [53]. La seconde étude a permis la détermination des constantes de complexation des complexes successifs et la mise en évidence de stœchiométries métal : ligand 1 : 1, 1 : 2 et 1 : 3 [52].

- Electrophorèse capillaire d'affinité et de vacance

L'électrophorèse capillaire d'affinité et de vacance consiste à injecter de l'électrolyte de fond dénué d'analyte et de ligand dans une série d’électrolytes contenant ces deux espèces, contenant l’une des deux en concentration variable. Si la mobilité du ligand et la mobilité de l'analyte sont différentes, deux pics négatifs sont alors observés sur l'électrophérogramme, l’un correspondant au déficit en ligand, l’autre au déficit en analyte. La variation de mobilité électrophorétique des pics de vacance peut être corrélée aux constantes de complexation.

La figure I.7 présente un exemple d'application de l'électrophorèse capillaire d'affinité de vacance au système vancomycine/n-acétyl-D-alanyl-D-alanine [63]. Seule la vacance de vancomycine est détectée dans cet exemple.

Figure I.7 : Exemple d'application de l'électrophorèse capillaire d'affinité et de vacance au système vancomycine / n-acétyl-D-alanyl-D-alanine [63].

Conditions de séparation : capillaire en silice vierge 76,3 cm x 50 µm d.i. (longueur détecteur 46,9 cm) - Electrolyte de fond : 50 mM tampon phosphate, pH 6,0 contenant 50 µM de vancomycine et 16 µM (1), 33 µM (2), 82 µM (3), 132 µM (4), 148 µM (5), 214 µM (6)et 248 µM (7) de n-acétyl-D-alanyl-D-alanine - Détection UV : 215 nm - Injection : 169 mbars, 1,5 sec - Tension de séparation : 13 kV - T = 27 °C - Echantillon : Tampon phosphate et oxyde de mésityle - Identification ○ : Oxyde de mésityle ; * : vancomycine.

L'électrophorèse capillaire d'affinité et de vacance est plus consommatrice d'analyte et de ligand compte tenu de leur présence dans l'électrolyte. Notons également que, la concentration en ligand libre ne peut être approximée par la concentration du ligand dans l'électrolyte. Les exemples d'application de la méthode de l'électrophorèse capillaire d'affinité de vacance sont peu nombreux et concernent essentiellement la détermination de constantes d'association médicament/protéine [63 - 65].

* Méthodes basées sur la quantification des espèces libres et des espèces liées

- Méthode de Hummel-Dreyer

La méthode de Hummel-Dreyer utilise le même dispositif expérimental que l'électrophorèse d'affinité. S'il y a complexation, un pic négatif correspondant au ligand sera observé dont l'aire est proportionnelle à la quantité de ligand consommée pour la formation du complexe ML. La variation de l'aire de ce dernier pic est alors proportionnelle à la quantité de ligand lié et peut être déterminée soit par étalonnage externe, soit par étalonnage interne (figure I.8).

Figure I.8 : Etalonnage interne de l'aire du pic de vacance du ligand obtenu [65].
Les conditions A, B, C, D correspondant à l'addition de quantités connues et croissantes de ligand dans l'échantillon

Les exemples d'application de la méthode de Hummel-Dreyer sont peu nombreux et concernent essentiellement la détermination de constante d'association médicament/protéine [65 - 69].

- Méthode du pic vacant

De façon similaire, la méthode du pic vacant utilise le même dispositif expérimental que l'électrophorèse d'affinité et de vacance. Comme nous l'avons vu dans la méthode d'affinité de vacance, la complexation engendre l'apparition d'un pic de vacance est observé pour l'espèce suivie, dont la variation d'aire sera proportionnelle à la concentration en ligand libre dans le mélange analyte/ligand présent dans le capillaire.
Les exemples d'application de cette méthode sont également peu nombreux et concernent essentiellement la détermination de constante d'association médicament/protéine [65].

- Analyse frontale

L'analyse frontale consiste à conditionner un capillaire avec un électrolyte ne contenant ni analyte ni ligand et à injecter une large zone d'un échantillon contenant le mélange analyte/ligand. L'injection de cette large zone permet de conserver les équilibres en solution compte tenu de la séparation partielle des partenaires. On distingue deux méthodes: l'analyse frontale électrocinétique continue et l'analyse frontale par injection en mode hydrodynamique.
L'analyse frontale électrocinétique en continu consiste à introduire dans le capillaire, de façon continue, l'échantillon sous effet d'un champ électrique (figure I.9 (a)). L'application du champ électrique permet l'introduction de l'échantillon dans le capillaire mais aussi la séparation. Sur l'électrophorégramme, des fronts de migrations apparaissent selon la mobilité apparente des partenaires, le premier front correspondant à l'espèce dont la mobilité apparente est la plus importante (dans ce cas, le ligand).
L'analyse frontale par injection en mode hydrodynamique consiste à introduire un large volume d'échantillon dans le capillaire par injection hydrodynamique. Cette méthode conduit à la migration des espèces sous forme de front suivi par un retour à la ligne de base (figure I.9 (b)).

Figure I.9 : Représentation schématique de l'analyse frontale électrocinétique continue (a) et de l'analyse frontale par injection en mode hydrodynamique (b).

L'analyte (A) et le ligand (L) forment un complexe AL. La détection des différentes formes de l'analyte et du ligand est réalisée selon les mobilités croissantes L, AL et A.

(a) Espèces A, AL et L (■), Espèces AL et L (■), Espèce L (■).

(b) Espèce A, AL et L (■), Espèces AL et L (■), Espèce L (■), Espèce A et AL (□), Espèce A (⊡).

EF : Electrolyte de fond, Ech : Echantillon, D : poubelle, P : Pression appliquée, V : Tension appliquée.

La concentration en ligand libre peut être déterminée par l'étalonnage de la hauteur du front pour le ligand libre en injectant une zone ne contenant que le ligand (figure I.10).

Figure I.10 : Etalonnage de la hauteur du palier du ligand obtenu [65].

Tout comme les autres modes dé détermination de constantes, les exemples d'application de la méthode de l'analyse frontale concernent généralement la détermination de constantes d'association médicament/protéine [60, 69 - 75].

- Comparaison des différentes méthodes

Au vu de ce descriptif des différentes méthodes électrophorétiques pour la détermination de constantes de complexation, les différents avantages et inconvénients sont rappelés dans le tableau I.7. Ces méthodes sont à considérer comme étant complémentaires du fait de leurs avantages et inconvénients différents.

Tableau I.7 : Avantages et inconvénients pour chaque méthode électrophorétique de détermination de constante de complexation.

Méthode	ACE	VACE	HD	VP	AF
Consommation de ligand	Elevée *	Elevée *	Elevée *	Elevée *	Moyenne *
Consommation de substrat	Faible	Elevée *	Faible *	Elevée *	Moyenne *
Etalonnage	Non	Non	Oui	Oui	Oui
Cinétique de l'interaction	Rapide	Rapide	Rapide	Rapide	Indifférente
Etudes "multi-substrats"	Oui	Non	Non	Non	Non

(*) : La concentration de ce partenaire doit être connue.

ACE : électrophorèse capillaire d'affinité, VACE : électrophorèse capillaire d'affinité et de vacance, HD : Hummel-Dreyer, VP : pic de vacance et AF : analyse frontale.

Parmi ces méthodes, les méthodes de Hummel-Dreyer, des pics de vacance et de l'électrophorèse capillaire d'affinité et de vacance semblent les moins attrayantes. En effet, chacune nécessite la présence de l'analyte et du ligand dans l'électrolyte de fond, conduisant à des consommations d'analyte et de ligand importantes.

Les méthodes de Hummel-Dreyer et des pics de vacance sont également chronophages car la détermination de la concentration en ligand libre nécessite l'injection d'au moins trois concentrations différentes en ligand dans l'échantillon.

En revanche, l'électrophorèse capillaire d'affinité et l'analyse frontale semblent plus attractives. Ces méthodes sont relativement simples à mettre en œuvre et les données expérimentales sont plus facilement accessibles.

L'électrophorèse capillaire d'affinité a d'ailleurs été utilisée dans des criblages de bibliothèque de composés. Dans le cas de la recherche de cibles antimicrobiennes, Lewis *et al.* rapportent le criblage d'une bibliothèque de 44000 composés possédant potentiellement des propriétés similaires aux médicaments antimicrobiens vis-à-vis d'un organisme pathogène [76]. Ce criblage a été réalisé à raison de 240 composés analysés par heure (temps de rinçage du capillaire entre chaque séparation compris.

Dans le domaine de la pharmacologie, cette technique a été appliquée à l'étude des interactions peptide/récepteur [77 - 79] sur des bibliothèques allant jusqu'à 1000 peptides.

4.2. Méthodes d'étude en système biphasique

Ces méthodes sont essentiellement utilisées dans le domaine du nucléaire et associées à des méthodes de détection élémentaire spécifiques.

4.2.1. Extraction liquide/liquide

4.2.1.1.Principe

L'extraction liquide/liquide consiste en un transfert d'un soluté M initialement présent dans une phase liquide, généralement aqueuse, vers une autre phase liquide qui sera alors organique, par contact intimes entre les deux phases, ces dernières étant non ou partiellement miscibles. La phase organique renferme un ligand extractant pouvant former un complexe avec l'ion métallique soluble dans la phase organique.

Le transfert d'un soluté M, en extraction liquide/liquide, se fonde sur la distribution de ce dernier entre deux phases liquides.

Les performances d'une extraction liquide/liquide peuvent être évaluées par deux paramètres à savoir le coefficient de distribution et le facteur de séparation.

Le coefficient de distribution *D*, pour un soluté M, caractérise le partage de ce dernier entre les deux phases après extraction. Il dépend de l'affinité du ligand pour le soluté M. Il est défini par la relation suivante :

$$D = \frac{[M]_{org}}{[M]_{aq}} \qquad \text{(Eq. 6)}$$

Avec $[M]_{org}$: Concentration du soluté M en phase organique à l'équilibre (M)

$[M]_{aq}$: Concentration du soluté M en phase aqueuse à l'équilibre (M)

Le coefficient de sélectivité α_{M_1/M_2} d'un soluté M_1 par rapport à un soluté M_2 est lié à la capacité du ligand à séparer ces deux solutés et est donc lié à la sélectivité du ligand. Le coefficient de sélectivité, dans des conditions expérimentales données, est défini par :

$$\alpha_{M_1/M_2} = \frac{D_{M_1}}{D_{M_2}} \qquad \text{(Eq. 7)}$$

Avec D_M : Coefficient de distribution du soluté M

L'extraction liquide/liquide reste à l'heure actuelle la technique la plus utilisée pour la séparation ou la pré-concentration de par sa simplicité de mise en œuvre, sa robustesse mais également la possibilité de l'adapter à l'échelle industrielle.

4.2.1.2.Mécanismes d'extraction

Deux mécanismes d'extraction d'ions peuvent être différenciés : l'extraction par échange d'ions ou la co-extraction par solvatation.

L'extraction par échange d'ion consiste à utiliser un extractant constitué d'un échangeur d'ions. Parmi les échangeurs d'ions, on distingue les échangeurs purement ioniques et les molécules dotées de protons labiles.

Le système peut être décrit par l'équilibre suivant :

$$M^{n+} + n\ HA_{(o)} \rightleftharpoons MA_{n\ (o)} + n\ H^{+}$$

Avec M^{n+} : Cation métallique

HA : Echangeur d'ions

MA : Complexe

(o) : Espèce se trouvant en phase organique

L'électroneutralité des phases est respectée.

La co-extraction par solvatation consiste à utiliser un extractant constitué d'une molécule neutre portant des hétéroatomes dont les doublets libres peuvent être engagés lors de l'établissement de liaison de coordination avec le cation métallique.

Le système est décrit par l'équilibre suivant :

$$M^{n+} + n\ X^{-} + e\ E_{(o)} \rightleftharpoons M(X)_n(E)_{e\ (o)}$$

Avec M^{n+} : Cation métallique

X^{-} : Anion associé au cation métallique

E : Extractant neutre

$M(X)_n(E)_e$: Complexe

(o) : Espèce se trouvant en phase organique

Le cation métallique ainsi que l'anion associé au cation métallique sont co-extraits de la phase aqueuse vers la phase organique. Ainsi, le complexe extrait est neutre.

4.2.1.3.Effet synergique

L'utilisation de systèmes impliquant deux ou plusieurs ligands, en extraction liquide/liquide, permet améliorer les propriétés d'extraction des différents ligands du système pris séparément. Ce phénomène est appelé synergisme.

L'incorporation d'un ligand synergique permet d'améliorer la désolvatation du métal, et ce de par l'interaction spécifique du ligand synergique, présent en phase organique, avec le complexe hydrophile. L'action d'un ligand synergique induit alors la substitution de molécules d'eau du complexe hydrophile par le ligand synergique.

En d'autres termes, le synergisme est du à une composition des espèces métalliques présentes dans la phase organique différente de celle obtenue lors de l'utilisation de chaque ligand pris séparément.

Le rôle du ligand synergique peut alors être décrit selon deux approches : une déshydratation du cation plus efficace ou un accroissement de la lipophilie du complexe.

Pour un mélange de ligands, l'un étant considéré comme le ligand extractant (L_1) et l'autre comme étant le ligand synergique (L_2), le coefficient de distribution D_{exp} déterminé expérimentalement est défini par :

$$D_{\exp} = D_{L_1} + D_{L_2} + \Delta D \qquad \text{(Eq. 8)}$$

Avec D_L : Coefficient de distribution du ligand L

ΔD : Amplitude de l'effet synergique de l'extraction

- Si $\Delta D > 0$, un effet synergique sera observé.
- Si $\Delta D = 0$, le système n'est pas synergique.
- Si $\Delta D < 0$, une diminution de coefficient de distribution sera observé. Dans ce cas, l'effet observé est un effet antagoniste. Le phénomène d'antagonisme peut être du soit à la compétition entre le métal et le ligand ajouté au système, soit à un excès de ligand ajouté au système.

En condition synergique avec la 2,2'-bipyridine, la 4-benzoyl-3-phényl-5-isoxazolone présente un coefficient de sélectivité $\alpha_{Nd^{3+}/La^{3+}}$ de 72,44, ce coefficient étant de 6,16 en condition non synergique [80]. Comme le montre cet exemple, l'addition d'un agent synergique permet de disposer d'une combinaison d'agents d'extraction plus efficace pour la séparation des lanthanides que l'action d'un ligand pris seul.

4.2.2. Extraction solide/liquide

4.2.2.1.Généralités sur l'extraction solide/liquide

L'extraction solide/liquide consiste à mettre en présence une solution contenant le soluté à extraire avec un matériau, pour le transfert de ce soluté de la phase liquide aux sites actifs du matériau constituant la phase solide. L'extraction solide/liquide peut être utilisée pour la pré-concentration, la séparation ou encore pour le transfert de soluté d'une phase liquide à une autre phase liquide.

L'extraction solide/liquide décrit l'association d'une molécule de soluté M avec un site de reconnaissance, noté S, formant le complexe M-S, selon l'équilibre suivant :

$$M_{(l)} + S_{(s)} \rightleftharpoons M\text{-}S_{(s)}$$

Avec (l) : Espèce se trouvant en phase liquide

(s) : Espèce se trouvant en phase solide

Le coefficient de distribution D, mesuré à l'équilibre, caractérise le partage du soluté M entre la phase liquide et la phase solide. Il dépend de l'affinité du solide pour le soluté M et de la quantité de groupements extractants présente par unité de masse de matériau. Il est défini par :

$$D_M = \frac{q_{ads}}{[M]_{éq}} \qquad \text{(Eq. 9)}$$

Avec D_M : Coefficient de distribution du soluté M ($L.kg^{-1}$)

q_{ads} : Quantité de soluté M adsorbé par unité de masse de solide ($mol.kg^{-1}$)

$[M]_{éq}$: Concentration du soluté M en solution à l'équilibre (M)

La sélectivité est liée à la reconnaissance préférentielle du soluté M_1 par rapport à un soluté M_2 de structure relativement proche. Le coefficient de sélectivité du solide est donné par le rapport des coefficients de distribution des deux solutés considérés. Dans des conditions expérimentales données, le coefficient de sélectivité est défini par :

$$\alpha_{M_1/M_2} = \frac{D_{M_1}}{D_{M_2}} \qquad \text{(Eq. 10)}$$

Avec α_{M_1/M_2} : Coefficient de sélectivité

L'extraction liquide/liquide est, à l'heure actuelle, la plus utilisée pour la séparation ou la pré-concentration de par sa simplicité de mise en œuvre et sa robustesse.

Toutefois, l'utilisation de l'extraction solide/liquide présente de nombreux avantages par rapport à l'extraction liquide/liquide [81 - 83]. En effet, elle permet de limiter la consommation de grandes quantités de solvants organiques et par conséquent la récupération et le traitement des différents solvants. Elle est alors moins onéreuse du fait d'une faible consommation de réactifs.

De plus, elle est rapide, simple et plus pratique à mettre en œuvre. Elle peut être également couplée à la technique d'analyse et permet de disposer d'équipements compacts.

Parmi les différents matériaux, nous retrouvons les extractants classiques de l'extraction liquide/liquide immobilisés sur un support de type silice ou polymère organique. La recherche de matériau sélectif en extraction solide/liquide se concentre également sur l'utilisation de polymères à empreinte.

4.2.2.2.Les matériaux les plus classiques

De nombreux supports solides ont été développés pour l'extraction solide-liquide. Nous nous limiterons à quelques exemples utilisés dans le cas des lanthanides et permettant d'illustrer la diversité des approches.

Parmi les différents matériaux, nous retrouvons des supports de type silice ou polymère organique sur lesquels sont immobilisés les extractants classiques utilisés en l'extraction liquide/liquide.

Trois approches sont possibles pour la préparation de ces solides fonctionnalisés : (i) la fonctionnalisation du support par imprégnation, (ii) la fonctionnalisation du support par greffage sur la surface du support ou encore (iii) la fonctionnalisation du support par condensation d'organosilane par voie sol/gel.

Le support utilisé doit présenter certaines caractéristiques : (i) l'inertie vis-à-vis des ions retenus, (ii) la stabilité aux actions chimiques et aux actions physiques, (iii) une surface spécifique conséquente et (iv) une morphologie sphérique pour un compactage optimal dans le cas de la mise en colonne du matériau.

De nombreux supports commerciaux ont été immobilisés tels les gels de silice ou encore polymères de type polyacrylate. Ainsi on peut citer dans le premier cas, les silices imprégnées [84], dopées [85] ou fonctionnalisées [86 - 88] ou encore l'Amberlite XAD7 fonctionnalisé par le CMPO et le TBP [89] et l'Aberchrom CG71 imprégné par le HEH[EHP] pour la seconde catégorie [90].

Des silices fonctionnalisées ont également été préparées par co-condensation du ligand silylé et du tetraéthoxysilane [91]. Des essais de préorganisation des sites de complexation ont été effectués pour améliorer la sélectivité par l'introduction, dans le milieu réactionnel, du Nd^{3+} ou de l'Eu^{3+}.

Enfin, on recense également l'utilisation de supports hybrides composés d'un copolymère styrène-divinylbenzène immobilisé sur des particules de silice et fonctionnalisés par divers extractants : le TOGDA [92 - 94], le CMPO [92, 95] ou les bis(triazinyl)pyridines [96].

Ces études montrent essentiellement la séparation lanthanides légers / lanthanides lourds.

4.2.2.3.Une nouvelle classe de polymères extractants : les polymères à empreinte ionique

4.2.2.3.1. Principe

Un polymère à empreinte est défini comme un matériau possédant des cavités spécifiques d'une molécule cible ou template. Dans le cas particulier où la molécule cible est un ion métallique, l'empreinte est alors appelée empreinte ionique.

Le principe des empreintes moléculaires repose sur l'impression d'une molécule cible dans une matrice synthétique polymérique. La réalisation des polymères imprimés repose sur un ensemble d'étapes : (i) une étape de préorganisation pendant laquelle les groupes fonctionnels sont positionnés, (ii) la polymérisation permet la formation de cavités spécifiques et (iii) l'extraction du template. Le polymère est synthétisé à partir d'un mélange de monomères fonctionnels qui interagissent de façon covalente ou non covalente, et d'un agent de réticulation qui assure la rigidité de la structure pour la bonne tenue mécanique du polymère imprimé. Dans le cas d'une impression covalente, les fonctions polymérisables sont liées par des liaisons covalentes à la molécule cible alors que dans l'approche non covalente, le complexe de pré polymérisation se forme in situ par des liaisons hydrogènes, ioniques, de Van der Waals ou de coordination avec un métal. Après polymérisation, une matrice polymérique est obtenue contenant ainsi la molécule cible. Cette molécule cible est ensuite extrait de la matrice polymérique, dans des conditions adaptées à la nature de la liaison monomère-template, laissant ainsi des sites de reconnaissance vacants possédant une complémentarité de forme et de taille par rapport au template. Une représentation schématique de la technique des empreintes moléculaires est présentée dans la figure I.11.

Figure I.11 : Représentation schématique de la synthèse de polymère imprimé à empreinte moléculaire [97, 98].

Le principe de la technique des empreintes ioniques est analogue à celui des empreintes moléculaires. Les polymères à empreinte ionique sont destinés à la reconnaissance d'ions métalliques. Ils présentent les mêmes propriétés (robustesse, stabilité, etc ...) que les polymères à empreinte moléculaire. Toutefois, des problèmes de solubilité du métal dans le mélange réactionnel peuvent survenir. Il faut également noter que la desextraction du métal n'est pas toujours efficace après l'impression, ce qui peut éventuellement conduire à un relargage lors des études de reconnaissance.

La sélectivité dans le cas des polymères à empreinte ionique est attribuée à différents facteurs : (i) les interactions spécifiques entre le ligand et l'ion métallique, (ii) le nombre et la géométrie de coordination de l'ion métallique, (iii) la charge et (iv) la taille de l'ion métallique [99].

4.2.2.3.2. Mode d'impression

Quatre approches ont été utilisées pour la création de sites de reconnaissance pour les polymères à empreinte ionique :

(i) les polymères linéaires comportant des groupements chélatants pour les métaux, dont le premier exemple a été rapporté par Nishide *et al.* [100 - 102]. Nishide *et al.* ont synthétisé un

polymère en présence de métal à partir de poly(4-vinylpyridine) et de 1-4 dibromobutane. Les différents polymères ainsi obtenus reconnaissent préférentiellement les ions métalliques dont l'impression a été réalisée. Ohga *et al.* ont également utilisé cette approche pour la synthèse de polymère imprimé à partir de chitosane et d'épichlorhydrine en présence de Cd^{2+} [103]. Les résultats obtenus, lors de la mise en colonne de ce polymère, montre que le Cd est extrait sélectivement en présence de Cu^{2+} et de Hg^{2+}.

(ii) l'immobilisation chimique qui consiste en l'impression d'un complexe binaire de l'ion métallique comportant des ligands présentant des groupements polymérisables. Après la polymérisation, les ligands sont chimiquement immobilisés dans la matrice polymérique. Cette approche a été employée pour la préparation de polymères imprimés pour la reconnaissance du Gd^{3+}, et ce pour la séparation La^{3+}/Gd^{3+}. Les polymères ont été synthétisés à partir d'acide diéthylènetriamine pentaacétique (ligand), de divinylbenzène (agent de réticulation) [104 - 106] en présence de Gd^{3+}. Les résultats obtenus montrent que ces polymères présentent une bonne sélectivité pour le gadolinium vis-à-vis du lanthane. Cependant, l'effet d'empreinte obtenu par cette approche est peu prononcé.

(iii) l'impression en surface a été introduite par Takagi *et al.* [107, 108]. Les polymères sont préparés par polymérisation en émulsion impliquant un monomère fonctionnel, un agent de réticulation, un tensioactif et le template. Le monomère fonctionnel et amphiphile forme un complexe avec le template à l'interface milieu aqueux/milieu organique. Après polymérisation, le template est extrait. Ainsi, des sites de reconnaissance sont créés à la surface du polymère.

Uezu *et al.* ont utilisé cette approche pour la reconnaissance des lanthanides [109]. Les résultats montrent que le polymère imprimé par le dysprosium extrait sélectivement ce métal en présence de lanthane et de cérium.

L'impression en surface a été développée dans le but d'améliorer l'extraction du template et la reconnaissance. En effet, la polymérisation conduit en général à une répartition des sites de reconnaissance aléatoire, tant en profondeur qu'en surface et les phénomènes de diffusion empêchent le template d'accéder aux sites de reconnaissance situés en profondeur. Toutefois, l'effet d'empreinte obtenu par cette approche est peu prononcé par rapport aux polymères non imprimés et les polymères obtenus présentent des capacités d'adsorption relativement faibles [107, 110, 111].

(iv) le trapping qui consiste en l'impression d'un complexe ternaire de l'ion métallique comportant à la fois des ligands ne présentant pas de groupements polymérisables et des ligands présentant des groupements polymérisables. Le ligand présentant des groupements polymérisables permet la polymérisation tandis que l'autre ligand est piégé dans la matrice polymérique. Biju *et al.*, Kala *et al.* et Gopoikrishna *et al.* ont rapporté la synthèse de polymères à empreinte ionique pour la reconnaissance du Dy^{3+} [112, 113], de l'Er^{3+} [114, 115] et du Nd^{3+} [116] respectivement. Les différents polymères ainsi obtenus extraient sélectivement le lanthanide dont l'impression a été réalisée. Une représentation schématique de la synthèse de ces polymères est donnée dans la figure I.12.

Il faut noter que les polymères imprimés préparés par cette approche présentent des capacités d'adsorption et des sélectivités supérieures à celles obtenues par les autres approches pour l'impression [116].

Figure I.12 : Représentation schématique de la synthèse de polymère à empreinte ionique par l'approche du trapping.

4.2.2.3.3. Les polymères à empreinte ionique appliqués aux lanthanides

L'utilisation de polymères imprimés pour l'extraction des lanthanides est un vaste domaine dont les exemples sont nombreux dans la littérature.

Nous pouvons trouver des polymères pour la reconnaissance du cérium, du néodyme, du samarium, du gadolinium, du dysprosium, de l'erbium ou encore du lutécium. Différents exemples sont présentés dans le tableau I.8.

Les études de sélectivité ont été réalisées par la méthode du batch process. Les coefficients de sélectivité ont été obtenus par calcul des rapports des coefficients de distribution.

Tableau I.8 : Polymères synthétisés pour la reconnaissance des lanthanides.

Ln^{3+} imprimé	Synthèse	Impression	Initiation	Monomère/Agent de réticulation	Sélectivité $\alpha_{Ln^{3+}/X}$			Réf.
					Ions testés	NIIP	IIP	
Ce^{3+}	core-shell	surface	AIBN (t)	Chitosane/ γ-(2,3-époxypropoxy) propyltriméthoxysilane	$Ca^{2+}/Co^{2+}/Cs^{+}/Cu^{2+}/Fe^{3+}/Zn^{2+}$	0,58/1,26/0,30/0,30/1,10/3,03	2,29/32,43/15,04/9,54/4,12/16,17	[117]
Nd^{3+}	masse	trapping (a)	AIBN (t)	Styrène/ DVB	$La^{3+}/Ce^{3+}/Pr^{3+}/Sm^{3+}/Eu^{3+}$	1,36/1,13/0,52/0,93/0,72	71,22/63,05/31,73/33,00/28,77	[118]
Sm^{3+}	masse	trapping (a)	AIBN (t)	Styrène/ DVB	$Y^{3+}/La^{3+}/Ce^{3+}/Nd^{3+}/Eu^{3+}$	/	140,04/112,29/94,81/83,33/72,31	[119]
Gd^{3+}	masse	immobilisation chimique (b)	AIBN (t)	dérivé du DTPA/ DVB	La^{3+}	/	> 20	[105]
Gd^{3+}	masse	immobilisation chimique (b)	AIBN (t)	dérivé du DTPA/ DVB	La^{3+}	7	> 20	[104]
Gd^{3+}	masse	immobilisation chimique (b)	AIBN (t)	dérivé du DTPA/ DVB	$La^{3+}/Nd^{3+}/Eu^{3+}/Lu^{3+}$	6,3/1,8/0,8/1,5	> 20/2,5/0,5/2,0	[106]
Dy^{3+}	masse	trapping (a)	AIBN (/)	Styrène/DVB	$Y^{3+}/La^{3+}/Nd^{3+}/Lu^{3+}$	2,49/2,52/2,52/2,99	66,82/116,22/175,96/82,65	[112]
Dy^{3+}	masse	trapping (a)	AIBN (t)	Styrène/DVB	$Y^{3+}/La^{3+}/Nd^{3+}/Lu^{3+}$	3,08/3,39/2,50/2,81	105,3/173,7/450,0/253,7	[113]
Dy^{3+}	émulsion	surface	AIBN (t)	Acide dioleylphosphorique/ DVB	/	/	/	[109]
Er^{3+}	masse	trapping (a)	AIBN (t)	MMA/ EGDMA	$Y^{3+}/Dy^{3+}/Ho^{3+}/Tb^{3+}/Tm^{3+}$	2,94/1,13/1,80/1,14/1,10	6,57/5,93/7,08/8,87/3,30	[114]
Er^{3+}	masse	trapping (a)	AIBN (r)	Styrène/DVB	$Y^{3+}/Dy^{3+}/Ho^{3+}/Tm^{3+}$	0,39/1,27/0,95/0,49	49,20/78,32/35,77/21,44	[120]
Er^{3+}	masse	trapping (a)	AIBN (p)	MMA/ EGDMA	$Y^{3+}/Dy^{3+}/Ho^{3+}/Tm^{3+}$	2,71/1,44/1,22/0,84	4,80/2,17/2,14/1,55	[115]
Lu^{3+}	masse	trapping (c)	AIBN (t)	-/ EGDMA	$Fe^{3+}/Mg^{2+}/Ca^{2+}/Al^{3+}/La^{3+}/Nd^{3+}/Y^{3+}/Gd^{3+}/Dy^{3+}/Tm^{3+}$	/	51,8/17,3/4,14/16,0/26,5/17,9/20,0/50,3/307,2/8,03	[121]

NIIP : polymère non imprimé, IIP : polymère à empreinte ionique.
DVB : divinylbenzène, EGDMA : éthylène glycole diméthacrylate, MMA : méthyl méthacrylate, HEMA : 2-hydroxyéthylméthacrylate, DTPA : acide diéthylène triamine penta acétique, AIBN : azobisisobutyronitrile.
(a) : Ligands utilisés : 5,7-dichloroquinoline-8-ol et 4-vinylpyridine, (b) : Polymérisation du complexe de lanthanide non isolé avec le dérivé du DTPA, (c) : Ligands utilisés : acétylacétone et 4-vinylpyridine, (t) : Polymérisation initiée thermiquement, (p) : Polymérisation initiée photochimiquement, (r) : Polymérisation initiée radiochimiquement,
(/) : Initiation non précisée

Les coefficients de sélectivité obtenus pour les polymères imprimés sont plus élevés que ceux obtenus pour les polymères non imprimés, ce qui dénote l'effet d'empreinte.

Notons que Zhang *et al.* indiquent que le polymère imprimé peut être réutilisé à plusieurs reprises [117]. Après 5 régénérations, aucune perte d'efficacité d'extraction significative n'est observée.

Intéressons nous à l'exemple du polymère pour la reconnaissance de l'erbium [120]. Les coefficients de sélectivité obtenus pour le polymère imprimé sont rappelés dans le tableau I.9. Les facteurs de séparation obtenus pour deux extractants, l'acide di-2-éthylhexyl phosphorique [122] et le 2-éthylhexyl-éthylhexylhydrogénophosphate [123], utilisés en extraction liquide/liquide sont également présentés dans le tableau I. pour comparaison.

Tableau I.9 : Coefficient de sélectivité (α) pour le polymère imprimé (IIP) (conditions : 0.05 g, pH 7.5) et coefficient de sélectivité pour deux extractants utilisés en extraction liquide/liquide des lanthanides (D2EHPA et EHEHPA).

Ln^{3+}	Coefficient de sélectivité ($\alpha_{Er^{3+}/Ln^{3+}}$)			
	IIP	D2EHPA		EHEHPA
		HCl	$HClO_4$	
Dy^{3+}	78,32	4,41	4,37	5,40
Ho^{3+}	35,77	2,10	2,30	2,70
Tm^{3+}	21,44	2,50	2,50	3,30
Y^{3+}	49,20	-	1,40	1,37

Globalement, les coefficients de sélectivité obtenus pour le polymère imprimé sont supérieurs aux facteurs de séparations obtenus pour le D2EHPA et le EHEHPA utilisés en extraction liquide/liquide des lanthanides.

Les différents polymères imprimés pour la reconnaissance des lanthanides démontrent ainsi tout leur intérêt des polymères imprimés dans l'extraction sélective d'un lanthanide donné vis-à-vis des autres lanthanides par rapport à un polymère non imprimé compte tenu de l'amélioration des coefficients de sélectivité. De plus, l'exemple détaillé montre tout le

potentiel que peuvent présenter les polymères imprimés par rapport aux extractants utilisés en extraction liquide/liquide.

5. Objectifs de la thèse

Les approches de synthèse parallèle constituent une alternative efficace dans la recherche de nouvelles cibles fonctionnelles. Cependant, ces approches conduisent à l'obtention d'un nombre considérable de cibles potentielles, une sélection en fonction de leurs propriétés doit alors être réalisée. Ainsi, ces approches de synthèse sont associées à des méthodes de criblage rapide. L'efficacité de ces approches réside dans l'élaboration d'outils analytiques de criblage rapide.

Dans le cadre de recherche de ligands pour les lanthanides, l'approche utilisée a consisté à mettre au point des outils de criblage rapide pour l'étude de bibliothèques générées par synthèse parallèle. Ces travaux de thèse s'articulent autour de deux projets, l'un consacré au criblage d'une bibliothèque de ligands, l'autre consacré à l'étude d'extraction d'une bibliothèque de polymères.
Pour chaque projet, la démarche adoptée a consisté à développer une méthodologie adaptée au criblage, notamment en termes de quantités requises et de sensibilité, permettant de sélectionner les candidats les plus prometteurs. A l'issue du criblage, ces candidats ont alors été caractérisés en termes d'affinité pour un lanthanide donné, à savoir l'europium.

Dans la première partie de cette thèse, une bibliothèque synthétisée par le Service de Chimie Bioorganique et de Marquage du CEA Saclay et le Laboratoire des Systèmes Chimiques Fonctionnels de Strasbourg et composée d'une trentaine de ligands, présentant des fonctions phosphorées a été étudiée. Les ligands de cette bibliothèque ont été synthétisés à l'échelle du milligramme. Comme nous l'avons vu précédemment, les techniques classiquement utilisées pour appréhender l'interaction lanthanide/ligand requièrent des quantités de métal et de ligand importantes. Il n'est donc pas envisageable de recourir à ces techniques. L'électrophorèse capillaire, de par sa faible consommation d'échantillon, se révèle intéressante. Toutefois, les appareils commerciaux sont équipés de détecteurs UV-Visible ; ces derniers ne présentant pas la sensibilité suffisante pour l'étude de systèmes dont l'un des partenaires n'est disponible qu'en faible quantité. L'électrophorèse capillaire couplée à la spectrométrie de masse ICP/MS constitue une alternative de par les récents développements en termes d'interface. Ainsi, il est possible de bénéficier de l'efficacité de séparation et de la faible consommation d'échantillon de l'électrophorèse capillaire, et de la haute sensibilité de la détection par spectrométrie de masse. L'objectif de cette première partie a été de tester le potentiel du couplage de

l'électrophorèse et de la spectrométrie de masse pour l'étude de cette bibliothèque. Parmi les différentes méthodes électrophorétiques possibles pour la détermination de constantes de complexation, nous nous sommes orientés vers l'électrophorèse capillaire d'affinité compte tenu de sa simplicité de mise en œuvre et d'accès aux données expérimentales. La démarche employée a consistée, d'une part, à réaliser le criblage de la bibliothèque pour mettre en évidence les ligands les plus prometteurs et d'autre part, à décrire si possible les équilibres en présence relatifs à ces derniers.

La seconde partie de cette thèse a été consacrée à la recherche de polymères permettant l’extraction des lanthanides. Une bibliothèque synthétisée par le Laboratoire des Systèmes Chimiques Fonctionnels de Strasbourg et composée d'une cinquantaine de polymères a été étudiée, et ce dans le but d'évaluer l'influence des différents composants (monomère et agent de réticulation) de ces polymères pour la reconnaissance de l'europium. Les polymères ont été synthétisés à raison de cinq cent milligrammes chacun. Notre objectif, dans cette partie, a été de mettre au point un protocole d'extraction solide/liquide de l'europium à la fois rapide et peu consommateur d'échantillon afin de mettre en évidence les polymères les plus prometteurs de par leurs propriétés d'extraction.

6. REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

[1] G. T. Seaborg, Radiochim. Acta, 61 (1993) 115-122.

[2] N. Kaltsoyznnis, P. Scott, The f-elements. Oxford University Press : New York, (1999).

[3] G. R. Choppin, J. Alloys Compd., 223 (1995) 174-179.

[4] S. Cotton, Lanthanides and Actinides. McMillan Education, London, (1991).

[5] G. R. Choppin, Properties of the rare earth elements, in : J.-C. G. Bünzli, G. R. Choppin (Eds.), Lanthanide Probes in Life, Chemical and Earth Sciences, Theory and Practice, Elsevier, Amsterdam, (1989) 1.

[6] E. A. Quadrelli, Inorg. Chem., 41 (2002) 167-169.

[7] G. R. Choppin, J. Less.-Common Met., 100 (1984) 141-151.

[8] E. N. Rizkalla, G. R. Choppin, Handbook on the Physics and Chemistry of Rare Earths, vol. 15. Elsevier Sciences Publ. B. V. : Amsterdam, 15 (1991).

[9] E. N. Rizkalla, G. R. Choppin, In Handbook on the Physics and Chemistry of Rare Earths, vol. 18. Lanthanides/Actinides Chemistry, K. A. Gschneider, L. Jr. Eyring , G. R. Choppin, G. H. Lander, eds,, Elsevier Sciences, New York, (1994).

[10] M. Togashi, Y. Urano, H. Kojima, T. Terai, K. Hanaoka, K. Igarashi, Y. Hirata, T. Nagano, Org. Lett., 12 (8) (2010) 1704-1707.

[11] T. Terai, K. Kikuchi, S. Iwasawa, T. Kawabe, Y. Hirata, Y. Urano, T. Nagano, J. Am. Chem. Soc., 128 (2006) 6938-6946.

[12] C. Song, Z. Ye, G. Wang, J. Yuan, Y. Guan, Chem. Eur. J., 16 (2010) 6464-6472.

[13] S. Mameri, L. J. Charbonnière, R. F. Ziessel, Inorg. Chem., 43 (2004) 1811-1821.

[14] I. Hemmilä, S. Dakubu, V. M. Mukkala, H. Siitari, T. Lövgren, Anal. Biochem., 137 (1984) 335-343.

[15] J.-C. G. Bünzli, N. Andre, M. Elhabiri, G. Muller, C. Piguet, J. Alloys Compd., 303-304 (2000) 66-74.

[16] G. Shao, R. Han, Y. Ma, M. Tang, F. Xue, Y. Sha, Y. Wang, Chem. Eur. J., 16 (2010) 8647-8651.

[17] D. J. Bornhop, J. M. M. Griffin, T. S. Goebel, M. R. Sudduth, B. Bell, M. Motamedi, Appl. Spectrosc., 57 (2003) 1216-1222.

[18] R. Weissleder, Nat. Biotechnol., 19 (4) (2001) 316-317.

[19] J. E. Huheey, E. A. Keiter, R. L. Keiter, Inorganic Chemistry : Principles of structure and reactivity, HarperCollins College Publishers, New York, (1993).

[20] D. Parker, J. A. G. Williams, J. Chem. Soc. Dalton Trans., (1996) 3613-3628.

[21] J.-C. G. Bünzli, G. R. Choppin, Lanthanide probes in life, chemical, and earth sciences: theory and practice. Elsevier: Amsterdam, New York, (1989).

[22] R. M. Supkowski, W. D. Horrocks, J. Inorg. Chim. Acta, 340 (2002) 44-48.

[23] S. Gu, H.-K. Kim, G. H. Lee, B.-S. Kang, Y. Chang, T.-J. Kim, J. Med. Chem., 54 (2011) 143-152.

[24] Y.-T. Chang, C.-M. Cheng, Y.-Z. Su, W.-T. Lee, J.-S. Hsu, G.-C. Liu, T.-L. Cheng, Y.-M. Wang, Bioconjugate Chem., 18 (2007) 1716-1727.

[25] M. Giardiello, M. Botta, M. P. Lowe, J. Incl. Phenom. Macrocycl. Chem., 71 (2011) 435-444.

[26] K.-H. Jung, H.-K. Kim, G. H. Lee, D.-S. Kang, J.-A. Park, K. M. Kim, Y. Chang, T.-J. Kim, J. Med. Chem., 54 (2011) 5385-5394.

[27] F. Ye, E.-K. Jeong, Z. Jia, T. Yang, D. Parker, Z.-R. Lu, Bioconjugate Chem., 19 (2008) 2300-2303.

[28] N. Ozaki, A. U. R. Sankar, M. Yamashita, T. Aoki, Y. Tanaka, M. Kimura, M. Toda, M. Fujie, Y. Takehara, H. Sakahara, Bioorg. Med. Chem. Lett., 20 (2010) 932-934.

[29] E. J. Werner, J. Kozhukh, M. Botta, E. G. Moore, S. Avedano, S. Aime, K. N. Raymond, Inorg. Chem., 48 (2009) 277-286.

[30] A. Datta, K. N. Raymond, Accounts Chem. Res., 42 (7) (2009) 938-947.

[31] Y. Bretonnière, M. Mazzanti, J. Pécaut, F. A. Dunand, A. E. Merbach, Inorg. Chem., 40 (2001) 6737-6745.

[32] I. Solomon, Phys. Rev., 99 (1955) 559-565.

[33] R. B. Lauffer, Chem. Rev., 87 (1987) 901-927.

[34] R. G. Pearson, J. Am. Chem. Soc., 85 (1963) 3533-3539.

[35] R. G. Pearson, Chemical Hardness, Vol. 1st ed., John Wiley & Sons, (1997).

[36] M. P. Jensen, A. H. Bond, J. Am. Chem. Soc., 124 (2002) 9870-9877.

[37] M. R. Yaftian, M. Burgard, D. MAtt, C. B. Dieleman, F. Rastegar, Solvent Extr. Ion Exch., 15 (1997) 975-989.

[38] R. Ludwig, K. Kunogi, N. Dung, S. Tachimori, Chem. Commun., (1997) 1985-1986.

[39] I. Matulková, J. Rohovec, Polyhedron, 24 (2005) 311-317.

[40] M. Karavan, F. Arnaud-Neu, V. Hubscher-Bruder, I. Smirnov, V. Kalchenko, J. Incl. Phenom. Macrocycl. Chem., 66 (2010) 113-123.

[41] M. R. Yaftian, M. R. Razipour, D. Matt, J. Radioanal. Nucl. Ch., 270 (2006) 357-361.

[42] F. Arnaud-Neu, V. Böhmer, J.-F. Dozol, C. Grüttner, R. A. Jakobi, D. Kraft, O. Mauprivez, H. Rouquette, M.-J. Schwing-Weill, N. Simon, W. Vogt, J. Chem. Soc., Perkin Trans., 2 (1996) 1175-1182.

[43] H. Boerrigter, W. Verboom, D. N. Reinhoudt, J. Org. Chem., 62 (1997) 7148-7155.

[44] M. M. Reinoso-García, W. Verboom, D. N. Reinhoudt, F. Brisach, F. Arnaud-Neu, K. Liger, Solvent Extr. Ion Exch., 23 (2005) 425-437.

[45] H. Boerrigter, T. Tomasberger, W. Verboom, D. N. Reinhoudt, Eur. J. Org. Chem., (1999) 665-674.

[46] A. R. Mustafina, I. Ya. Zagidullina, V. I. Maslennikova, O. S. Serkova, T. V. Guzeeva, A. I. Konovalova, Russ. Chem. Bull., Int. Ed., 56 (2007) 313-319.

[47] B. Grüner, J. Plešek, J. Báča; I. Císařová, J. F. Dozol, H. Rouquette, C. Viňas, P. Selucký, J. Rais, New J. Chem., 26 (2002) 1519-1527.

[48] M. Sawicki, J.-M. Siaugue, C. Jacopin, C. Moulin, T. Bailly, R. Burgada, S. Meunier, P. Baret, J.-L. Pierre, F. Taran, Chem. Eur., 11 (2005) 3689-3697.

[49] H. H. Dam, H. Beijleveld, D. N. Reinhoudt, W. Verboom, J. Am. Chem. Soc., 130 (2008) 5542-5551.

[50] J. E. Sonke, V. J. M. Salters, Analyst, 129 (2004) 731-738.

[51] S. Topin, J. Aupiais, N. Baglan, T. Vercouter, P. Vitorge, P. Moisy, Anal. Chem., 81 (2009) 5354-5363.

[52] J. Petit, J. Aupiais, S. Topin, V. Geertsen, C. Beaucaire, M. Stambouli, Electrophoresis, 31 (2010) 355-363.

[53] J. Petit, V. Geertsen, C. Beaucaire, M. Stambouli, J. Chromatogr. A, 1216 (2009) 4113-4120.

[54] S. Ehala, E. Makrlík, P. Toman, V. Kašička, Electrophoresis, 31 (2010) 702-708.

[55] M. Girardot, P. Gareil, A. Varenne, Electrophoresis, 31 (2010) 546-555.

[56] S. Ehala, V. Kašička, E. Makrlík, Electrophoresis, 29 (2008) 652-657.

[57] S. Ehala, J. Dybal, E. Makrlík, V. Kašička, J. Chromatogr. A, 1216 (2009) 3660-3665.

[58] S. Safi, Z. Asfari, M. Leroy, C. Basset, E. Quéméneur, C. Vidaud, A. Hagège, Analyst, 134 (2009) 256-260.

[59] L. Yi, L. Xiaomei, F. Hui, Z. Yingcheng, L. Dan, W. Ying, J. Chromatogr. A, 1143 (2007) 284-287.

[60] T. Le Saux, A. Varenne, F. Perreau, L. Siret, S. Duteil, L. Duhau, P. Gareil, J. Chromatogr. A, 1132 (2006) 289-296.

[61] S. Ehala, J. Míšek, I.G. Stará, I. Starý, V. Kašička, J. Sep. Sci., 31 (2008) 2686-2693.

[62] R. Plasson, H. Cottet, Anal. Chem., 78 (2006) 5394-5402.

[63] M. H. A. Busch, H. F. M. Boelens, J. C. Kraak, H. Poppe, J. Chromatogr. A, 775 (1997) 313-326.

[64] F. B. Erim, J. C. Kraak, J. Chromatogr. B, 710 (1998) 205-210.

[65] M. H. A. Busch, L. B. Carels, H. F. M. Boelens, J. C. Kraak, H. Poppe, J. Chromatogr. A, 777 (1997) 311-328.

[66] A. V. Rudnev, S. S. Aleksenko, O. Semenova, C. G. Hartinger, A. R. Timerbaev, B. K. Keppler, J. Sep. Sci., 28 (2005) 121-127.

[67] E. Donati, C. M. Polcaro, J. Sep. Sci., 29 (2006) 2853-2857.

[68] J. Oravcova, D. Sojkova. W. Lindnerh., J. Chromatogr. B, 682 (1996) 349-357.

[69] W. Yan, C. L. Colyer, J. Chromatogr. A, 1135 (2006) 115-121.

[70] J. Y. Gao, P. L. Dubin, B. B. Muhoberac, Anal. Chem., 69 (1997) 2945-2951.

[71] Q.-H. Lu, C.-D. Ba, D.-Y. Chen, J. Pharmaceut. Biomed., 47 (2008) 888-891.

[72] T. Knjazeva, M. Kaljurand, Anal. Bioanal. Chem., 397 (2010) 2211-2219.

[73] H. Sun, W. Zhao, P. He, Chromatographia, 68 (2008) 425-429.

[74] Y. Sun, S. Cressman, N. Fang, P. R. Cullis, D. D. Y. Chen, Anal. Chem., 80 (2008) 3105-3111.

[75] J. J. Martínez-Pla, M. A. Martínez-Gómez, Y. Martín-Biosca, S. Sagrado, R. M. Villanueva-Camañas, M. J. Medina-Hernández, Electrophoresis, 25 (2004) 3176-3185.

[76] L. M. Lewis, L. J. Engle, W. E. Pierceall, D. E. Hughes, K. J. Karen Joy Shaw, J. Biomol. Screen., 9 (2004) 303-308.

[77] Y.-H. Chu, Z. A. Luis, H. A. Biebuyck, G. M. Whitesides, J. Org. Chem., 58 (1993) 648-662.

[78] Y.-H. Chu, Y. M. Dunayevskiy, D. P. Kirby, P. Vouros, B. L. Karger, J. Am. Chem. Soc., 118 (1996) 7827-7835.

[79] G. W. Caldwella, P. A. McDonnella, J. A. Masuccia, D. L. Johnson , L. K. Jolliffe, J. Biochem. Biophys. Methods, 40 (1999) 17-25.

[80] M. A. Petrova, J. Chem. Eng. Data, 55 (2010) 5791-5796.

[81] J. M. Gladis, T. PrasadaRao, Anal. Lett., 35 (2002) 501-515.

[82] K. Pyrzynska, M. Trojanowicz, Crit. Rev. Anal. Chem., 29 (1999) 313-321.

[83] A. Junker-Buchheit, M. Witzenbacher, J. Chromatogr. A, 737 (1996) 67-74.

[84] M. Husain, S. A. Ansari, P. K. Mohapatra, R. K. Gupta, V. S. Parmar, V. K. Manchanda, Desalination, 229 (2008) 294-301.

[85] E. Bou-Maroun, G. J. Goetz-Grandmont, A. Boos, Separ. Sci. Technol., 42 (2007) 1913-1930.

[86] W. Yantasee, G. E. Fryxell, R. S. Addleman, R. J. Wiacek, V. Koonsiripaiboon, K. Pattamakomsan, V. Sukwarotwat, J. Xu, K. N. Raymond, J. Hazard. Mater., 168 (2009) 1233-1238.

[87] W. Yantasee, G. E. Fryxell, G. A. Porter, K. Pattamakomsan, V. Sukwarotwat, W. Chouyyok, V. Koonsiripaiboon, J. Xu, K. N. Raymond, Nanomed.-Nanotechnol., 6 (2010) 1-8.

[88] W. Yantasse, G. E. Fryxell, Y. Lin, H. Wu, K.N. Raymond, J. Xu, J. Nanosci. Nanotech., 5 (2005) 527-529.

[89] M. Yamaura, H. T. Matsuda, J. Radioanal. Nucl. Ch., 241 (1999) 277-280.

[90] E. P. Horwitz, D. R. McAlister, A. H. Bond, R. E. Barrans, J. M. Williamson, Appl. Radiat. Isotopes, 63 (2005) 23-36.

[91] S. Bourg, J.-C. Broudic, O. Conocar, J. J. E. Moreau, D. Meyer, M. Wong Chi Man, Chem. Mater., 13 (2001) 491-499.

[92] A. Zhang, E. Kuraoka, H. Hoshi, M. Kumagai, J. Chromatogr. A, 1061 (2004) 175-182.

[93] A. Zhang, E. Kuraoka, M. Kumagai, Eur. Polym. J., 43 (2007) 529-539.

[94] H. Hoshi, Y.-Z. Wei, M. Kumagai, T. Asakura, Y. Morita, J. Alloys Compd., 374 (2004) 451-455.

[95] Y. Wei, A. Zhang, M. Kulagai, M. Watanabe, N. Hayashi, J. Nucl. Sci. Technol., 41 (2004) 315-322.

[96] S. Usuda, R. Liu, Y. Wei, Y. Xu, H. Yamazaki, Y. Wakui, J. Ion Exchange, 21 (2010) 35-40.

[97] H. Yan, K. H. Row, Int. J. Mol. Sci., 7 (2006) 115-178.

[98] F. Qiao, H. Sun, H. Row K. H. Yan, Chromatographia, 64 (2006) 625-634.

[99] G. Wulff, Angew. Chem., Int. Ed. Engl., 34 (1995) 1812-1832.

[100] H. Nishide, J. Deguchi, Chem. Lett., 2 (1976) 169-174.

[101] H. Nishide, E. Tsuchida, Makromol. Chem., 177 (1976) 2295-2310.

[102] H. Nishide, J. Deguchi, E. Tsuchida, J. Polym. Sci. Polym. Chem. Ed., 15 (1977) 3023-3029.

[103] K. Ohga, Y. Kurauchi, H. Yanase, Bull. Chem. Soc. Jpn., 60 (1987) 444-446.

[104] R. Garcia, O. Vigneau, C. Pinel, M. Lemaire, Sep. Sci. Technol., 37 (12) (2002) 2839-2857.

[105] O. Vigneau, C. Pinel, M. Lemaire, Anal. Chim. Acta, 435 (2001) 75-82.

[106] O. Vigneau, C. Pinel, M. Lemaire, Chem. Lett., (2002) 202-203.

[107] K. Tsukaghoshi, K. Y. Yu, M. Maeda, M. Takagi, Bull. Chem. Soc. Jpn., 66 (1993) 114-120.

[108] K. Y. Yu, K. Tsukaghoshi, M. Maeda, M. Takagi, Anal. Sci., 8 (1992) 701-703.

[109] K. Uezu, T. Kuwabara, M. Yoshida, M. Goto, S. Furusaki, Anal. Sci., 20 (2004) 1593-1597.

[110] K. Koide, K. Tsujimoto, H. Shoshenji, M. Maeda, M. Takagi, Bull. Chem. Soc. Jpn., 71 (1998) 789-796.

[111] C. R. Preetha, J. M. Gladis, T. Prasada Rao, G. Venkateswaran, Environ. Sci. Technol., 40 (2006) 3070-3074.

[112] V. M. Biju, J.M. Gladis, T. Prasada Rao, Anal. Chim. Acta, 478 (2003) 43-51.

[113] V. M. Biju, J.M. Gladis, T. Prasada Rao, Talanta, 60 (2003) 747-754.

[114] R. Kala, J.M. Gladis, T. Prasada Rao, Anal. Chim. Acta, 518 (2004) 143-150.

[115] R. Kala, T. Prasada Rao, Sep. Sci. Technol., 41 (2006) 233-246.

[116] P. Gopikrishna, J. M. Gladis, T. Prasada Rao, J. Mol. Recognit., 18 (2005) 109-116.

[117] X. Zhang, C. Li, Y. Yan, J. Pan, P. Xu, X. Zhao, Microchim. Acta, 169 (2010) 289-296.

[118] P. G. Krishna, J. M. Gladis, T. Prasada Rao, G. R. Naidu, J. Mol. Recognit., 18 (2005) 109-116.

[119] M. L. P Reddy, T. P. Rao, A. D. Damodaran., Metal Process. Extract. Metall. Rev., 12 (1995) 91-113.

[120] R. Kala, V. M. Biju, T. Prasado Rao, Anal. Chim. Acta, 549 (2005) 51-58.

[121] X. Lai, Y. Hu, Y. Fu, L. Wang, J. Xiang, J. Inorg. Organomet. Polym., 22 (2012) 112-118.

[122] T. B. Pierce, P. F., Peck, R. S. Hobbs, J. Chromatogr., 12 (1963) 81-88.

[123] B. J. Baliant, J. Rare Earth, 1 (1991) 386-389.

Chapitre 2 :

Application du couplage CE-ICP/MS à la détermination des constantes de complexation de ligands phosphorés

1. INTRODUCTION

Dans la recherche de ligands présentant une affinité pour l'europium, la stratégie retenue par le Service de Chimie Bioorganique et de Marquage du CEA de Saclay et le Laboratoire des Systèmes Chimiques Fonctionnels de Strasbourg a consisté à utiliser des approches de synthèse parallèle conduisant à l'obtention d'une chimiothèque d'une trentaine de ligands contenant des fonctions phosphorées.

Dans ce contexte, notre but était de proposer une alternative aux méthodes conventionnelles telles que la spectrophotométrie UV-Visible, la potentiométrie, ou encore la spectroscopie de fluorescence, qui associerait rapidité d'analyse et faible consommation de ligand pour la détermination de l'affinité des différents ligands.

Nous nous sommes orientés vers le développement d'un outil basé sur l'électrophorèse capillaire d'affinité couplée à une détection par ICP/MS. Les récents développements en termes d'interface mais aussi d'instrumentation permettent à l'électrophorèse capillaire couplée à la spectrométrie de masse ICP/MS de constituer une alternative aux méthodes classiquement utilisées. Le couplage CE-ICP/MS permet d'allier l'efficacité de séparation par électrophorèse capillaire et la haute sensibilité ainsi que la possibilité de l'analyse élémentaire de la détection par spectrométrie de masse.

Comme nous l'avons vu dans le chapitre précédent, l'électrophorèse capillaire d'affinité a prouvé son potentiel pour la détermination de constantes de complexation parmi lesquelles nous pouvons citer les constantes d'association métal/ligand [1 - 4], métal/biomolécule [5 - 8], médicament/protéine [9, 10] ou encore les constantes de protonation de bases faibles [11, 12] et son intérêt pour le criblage de bibliothèque de cibles antimicrobiennes potentielles, par exemple [13]. Ainsi, après avoir rappelé brièvement le principe de l'électrophorèse capillaire d'affinité, nous détaillerons la mise au point de son couplage à l'ICP/MS ainsi que des conditions d'analyse. Dans une troisième et dernière partie, le criblage de nombreux ligands présentant des fonctions variées oxyde de phosphine, ester de phosphonate, acide phosphonique, acide carboxylique,… sera réalisé pour sélectionner les motifs complexant les plus prometteurs. Ensuite, pour les ligands présentant une affinité pour l'europium, une étude plus approfondie permettant d'accéder aux constantes apparentes de formation des complexes de l'europium sera présentée et les résultats comparés à ceux obtenus en spectrophotométrie UV-Visible.

2. ELECTROPHORESE CAPILLAIRE

2.1. Principe de l'électrophorèse capillaire

Le principe de l'électrophorèse capillaire repose sur la migration d'espèces chargées en solution, sous l'effet d'un champ électrique.
La séparation des espèces, par électrophorèse capillaire, est fonction de la migration différentielle des espèces, migration due à deux phénomènes, l'électrophorèse caractérisée par la mobilité électrophorétique (μ_{ep}) des espèces chargées, principalement fonction de leur densité de charge, et l'électroosmose conduisant à une mobilité électroosmotique (μ_{eo}) induite par la présence de charges à la surface du capillaire.

2.1.1. Electromigration - Mobilité électrophorétique

La mobilité électrophorétique correspond à la mobilité propre des espèces chargées ; elle apparaît comme le facteur de migration de ces espèces vers l'électrode de signe opposé.

En électrophorèse, toute espèce chargée est soumise à deux forces opposées :

- une force électrostatique

$$F_e = q \,.\, E \qquad \text{(Eq. 1)}$$

Avec q : Charge de l'ion (C)

E : Champ électrique appliqué ($V.m^{-1}$)

- une force de frottement due à la viscosité du milieu

$$F_f = 6\,\pi \,.\, \eta \,.\, r \,.\, v_{ep} \qquad \text{(Eq. 2)}$$

Avec η : Viscosité dynamique du milieu (Pa.s)

r : Rayon de Stokes de l'espèce chargée assimilée à une sphère (m)

v_{ep} : Vitesse électrophorétique ($m.s^{-1}$)

La vitesse électrophorétique est donnée par la relation :

$$v_{ep} = \mu_{ep} \,.\, E \qquad \text{(Eq. 3)}$$

Avec μ_{ep} : Mobilité électrophorétique ($m^2.s^{-1}.V^{-1}$)

Sous l'effet des deux forces (1) et (2), il s'établit un état d'équilibre.

$$q \,.\, E = 6\,\pi \,.\, \eta \,.\, r \,.\, v_{ep} \qquad \text{(Eq. 4)}$$

L'espèce chargée prend alors un mouvement uniforme et en combinant les équations (3) et (4), la mobilité électrophorétique s'exprime alors selon l'équation suivante :

$$\mu_{ep} = \frac{q}{6\,\pi \,.\, \eta \,.\, r} \qquad \text{(Eq. 5)}$$

La mobilité électrophorétique dépend de la densité de charge de l'ion et des différentes propriétés relatives à l'électrolyte (pH, température, modificateur organique, composition ionique de l'électrolyte).

2.1.2. Electroosmose - Mobilité électroosmotique

La mobilité électroosmotique μ_{eo} résulte du phénomène d'électroosmose. L'électroosmose permet le mouvement de l'ensemble de l'électrolyte. Son origine se situe au niveau de l'interface paroi interne du capillaire/électrolyte. En effet, dans le cas d'un capillaire de silice, la paroi interne est chargée négativement pour des pH supérieurs à 2. Ceci est dû à la présence des groupements silanols qui se trouvent sous forme dissociée. Il se forme ainsi au voisinage de la paroi interne du capillaire une double couche électrique constituée d'un excédent de cations solvatés provenant de l'électrolyte (figure II.1). La double couche est constituée d'une première couche de cations absorbés à faible distance de la paroi du capillaire (couche de Stern ou couche compacte) et d'une seconde couche plus diffuse de cations mobiles (couche diffuse).

Lors de l'application d'un champ électrique parallèle à l'interface capillaire/électrolyte, les cations excédentaires de la couche compacte ne peuvent migrer du fait des interactions électrostatiques avec les charges de surface de la paroi du capillaire. En revanche, les cations excédentaires de la couche diffuse, plus mobiles du fait d'interactions électrostatiques plus faibles avec les charges de surface de la paroi du capillaire, se mettent en mouvement et migrent dans le sens du champ électrique en direction de la cathode. Ils entraînent alors les molécules de solvant par friction, provoquant ainsi un véritable écoulement de l'électrolyte de vitesse linéaire v_{eo} de l'anode vers la cathode appelé flux électroosmotique.

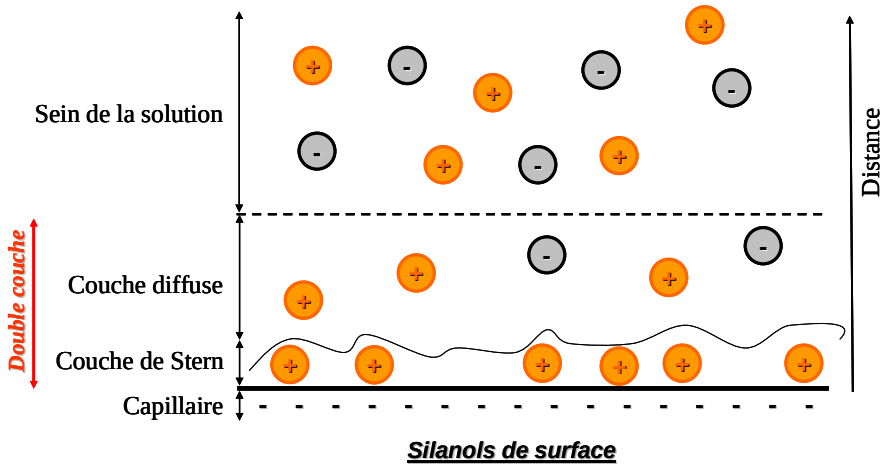


Figure II.1 : Représentation schématique de la paroi interne du capillaire et de la double couche formée au voisinage de celle-ci.

La vitesse électroosmotique, v_{eo}, est proportionnelle au champ électrique appliqué. Elle est donnée par la relation :

$$v_{eo} = \mu_{eo} \cdot E \qquad \text{(Eq. 6)}$$

Avec μ_{eo} : Mobilité électroosmotique ($m^2.s^{-1}.V^{-1}$)

E : Champ électrique appliqué ($V.m^{-1}$)

La relation de Helmholtz - Smoluchowski permet de décrire la vitesse électroosmotique :

$$v_{eo} = -\frac{\varepsilon_r \cdot \varepsilon_0 \cdot \zeta}{4\pi \cdot \eta} E \qquad \text{(Eq. 7)}$$

$$\text{où } \mu_{eo} = -\frac{\varepsilon_r \cdot \varepsilon_0 \cdot \zeta}{4\pi \cdot \eta} \qquad \text{(Eq. 8)}$$

Avec ε_r : Constante diélectrique de l'électrolyte

ε_0 : Permittivité du vide ($F^{-1}.m^{-1}$)

ζ : Potentiel zêta (V)

η : Viscosité dynamique de l'électrolyte (Pa.s)

Le potentiel zêta représente le potentiel à la surface du capillaire.

La mobilité électroosmotique est proportionnelle au potentiel zêta, lui même étant relié à la densité de charge par unité de surface et à l'épaisseur de la double couche électrique selon la relation :

$$\zeta = \frac{\delta \,.\, \sigma}{\varepsilon_r \,.\, \varepsilon_0} \qquad \text{(Eq. 9)}$$

Avec δ : Epaisseur de la double couche (m)

σ : Densité de charge par unité de surface ($C.m^{-2}$)

A partir des équations (8) et (9), la mobilité électroosmotique peut s'exprimer selon :

$$\mu_{eo} = -\frac{\delta \,.\, \sigma}{\eta} \qquad \text{(Eq. 10)}$$

La mobilité électroosmotique dépend de la composition de l'électrolyte (nature et concentration des ions, pH et modificateur organique), de la nature du capillaire et de la température.

Par conséquent, le flux électroosmotique sera dirigé vers la cathode lorsque la paroi interne du capillaire sera chargée négativement. Par contre, le flux électroosmotique sera dirigé vers l'anode lorsque la paroi interne du capillaire sera chargée positivement.

Expérimentalement, la mobilité électroosmotique est déterminée à partir du temps de migration t_{eo} que mettra une espèce neutre (eau, alcool benzylique, méthanol, diméthylsulfoxyde, …) pour parcourir la longueur l de capillaire jusqu'au détecteur.

La mobilité électroosmotique s'exprime alors selon la formule :

$$\mu_{eo} = \frac{L \,.\, l}{V \,.\, t_{eo}} \qquad \text{(Eq. 11)}$$

Avec L : Longueur totale du capillaire (m)

l : Longueur du capillaire jusqu'au détecteur (m)

V : Différence de potentiel appliquée (V)

t_{eo} : Temps de migration d'une espèce neutre (s)

L'écoulement électroosmotique présente un profil plat, contrairement aux profils paraboliques trouvés en chromatographie liquide. Il résulte, de ce profil plat, une faible dispersion des analytes et donc une meilleure efficacité.

La modification de surface des capillaires est largement utilisée afin de réduire l'adsorption des analytes sur les parois du capillaire. Toutefois, elle permet aussi d'améliorer les séparations (gain en temps, en efficacité, en sélectivité) de par la modulation du flux électroosmotique qu'elle engendre.

Deux approches sont possibles pour modifier la surface du capillaire, soit le revêtement dynamique, soit le greffage permanent [14]. La nouvelle surface, formée après traitement, doit être stable dans les conditions d'analyse.

Le greffage permanent consiste à immobiliser un polymère soit par liaison covalente soit par immobilisation thermique. Les revêtements formés par ce type de greffage sont stables dans le temps et ne nécessitent pas d'étape de régénération du revêtement entre les séparations. Dans le premier cas, le greffage fait en général appel à un silane bifonctionnel (dont un des plus populaires est le γ-méthacryloxypropyltriméthoxysilane) qui assurera la liaison entre la surface du capillaire et le polymère, généralement produit par polymérisation radicalaire *in situ* [15]. Alternativement, les liaisons Si-O-Si peuvent être remplacées par des liaisons Si-C, obtenues par réaction de Grignard, qui confèrent aux capillaires ainsi modifiés une meilleure résistance à l'hydrolyse en milieu basique [16]. A ces réactions s'ajoutent bien souvent des étapes de prétraitement (attaque chimique, lixiviation, …) destinées à améliorer le greffage. La plupart de ces procédures de greffage permanent nécessitent donc plusieurs étapes et sont donc consommatrices de temps. De plus, la reproductibilité et l'homogénéité de ces modifications directement dans le capillaire sont souvent sujettes à caution.

Le greffage thermique reste lui plus marginal et consiste en l'adsorption d'un polymère sur la surface (généralement le polyvinylalcool) dont la liaison avec la surface du capillaire deviendra permanent après sa cristallisation induite par chauffage.

Une autre alternative consiste à utiliser le revêtement dynamique [17]. Ce type de modification de la paroi du capillaire est simple, rapide à mettre en œuvre et réversible. La durée de vie du revêtement peut être améliorée par une étape de régénération entre les séparations. Il consiste à immobiliser un composé sur la surface du capillaire par des interactions non-covalentes, électrostatiques, hydrophobes ou des liaisons hydrogène entre les groupements silanols et le composé.

Le modificateur de flux est le plus souvent un polymère cationique, anionique ou neutre, ou encore un surfactant cationique, neutre ou zwitterionique, qui est alors immobilisé sur la surface du capillaire par l'intermédiaire d'interactions non covalentes (électrostatiques, hydrophobes ou liaisons hydrogène). L'équilibre étant réversible, la présence du modificateur de flux dans l'électrolyte est souvent indispensable.

Les polymères cationiques, et principalement ceux possédant des ammoniums quaternaires tels que le polybrène ou le bromure de cétyltriméthylammonium, connaissent une réelle popularité.

Parmi ces polymères, certains présentent néanmoins une stabilité de revêtement suffisamment importante pour que leur présence ne soit pas nécessaire lors de la séparation. C'est le cas notamment du polybrène [18 - 22] et du poly(chlorure de diallyldiméthylammonium) [23 - 26]. L'intérêt de ce type de revêtement réside notamment dans le couplage avec des détecteurs externes telle que la spectrométrie de masse, mais ils permettent également de minimiser les interactions entre ces molécules et les solutés [22, 27 - 30]. Il est cependant nécessaire de régénérer le revêtement formé par le polybrène plus fréquemment qu'un revêtement formé par le poly(chlorure de diallyldiméthylammonium) [31]. Toutefois, l'utilisation d'un revêtement formé d'une couche de polybrène, d'un polymère anionique et d'une seconde couche de polybrène permet d'améliorer considérablement la stabilité du revêtement par rapport à un revêtement formé d'une seule couche de polybrène [22]. Il faut également noter que des molécules spécialement conçues pour le revêtement, surnommées molécules « scorpions » et ayant la particularité de se lier à la surface dans un premier temps par liaison hydrogène et interactions ioniques pour former à terme une liaison covalente avec les silanols ont été développées. Ces molécules allient ainsi la simplicité de mise en œuvre du revêtement dynamique et la stabilité dans le temps du greffage [32].

2.1.3. Vitesse de migration apparente - Mobilité apparente

En l'absence de tout autre phénomène, l'électroosmose et l'électromigration sont responsables de la vitesse apparente avec laquelle une espèce migre dans le capillaire. Elle s'exprime alors selon :

$$v_{app} = \mu_{app} \,.\, E = v_{ep} + v_{eo} \qquad \text{(Eq. 12)}$$

Avec v_{app} : Vitesse apparente ($m.s^{-1}$)

μ_{app} : Mobilité apparente ($m^2.V^{-1}.s^{-1}$)

D'après les équations des différentes vitesses (3), (6) et (12), la mobilité apparente peut donc s'écrire :

$$\mu_{app} = \mu_{ep} + \mu_{eo} \qquad \text{(Eq. 13)}$$

Celle-ci peut être déterminée expérimentalement à partir du temps de migration de l'espèce chargée considérée jusqu'au détecteur.
La mobilité apparente est alors déterminée à partir de l'expression suivante :

$$\mu_{app} = \frac{L \,.\, l}{V \,.\, t_{mig}} \qquad \text{(Eq. 14)}$$

Avec t_{mig} : temps de migration de l'espèce chargée (s)

Il est dès lors possible de déterminer expérimentalement la mobilité électrophorétique d'une espèce chargée à partir de son temps de migration et du temps de migration d'une espèce neutre selon :

$$\mu_{ep} = \mu_{app} - \mu_{eo} = \frac{L \,.\, l}{V} \,.\, \left(\frac{1}{t_{mig}} - \frac{1}{t_{eo}} \right) \qquad \text{(Eq. 15)}$$

2.2. Electrophorèse capillaire d'affinité

2.2.1. Isotherme de complexation

La méthode consiste à suivre les variations de mobilité électrophorétique d'un soluté dues au phénomène de complexation engendré par l'ajout de quantités croissantes d'un autre composé dans l'électrolyte de fond. Dans notre cas, nous avons choisi de suivre les variations de mobilité électrophorétique effective des ligands phosphorés en fonction des concentrations croissantes en Eu^{3+} présent dans l'électrolyte.

Il est nécessaire que les mobilités électrophorétiques du ligand et du complexe formé soient significativement différentes pour être en mesure d'observer une modification de la mobilité électrophorétique effective. De plus, les temps nécessaires pour atteindre l'équilibre doivent être inférieurs au temps d'analyse, ce qui est le cas des systèmes labiles avec des cinétiques d'échanges rapides [33, 34].

Toutefois, les espèces sont en équilibre durant tout le processus de séparation, évitant ainsi les phénomènes de dissociation, même dans le cas de constantes relativement faibles.
La mobilité électrophorétique est donc une caractéristique de l'équilibre qui se forme.

L'expression générale de la mobilité électrophorétique d'un analyte est fonction des différentes formes chimiques en solution.

Soient deux composés A et B, présents pour l'un dans l'échantillon et pour l'autre dans l'électrolyte. La formation possible de complexes multiples entre ces deux composés peut être considérée selon l'équilibre de complexation suivant :

$$i\,A + j\,B \rightleftharpoons A_iB_j$$

avec i et j deux nombres entiers positifs allant pour le premier de 0 à m et pour le second de 0 à n, m et n étant eux aussi deux nombres entiers positifs.

En supposant que le milieu soit suffisamment dilué pour assimiler activité et concentration d'une espèce donnée, les constantes de complexation relatives à ces équilibres s'expriment de la manière suivante :

$$\beta_{ij} = \frac{[A_iB_j]}{[A]^i\,.\,[B]^j} \qquad \text{(Eq. 16)}$$

Avec $[A_iB_j]$: Concentration à l'équilibre de l'espèce A_iB_j (M)

$[A]$: Concentration à l'équilibre de l'espèce A (M)

$[B]$: Concentration à l'équilibre de l'espèce B (M)

Si les équilibres sont rapides, les espèces individuelles ne peuvent être déterminées séparément. Au cours de la séparation par électrophorèse capillaire, un seul pic est observé dont la mobilité électrophorétique effective sera alors fonction de la mobilité et de la fraction molaire de chacune des formes chimiques présentes en solution (figure II.2).

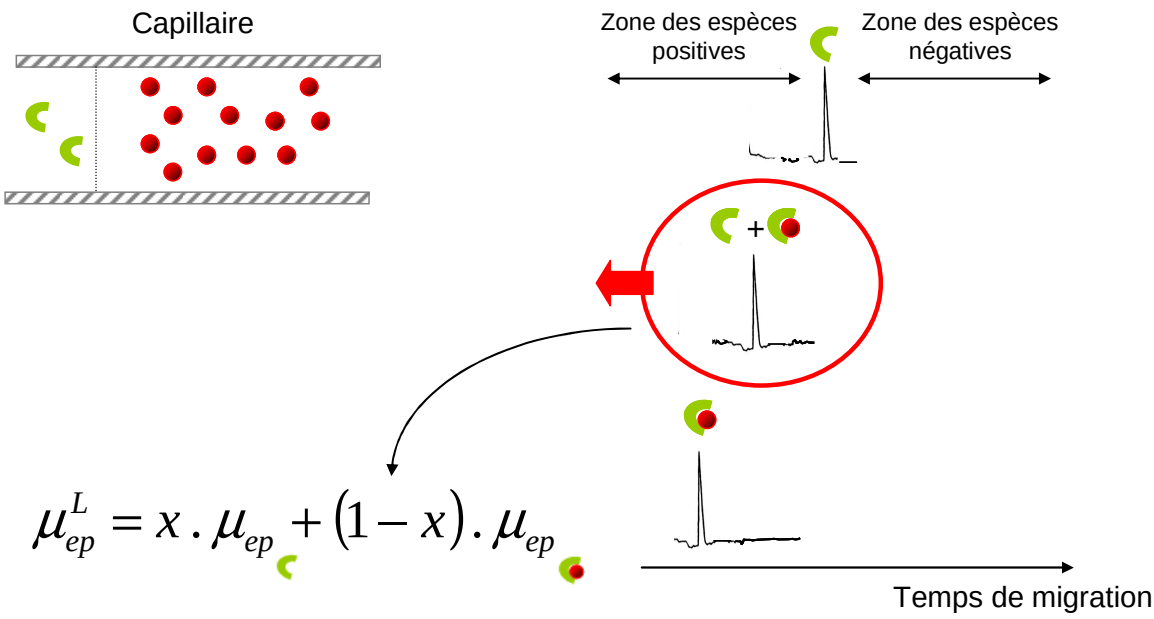


Figure II.2 : Principe de la détermination de la mobilité électrophorétique effective du ligand lors de l'ajout de quantités croissantes de métal dans le cas de système labile.

(ligand se trouvant dans l'échantillon injecté, métal se trouvant dans l'électrolyte, complexe)

Ainsi, dans le cas où A est le composé injecté et B celui présent dans l'électrolyte, la mobilité électrophorétique effective du composé A, μ_{ep}^{A}, tenant compte de toutes les formes chimiques de ce composé en solution, peut s'écrire :

$$\mu_{ep}^{A} = x_A \,.\, \mu_{ep\,A} + \sum_{j=1}^{n}\left(\sum_{i=1}^{m} x_{A_iB_j} \,.\, \mu_{ep\,A_iB_j}\right) \qquad \text{(Eq. 17)}$$

Avec x_A : Fraction molaire du composé A libre

$\mu_{ep\,A}$: Mobilité électrophorétique du composé A libre ($m^2.s^{-1}.V^{-1}$)

$x_{A_iB_j}$: Fraction molaire des formes complexées du composé A

$\mu_{ep\,A_iB_j}$: Mobilité électrophorétique des formes complexées du composé A ($m^2.s^{-1}.V^{-1}$)

En tenant compte des différentes constantes d'équilibre (Eq. 16), la mobilité électrophorétique effective du composé A peut s'exprimer en fonction de la concentration de A et de la concentration de B selon :

$$\mu_{ep}^{A} = \frac{\mu_{ep\,A} + \sum_{j=1}^{n}\left(\sum_{i=1}^{m} \beta_{ij} \,.\, [A]^i \,.\, [B]^j \,.\, \mu_{ep\,A_iB_j}\right)}{1 + \sum_{j=1}^{n}\left(\sum_{i=1}^{m} i \,.\, \beta_{ij} \,.\, [A]^i \,.\, [B]^j\right)} \qquad \text{(Eq. 18)}$$

Dans le cas d'un complexe métal : ligand de stœchiométrie 1 : 1, la mobilité électrophorétique effective peut alors s'écrire de la façon suivante :

$$\mu_{ep}^{A} = \frac{\mu_{ep\,A} + \beta\,.\,[B]\,.\,\mu_{ep\,AB}}{1 + \beta\,.\,[B]} \qquad \text{(Eq. 19)}$$

Avec μ_{ep}^{A} : Mobilité électrophorétique effective du composé A lors de l'ajout de quantités croissantes en composé B dans l'électrolyte ($m^2.s^{-1}.V^{-1}$)

La connaissance de $\mu_{ep\,A}$ est accessible à partir de la mesure de la mobilité électrophorétique du composé A en absence de composé B dans l'électrolyte.
L'isotherme de complexation ainsi obtenue permet de relier la mobilité électrophorétique effective μ_{ep}^{A} du composé A, déterminée expérimentalement aux différentes constantes apparentes de complexation et aux mobilités électrophorétiques des différentes espèces du composé A.

2.2.2. Traitement mathématique

L'étude de la migration du composé A dans différents électrolytes contenant des quantités croissantes du composé B permet d'établir une courbe représentant l'évolution de la mobilité électrophorétique effective du composé A en fonction de la concentration en composé B de l'électrolyte.

La concentration du composé A est maintenue constante. En pratique, la concentration initiale en composé B de l'électrolyte est assimilée à la concentration en composé B libre à l'équilibre. Cette approximation n'est bien entendu valable que si la concentration initiale en composé B est très supérieure à celle du composé A et/ou si la constante de complexation est faible. La connaissance de la concentration en composé A n'est pas indispensable dans la mesure où elle n'apparaît dans aucune des équations envisagées. En revanche, cette approximation ne peut être faite lorsqu'une fraction non négligeable du composé B est complexée. Dans ce cas, il s'avère nécessaire de recalculer $[B]$, calcul pour lequel il est nécessaire de connaître la concentration initiale du composé A.

De plus, les différentes analyses doivent être réalisées dans des électrolytes couvrant une large gamme de concentrations en composé B afin d'obtenir l'isotherme de complexation dans sa

globalité. Idéalement, l'isotherme de complexation débute et se termine par un plateau, ce qui n'est pas toujours réalisable compte tenu notamment de la chaleur produite dans des électrolytes très chargés en sels.

2.2.2.1.Constante de complexation pour un complexe métal : ligand de stœchiométrie 1 : 1

Lorsque la concentration du composé B à l'équilibre dans l'électrolyte est assimilable à la concentration initiale du composé B libre, l'équation de la mobilité électrophorétique effective du composé A peut être utilisée directement pour la détermination des constantes apparentes de complexation par régression non linéaire ou sous l'une des formes linéaires suivantes :

$$\frac{\mu_{ep\,A} - \mu_{ep}^{A}}{\mu_{ep}^{A} - \mu_{ep\,AB}} = \beta \,.\, [B] \qquad \text{(Eq. 20)}$$

$$\frac{1}{\mu_{ep}^{A} - \mu_{ep\,A}} = \frac{1}{\beta\left(\mu_{ep\,AB} - \mu_{ep\,A}\right)} \cdot \frac{1}{[B]} + \frac{1}{\mu_{ep\,AB} - \mu_{ep\,A}} \qquad \text{(Eq. 21)}$$

$$\frac{[B]}{\mu_{ep}^{A} - \mu_{ep\,A}} = \frac{1}{\mu_{ep\,AB} - \mu_{ep\,A}} \,.\, [B] + \frac{1}{\beta\left(\mu_{ep\,AB} - \mu_{ep\,A}\right)} \qquad \text{(Eq. 22)}$$

$$\frac{\mu_{ep}^{A} - \mu_{ep\,A}}{[B]} = -\,\beta \,.\, \left(\mu_{ep}^{A} - \mu_{ep\,A}\right) + \beta \,.\, \left(\mu_{ep\,AB} - \mu_{ep\,A}\right) \qquad \text{(Eq. 23)}$$

Le tableau II.1 regroupe les représentations graphiques relatives à chacune des expressions ainsi que les méthodes de calcul de β et de μ_{ep} (AB).

Tableau II.1 : Représentations graphiques des expressions (20) à (23) conduisant à des fonctions linéaires et à la détermination de β et ($\mu_{ep\,AB} - \mu_{ep\,A}$) à partir de la pente et de l'ordonnée à l'origine.

Expression	Représentation graphique	β	$\mu_{ep\,AB} - \mu_{ep\,A}$
Isotherme	$\dfrac{\mu_{ep\,A} - \mu_{ep}^{A}}{\mu_{ep}^{A} - \mu_{ep\,AB}}$ en fonction de $[B]$	*pente*	*Déterminée en présence d'un large excès de B*
xy-réciproques	$\dfrac{1}{\mu_{ep}^{A} - \mu_{ep\,A}}$ en fonction de $\dfrac{1}{[B]}$	$\dfrac{ordonnée}{pente}$	$\dfrac{1}{ordonnée}$
y-réciproque	$\dfrac{[B]}{\mu_{ep}^{A} - \mu_{ep\,A}}$ en fonction de $[B]$	$\dfrac{pente}{ordonnée}$	$\dfrac{1}{pente}$
x-réciproque	$\dfrac{\mu_{ep}^{A} - \mu_{ep\,A}}{[B]}$ en fonction de $\mu_{ep}^{A} - \mu_{ep\,A}$	$-\ pente$	$-\dfrac{ordonnée}{pente}$

Ces différentes équations sont équivalentes dans leurs formes algébriques. Cependant, la précision expérimentale sur les variables indépendantes ou liées affecte la corrélation de façon différente. La précision de la corrélation sur la valeur $[B]$ sera affectée différemment quand elle est exprimée au numérateur ou au dénominateur. Certaines de ces droites donnant plus de poids statistique aux mesures réalisées aux faibles concentrations où la précision est la plus faible (x-réciproque et xy-réciproques), les différentes constantes ne seront pas identiques. Il est donc nécessaire d'adopter une valeur moyenne de la constante de complexation calculée à partir des différentes équations. L'erreur associée donne ainsi l'incertitude due au modèle utilisé.

Par ailleurs, ces fonctions linéaires permettent de déceler la présence d'équilibre d'ordres supérieurs, la forme linéaire x-réciproque étant la plus sensible pour mettre en évidence de tels cas. En effet, dans le cas d'un équilibre de stœchiométrie 2 : 1, Bowser *et al.* [35, 36] ont décrit trois modèles différents de complexation, qui peuvent être identifiés selon l'allure de la fonction linéaire x-réciproque :

- la complexation non coopérative, pour laquelle l'occupation d'un site n'influe pas sur les sites restant disponibles. Les sites sont indépendants (figure II.3 C).

- la complexation coopérative, pour laquelle l'occupation d'un site favorise l'occupation des sites restant disponibles. Les complexes d'ordres plus élevés sont alors stabilisés (figure II.3 D et E).
- la complexation anti-coopérative, pour laquelle l'occupation d'un site gêne l'occupation des sites restant disponibles. Les complexes d'ordres moins élevés sont stabilisés (figure II.3 A et B).

Figure II.3 : Représentations linéaires obtenues pour cinq systèmes simulés à deux sites de type coopératif (D, E), non coopératif (C) et anti-coopératif (A, B) [36].

x-réciproque (a), y-réciproque (b), xy-réciproques (c).

[B] et μ_{ep}^{A} sont exprimées en M et 10^{-5} $cm^2.s^{-1}.V^{-1}$ respectivement.

La représentation linéaire x-réciproque permet donc de déceler la présence de complexe d'ordre supérieur 1 : 2 ou 2 : 1 mais aussi la nature coopérative (K_{11}/K_{12} ou $K_{11}/K_{21} < 4$) ou anti coopérative (K_{11}/K_{12} ou $K_{11}/K_{21} > 4$) de la complexation. Toutefois, il existe un cas particulier où la représentation x-réciproque ne permet pas de déceler la présence de complexe d'ordre supérieur (K_{11}/K_{12} ou $K_{11}/K_{21} = 4$) avec des espèces présentant des mobilités identiques [37]. En pratique, ce cas est extrêmement rare. Cependant, si le rapport des constantes est proche de 4, l'écart de linéarité observé du à la présence de complexes successifs peut ne pas être identifié du fait des erreurs expérimentales.

Les représentations linéaires réciproques permettent de déterminer à la fois β et $\mu_{ep\ AB}$ alors que la méthode de l'isotherme implique la nécessité de déterminer la mobilité électrophorétique du complexe AB au préalable, par une mesure en présence d'un très large excès de composé B dans l'électrolyte. Les représentations linéaires réciproques sont alors

utilisées pour la détermination de la constante apparente de complexation et de la mobilité électrophorétique du complexe formé.

2.2.2.2.Constantes de complexation successives

Dans le cas de complexes multiples, l'isotherme de complexation ne peut être modélisée qu'en utilisant une régression non linéaire contrairement au cas d'un complexe de stœchiométrie 1 : 1. L'équation de l'isotherme de complexation dans le cas de complexes multiples est rappelée :

$$\mu_{ep}^{A} = \frac{\mu_{ep\ A} + \sum_{j=1}^{n}\left(\sum_{i=1}^{m}\beta_{ij}\ .\ [A]^{i}\ .\ [B]^{j}\ .\ \mu_{ep\ A_iB_j}\right)}{1 + \sum_{j=1}^{n}\left(\sum_{i=1}^{m} i\ .\ \beta_{ij}\ .\ [A]^{i}\ .\ [B]^{j}\right)} \qquad \text{(Eq. 18)}$$

L'équation de l'isotherme de complexation comporte 2 n inconnues c'est-à-dire β_{ij} et $\mu_{ep\ AiBj}$ pour j allant de 1 à n, n étant l'ordre du dernier complexe. Pour la détermination de ces différentes inconnues, la régression non linéaire nécessite l'acquisition d'au moins (2 n + 1) concentrations différentes en composé B dans l'électrolyte.

Il est à noter que les incertitudes associées aux mobilités électrophorétiques des différents complexes $\mu_{ep\ AiBj}$ sont bien plus importantes que celles associées aux β_{ij} puisque les mobilités sont fortement corrélées aux constantes de complexation et ne peuvent être déterminées de façon indépendante.

L'équation de l'isotherme de complexation dans le cas de complexes successifs AB et A_2B est la suivante :

$$\begin{aligned}\mu_{ep}^{A} &= \frac{\mu_{ep\ A} + \beta_{11}\ .\ [B]\ .\ \mu_{ep\ AB} + \beta_{21}\ .\ [B]^{2}\ .\ \mu_{ep\ A_2B}}{1 + \beta_{11}\ .\ [B] + \beta_{21}\ .\ [B]^{2}} \\ &= \frac{\mu_{ep\ A} + K_{11}\ .\ [B]\ .\ \mu_{ep\ AB} + K_{11}\ .\ K_{21}\ .\ [B]^{2}\ .\ \mu_{ep\ A_2B}}{1 + K_{11}\ .\ [B] + K_{11}\ .\ K_{21}\ .\ [B]^{2}}\end{aligned} \qquad \text{(Eq. 24)}$$

3. DEVELOPPEMENT D'UN SYSTEME PERMETTANT D'EVALUER RAPIDEMENT L'AFFINITE POUR UN METAL

3.1. Présentation des ligands

La figure II.4 présente les ligands synthétisés par le Service de Chimie Bioorganique et de Marquage du CEA Saclay (ligands 1 à 18) et le Laboratoire des Systèmes Chimiques Fonctionnels de Strasbourg (ligands 19 à 24).

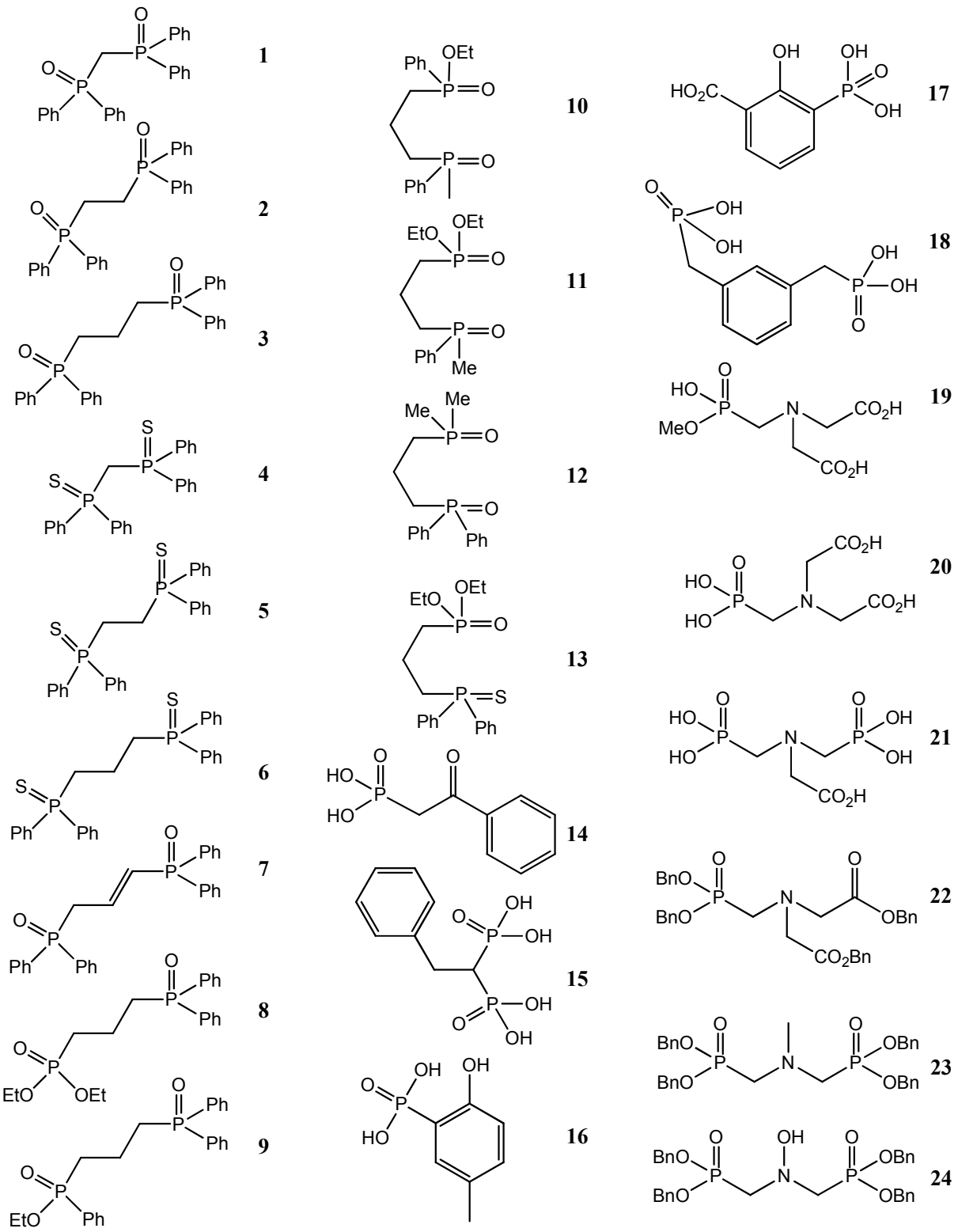


Figure II.4 : Différents ligands synthétisés.

Compte tenu du caractère hydrophile variable des différents ligands, ceux-ci ont été solubilisés dans un mélange méthanol (Carlo Erba)/eau dans des proportions variant entre 10/90 et 65/35 (v/v). Chaque solution de ligand ainsi obtenue a été utilisée comme échantillon

lors des analyses par CE-ICP/MS détaillées par la suite. La concentration de chaque solution est donnée dans le tableau II.2.

Tableau II.2 : Concentration de chaque solution de ligand.

Ligand	Concentration (µM)	Ligand	Concentration (µM)
1	192	13	197
2	288	14	83
3	185	15	59
4	-	16	106
5	-	17	115
6	-	18	45
7	-	19	207
8	-	20	190
9	-	21	235
10	184	22	-
11	198	23	-
12	147	24	-

(-) : L'absence de données indique que le ligand n'a pu être solubilisé quelle que soit la proportion méthanol/eau utilisée.

3.2. Appareillage utilisé

Les différentes études ont été effectuées à l'aide d'un appareil d'électrophorèse capillaire à détection UV P/ACE MDQ (Beckman Coulter) piloté par le logiciel 32 Karat Software. Des capillaires en verre de silice fondue de 75 µm de diamètre interne et d'une longueur de 75 cm (Composite Metal Services Ltd) ont été utilisés dans cette étude ; le capillaire étant recouvert d'une gaine de polyimide lui assurant la solidité et la souplesse nécessaires à sa manipulation. Avant la première utilisation, chaque capillaire a été rincé 3 minutes avec du méthanol, puis 5 minutes avec de l'eau ultra pure, et enfin 3 minutes avec une solution de soude 1 M.

Pour les ligands possédant des atomes de phosphore, une double détection par UV (longueur d'onde) et par ICP/MS à m/z = 31 (signal du ^{31}P) a été envisagée. La détection par ICP/MS

est assurée par un spectromètre de masse couplé à un plasma inductif (Agilent 7500 ce) piloté par le logiciel Mass Hunter, dont les paramètres de fonctionnement sont récapitulés dans le tableau II.3.

Tableau II.3 : Conditions optimales de fonctionnement pour l'ICP/MS.

ICP/MS	
Puissance du plasma	1550 W
Débit du gaz plasmagène	15,0 $L.min^{-1}$
Débit du gaz auxiliaire	0,9 $L.min^{-1}$
Débit du gaz de nébulisation	1,0 $L.min^{-1}$
Débit du gaz de make up	0,3 $L.min^{-1}$
Température chambre de nébulisation	2 °C
Temps d'intégration	3,0 s pour ^{31}P 0,3 s pour ^{115}In

3.3. Mise au point de l'interfaçage CE-ICP/MS

Le point-clé du couplage de l'électrophorèse capillaire et de la spectrométrie de masse à ionisation par plasma est l'interface. L'interface nécessite l'apport d'un liquide de compensation ou solution conductrice. Ce dernier permet d'assurer le maintien du courant dans le capillaire. Il permet également de compenser le faible débit à la sortie du capillaire, ce débit étant de l'ordre du microlitre par minute. Ainsi le débit devient alors compatible avec le débit d'un nébuliseur Micromist de 100 $\mu L.min^{-1}$ (Analab). L'effet de succion du nébuliseur est alors compensé. Il faut cependant noter que l'apport de ce liquide de compensation entraîne une dilution importante de l'échantillon.

Le liquide de compensation quelle que soit sa composition contient 2 $\mu g.L^{-1}$ d'In^{3+} pour contrôler la stabilité du couplage par suivi du signal à m/z = 115.

L'interface utilisée au cours de ce travail est représenté sur la figure II.5.

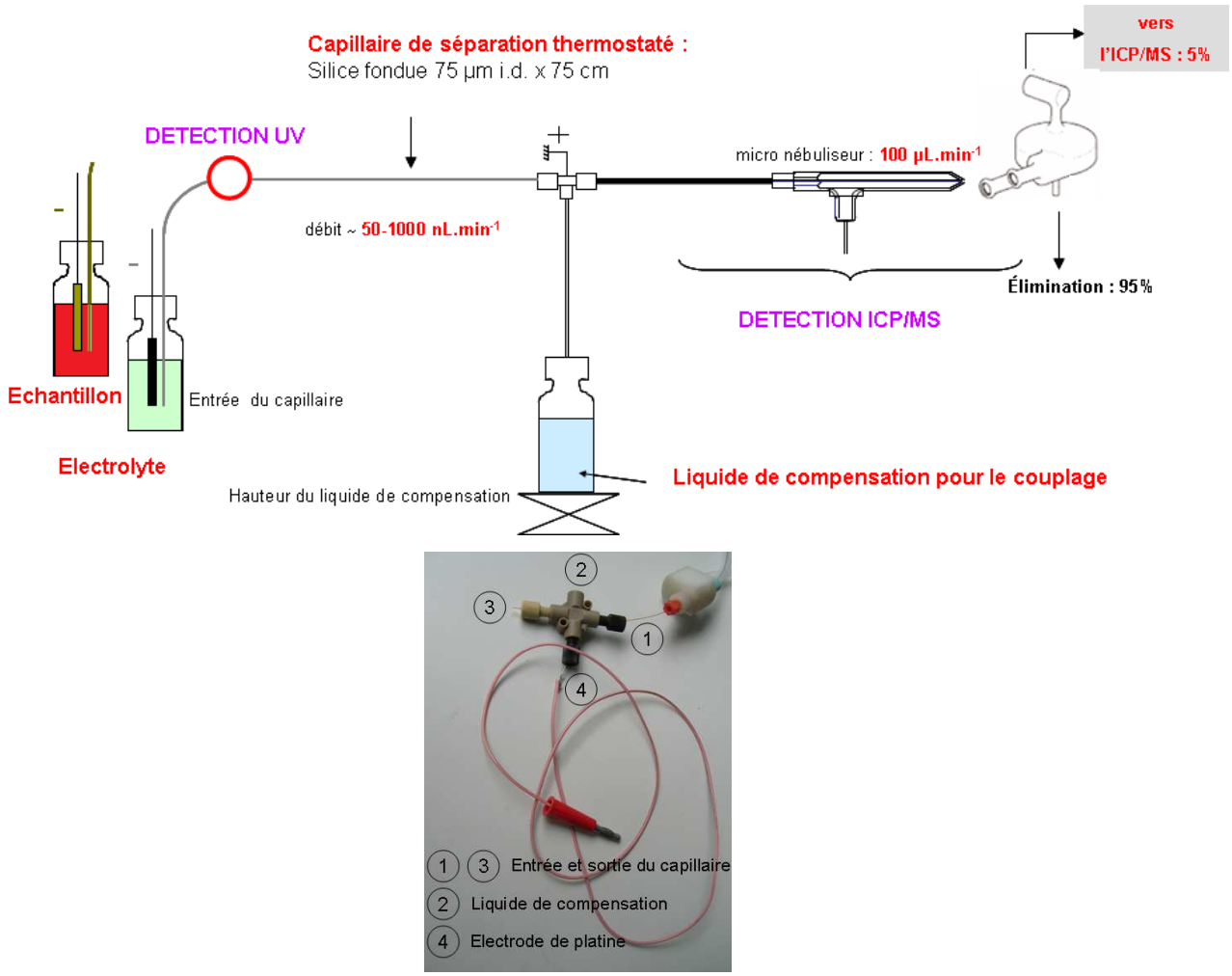


Figure II.5 : Interface utilisée.

L'interface se présente sous la forme d'une croix. Deux voies sont destinées à l'entrée et à la sortie du capillaire. Le liquide de compensation est acheminé par une des deux voies perpendiculaires au capillaire, l'autre voie servant à l'introduction d'une électrode de platine. Il se forme autour du capillaire une gaine de liquide de compensation concentrique à laquelle est appliquée la différence de potentiel lors de la séparation.

Le liquide de compensation est introduit par auto-aspiration du nébuliseur.

La position du liquide de compensation est exprimée par rapport à la hauteur de l'entrée du capillaire (Δh). Arbitrairement, la hauteur de l'entrée du capillaire vaut zéro.

La hauteur du liquide de compensation a été déterminée grâce à la méthode mise au point par J. Chamoun *et al.*, c'est-à-dire en minimisant l'aspiration de l'électrolyte dans le capillaire due au nébuliseur et en éliminant le refoulement dans le capillaire [38]. Deux méthodes différentes ont été utilisées pour éliminer l'aspiration et le refoulement.

La première méthode permet de détecter l'aspiration du contenu du capillaire en repérant le signal d'un élément. Elle consiste à remplir le capillaire avec une solution aqueuse de chlorure de cobalt (Sigma) 4,6 $mg.L^{-1}$. Le débit du liquide de compensation étant égal à zéro, un signal de cobalt est observé à cause de l'aspiration présente. Au fur et à mesure de l'augmentation du débit du liquide de compensation, ce signal diminue jusqu'à atteindre la valeur initiale du bruit de fond, ce dernier étant mesuré au préalable en absence de cobalt. La hauteur du liquide de compensation par rapport à celle de l'entrée du capillaire est ajustée de façon à compenser l'aspiration et ainsi minimiser le signal du cobalt ^{59}Co aspiré jusqu'à atteindre la valeur du bruit de fond.

Un liquide de compensation composé d'acide formique 5 mM, pH 3,8 et 2 $\mu g.L^{-1}$ d'In^{3+} a été utilisé pour la détermination de la hauteur. Il a été préparé par dilution de la solution d'acide formique 100 mM pH 3,8 dans de l'eau ultra pure et par dilution de la solution d'In^{3+} 10 $mg.L^{-1}$; la concentration finale en acide formique étant de 5 mM et la concentration d'In^{3+} étant de 2 $\mu g.L^{-1}$. La solution d'acide formique 100 mM, quant à elle, a été préparée par dilution d'acide formique Normapur, 99-100 % (Prolabo) dans de l'eau ultra pure. Le pH de cette solution a été ajusté à un pH de 3,8 avec une solution de soude 1 M, préparée à partir d'hydroxyde de sodium en pastilles (Carlo Erba) dans de l'eau ultra pure. La solution d'In^{3+} 10 $mg.L^{-1}$ a été préparée à partir d'un standard certifié In 1000 $mg.L^{-1}$ (CPI International) dans de l'acide nitrique 2 % en volume préparé à partir d'acide nitrique supra pur, 65 % (Merck) et d'eau ultra pure.

La figure II.6 (a) représente l'intensité du signal du ^{59}Co obtenue en fonction de Δ h.

La deuxième méthode permet de détecter le refoulement en repérant le courant. Elle nécessite l'utilisation d'un liquide de compensation et d'un électrolyte de séparation de conductivités différentes. Une différence de potentiel de 15 kV est alors appliquée entre les deux extrémités du capillaire et le courant mesuré en position la plus basse. Le liquide de compensation est ensuite surélevé par incréments et le courant est mesuré après 2 min pour chaque hauteur.

Un électrolyte composé d'acide formique 25 mM, pH 3,8, de chlorure de sodium 30 mM préparé dans un mélange méthanol/eau 10/90 (v/v) a été utilisé ainsi qu'un liquide de compensation composé d'acide formique 5 mM, pH 3,8 et 2 $\mu g.L^{-1}$ d'In^{3+}. L'électrolyte utilisé a été préparé dans un mélange méthanol (Carlo Erba) /eau ultra pure 10/90 (v/v) ; l'ajout de méthanol permettant d'éviter la précipitation des ligands dans le capillaire de séparation. Cet électrolyte a été préparé par dilution des solutions d'acide formique 100 mM pH 3,8, de chlorure de sodium 300 mM de telle sorte que la concentration en acide formique soit de 25

mM et la concentration en chlorure de sodium soit de 30 mM. La solution de chlorure de sodium 300 mM a été préparée à partir de chlorure de sodium, 99 - 100,5 % (Carlo Erba) dans de l'eau ultra pure.

La figure II.6 (b) représente l'intensité du courant obtenue en fonction de Δ h, qui est la différence de la hauteur de l'entrée du capillaire et de la hauteur du liquide de compensation.

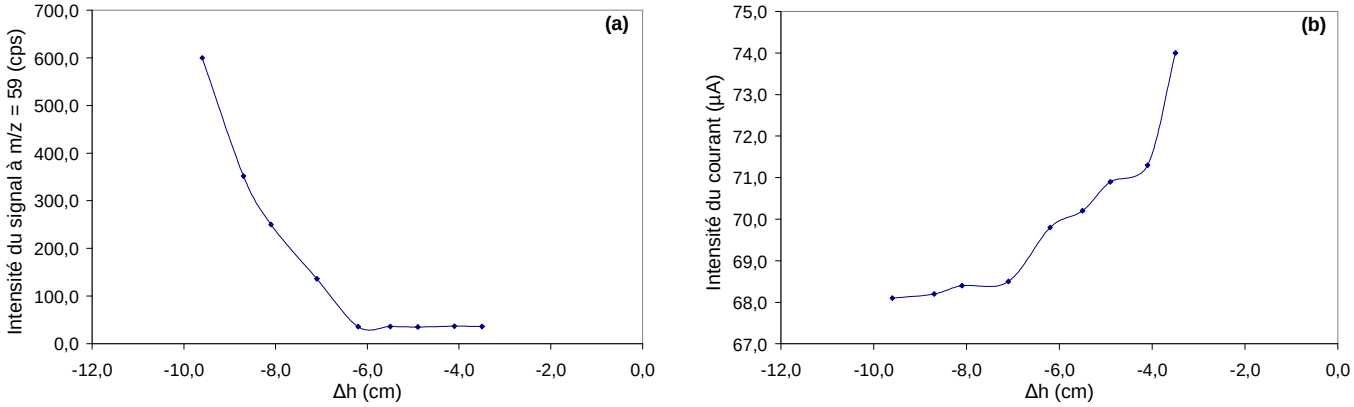


Figure II.6 : Intensité du signal d'une solution de $CoCl_2$ 4,6 mg.L^{-1} à m/z = 59 (signal du ^{59}Co) en fonction de Δh (a), Intensité du courant électrique d'un électrolyte acide formique 25 mM, pH 3,8, NaCl 30 mM en solution dans un mélange méthanol/eau 10/90 (v/v) en fonction de Δh (b).

Le signal dû à l'aspiration du ^{59}Co est éliminé pour une Δ hauteur de - 7,1 cm. De plus, le courant augmente à partir de cette valeur de Δh, ce qui indique une diminution de la résistivité du capillaire provenant du refoulement du liquide de compensation dans le capillaire. En conclusion, une valeur de Δh de - 7,1 cm est conservée pour l'ensemble de l'étude.

3.4. Mise au point des conditions d'analyse

Les ligands de la bibliothèque nous ont été fournis à raison de quelques milligrammes. L'électrophorèse capillaire d'affinité semble bien adaptée aux criblages de bibliothèque de ligands. Toutefois, la plupart des études menées en électrophorèse capillaire d'affinité couplée à l'ICP/MS consistent à injecter le métal dans un électrolyte contenant des concentrations croissantes en ligands. Cette méthode possède deux inconvénients. D'une part la présence du ligand dans l'électrolyte requiert des quantités de ligands bien supérieures à celles nécessaires si celui-ci est présent dans l'échantillon. D'autre part, si le ligand est présent dans l'électrolyte, la détermination des constantes de complexation pour chaque ligand conduira à

la préparation et surtout au conditionnement des capillaires avec autant de gammes d'électrolytes que de ligands à étudier. Dans le cas contraire, une seule gamme d'électrolytes présentant des concentrations croissantes en métal serait nécessaire pour étudier l'ensemble des ligands. Dans cette étude, nous avons donc choisi l'option originale où le ligand injecté et analysé dans un électrolyte contenant des concentrations croissantes en métal. Ce choix est rendu possible de par la nature des ligands étudiés (ligands phosphorés) et la bonne sensibilité de détection de l'ICP/MS dans le cas du phosphore. Ceci constitue une économie de ligand et un gain de temps considérable.

3.4.1. Modification de la surface interne du capillaire

L'utilisation d'un capillaire dont la surface interne est modifiée a été envisagée afin d'éviter l'adsorption de l'europium sur un capillaire de silice vierge.
L'adsorption de l'europium a été étudiée d'une part sur un capillaire vierge et d'autre part sur un capillaire dont la surface interne est modifiée par « coating » dynamique de polybrène.

Le polybrène (figure II.7) a été choisi pour la stabilité du revêtement engendré due à l'adsorption de ce dernier via plusieurs points d'interactions. Ainsi, il peut être utilisé en pré-« coating », ce qui permet d'envisager le couplage de l'électrophorèse capillaire avec la spectrométrie de masse, peu tolérante à l'introduction de tels composés.

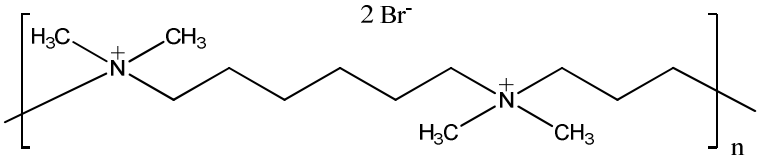


Figure II.7 : Formule du polybrène.

3.4.1.1.Procédure expérimentale

Le polybrène (Aldrich, 95 %) est sous forme bromure. Il a donc été nécessaire d'échanger les ions bromures par des chlorures, afin de ne pas endommager les électrodes suite à l'oxydation des bromures. Les ions bromures ont été échangés par des ions chlorures par l'intermédiaire d'une résine échangeuse d'anions AG MP-1, sous forme d'ions chlorures, capacité totale : 1,0 meq.mL^{-1} de lit de résine (Bio-Rad).

Une solution de polybrène à 0,5 % en masse a été préparée dans de l'eau ultra pure (système purificateur Millipore). Un fort excès de résine échangeuse d'anion a été ajouté à la solution. L'échange d'ions a été réalisé sous agitation magnétique pendant 4 heures. La solution a ensuite été filtrée sur des filtres de 0,45 µm à usage unique (Millipore).

La surface interne du capillaire a été modifiée par revêtement dynamique, c'est-à-dire par passage de la solution de polybrène sous forme chlorure à 0,1 % en masse dans le tampon formiate 25 mM pendant 25 minutes. Le capillaire a finalement été rincé avec le tampon formiate 25 mM, pendant 3 minutes, pour éliminer l'excès de polybrène dans le capillaire.

Des solutions de chlorure d'europium, $EuCl_3.6H_2O$, (Aldrich, 99,99 %), de concentration 0,1, 1, 5 et 10 mM ont été préparées dans un tampon formiate 25 mM.
Chaque solution a été poussée dans un capillaire, en appliquant une pression de 5 psi. Le front de sortie a été détecté par suivi du signal à m/z = 153 (signal de ^{153}Eu) par ICP/MS.

3.4.1.2.Evaluation du greffage

Deux critères essentiels ont été retenus pour évaluer la nécessité d'un greffage cationique de la surface du capillaire : (i) la prévention d'une adsorption éventuelle d'Eu^{3+} par interaction avec les silanols de surface, (ii) le temps d'analyse, conditionné par le flux électroosmotique.

Pour répondre à la question de l'adsorption, les courbes de percée d'une solution d'europium 1 mM dans un capillaire vierge et dans un capillaire dont la surface interne a été modifiée par « coating » dynamique de polybrène ont été réalisées et sont présentées dans la figure II.8 après normalisation des intensités par l'intensité du plateau suivant le front de sortie de l'europium.

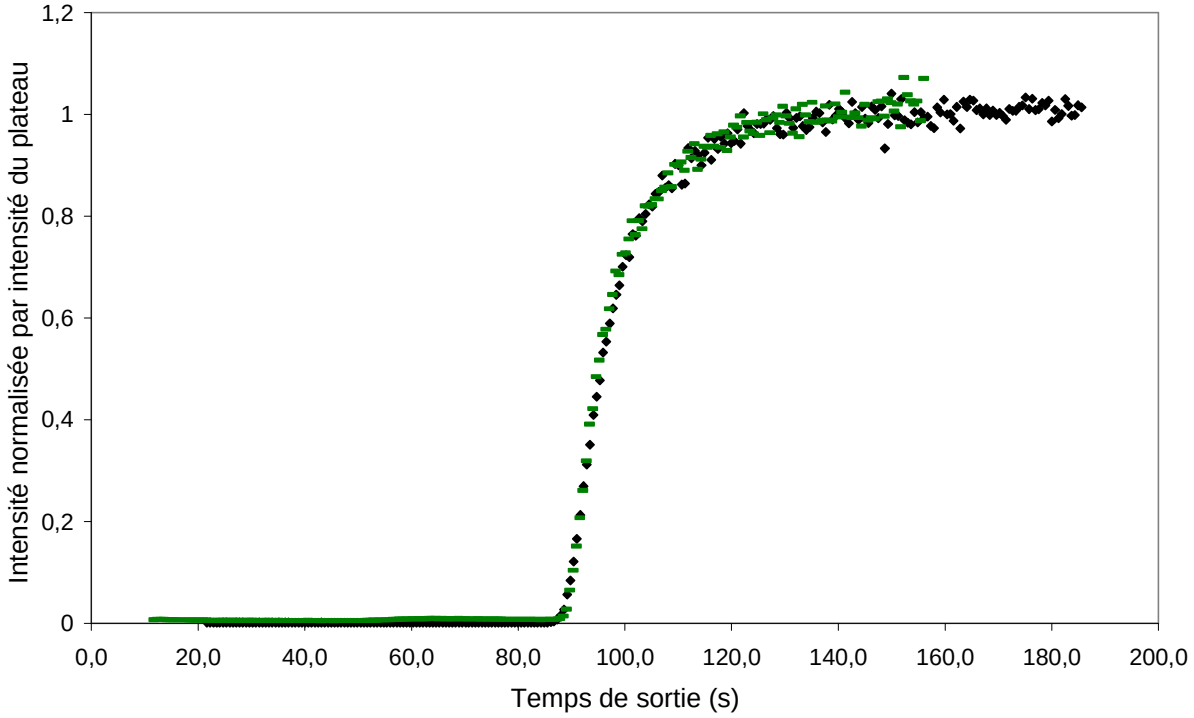


Figure II.8 : Courbes de percée obtenues par passage d'une solution de chlorure d'europium 1 mM : influence de la nature du capillaire.

Capillaire greffé (◆), capillaire vierge (—), 75 cm x 75 µm d.i.

Pression d'élution : 5 psi, Détection : ICP/MS à m/z = 153.

La comparaison de ces courbes semble indiquer qu'il n'y a pas d'adsorption significative de l'europium à la surface du capillaire, et ce, quelle que soit sa nature.

Parallèlement à cette étude, une évaluation des temps d'analyse a été réalisée. Pour ce faire, un électrolyte composé d'acide formique 25 mM, pH 3,8 et de chlorure de sodium 30 mM en solution dans un mélange méthanol/eau 10/90 (v/v) a été préparé.

L'injection d'eau ultra pure a permis de déterminer le temps de migration des espèces neutres. Le flux électroosmotique a été déterminé à partir d'injections d'eau ultra-pure, réalisées dans ces deux types de capillaires. Celui-ci est dirigé vers la cathode lorsque la paroi interne du capillaire est chargée négativement et dirigé vers l'anode lorsque la paroi interne du capillaire est chargée positivement. Ainsi, dans le cas d'un capillaire chargé négativement, l'injection est réalisée à l'anode et l'ordre de migration est donc espèces positives, espèces neutres et espèces négatives. Dans le cas d'un capillaire dont la surface est chargée positivement, l'injection est réalisée à la cathode et cet ordre est inversé.

En d'autres termes, on peut supposer que la complexation par l'europium va engendrer une diminution du temps d'analyse sur un capillaire de silice et une augmentation de celui-ci sur un capillaire modifié par le polybrène.
Dans les conditions d'analyse, il s'avère que le flux électroosmotique pour un capillaire vierge est de $1{,}07.10^{-8}$ $m^2.s^{-1}.V^{-1}$. En revanche, ce flux est de $3{,}35.10^{-8}$ $m^2.s^{-1}.V^{-1}$ pour le même électrolyte et un capillaire greffé au polybrène. Le flux électroosmotique obtenu pour le capillaire greffé au polybrène est trois fois plus important que pour le capillaire vierge.

Il est donc possible de mener les études avec un capillaire vierge du fait de l'absence d'adsorption significative de l'europium à la surface du capillaire. Cependant, compte tenu du gain de temps considérable réalisé par l'utilisation de capillaire dont la surface a été modifiée par du polybrène, ce type de capillaire sera utilisé pour l'ensemble de l'étude.

3.4.2. Détermination de la concentration maximale en europium

Nous avons choisi de maintenir la concentration en chlorures constant. Nous avons alors déterminé la concentration maximale en chlorure de sodium dans l'électrolyte, et par conséquent, la concentration maximale en chlorure d'europium $EuCl_3.6H_2O$.

Des courbes de percée de solutions de chlorure d'europium 1 mM en présence de différentes concentrations de chlorure de sodium 10, 30 et 50 mM ont été réalisées dans un capillaire greffé au polybrène pour étudier l'influence de la concentration en sel.
Pour ce faire, des solutions de chlorure d'europium 1 mM contenant différentes concentrations de chlorure de sodium 10, 30 et 50 mM ont été préparées dans le même tampon. Chaque solution a été poussée dans un capillaire greffé au polybrène, en appliquant une pression de 5 psi. Le front de sortie a été détecté par suivi du signal à m/z = 153 (signal de ^{153}Eu) par ICP/MS.
Les courbes de percée sont présentées dans la figure II.9 après normalisation des intensités par l'intensité du plateau suivant le front de sortie de l'europium.

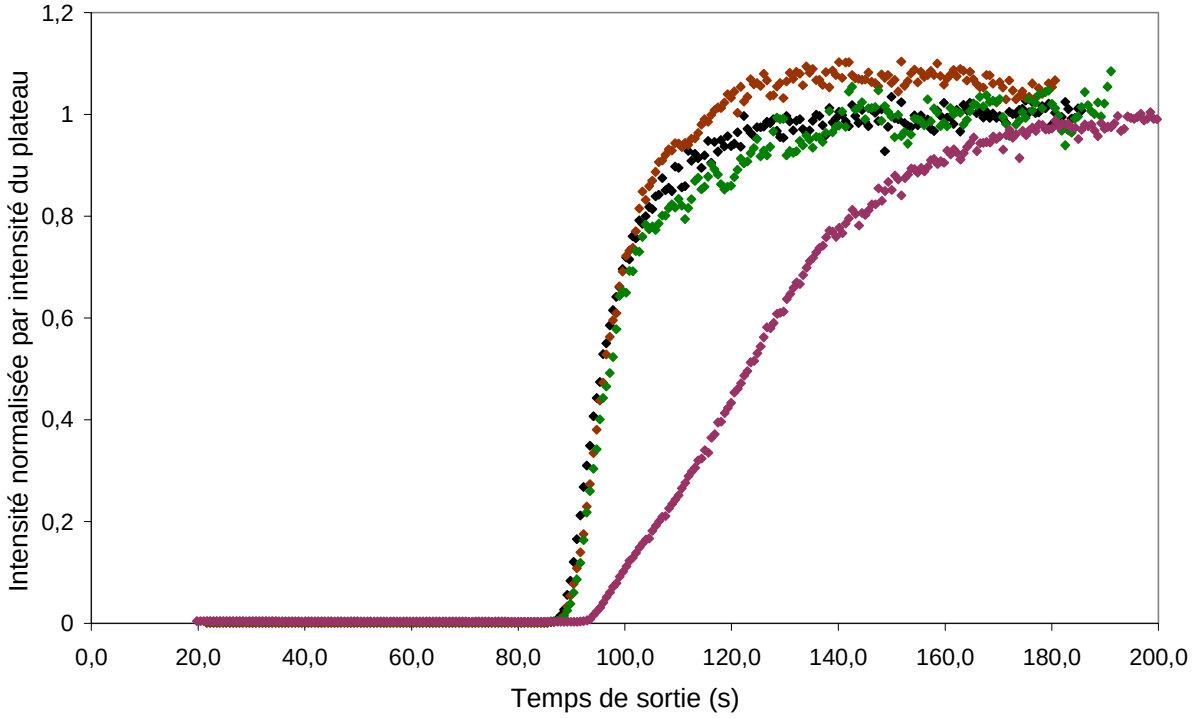


Figure II.9 : Courbes de percée obtenues par passage d'une solution de chlorure d'europium 1 mM dans un capillaire greffé au polybrène : influence de la concentration en sel.

En absence de NaCl (◆), NaCl 10 mM (◆), NaCl 30 mM (◆), NaCl 50 mM (◆).

Capillaire : 75 cm x 75 µm d.i.

Pression d'élution : 5 psi, Détection : ICP/MS à m/z = 153.

En comparant les courbes, les expériences réalisées à forte concentration en chlorure de sodium (50 mM) montrent un temps de sortie du front et une pente différents de ceux obtenus à plus basses concentrations. Aucune explication ne peut être avancée à ce stade.

En tenant compte de ces résultats, la concentration maximale en chlorure de sodium dans l'électrolyte ne devra donc pas excéder 30 mM.

Afin de déterminer si un excès de chlorure de sodium ne conduira pas à un échauffement trop important dans le capillaire par effet Joule, plusieurs électrolytes contenant différentes concentrations en chlorure de sodium (comprises entre 0 et 300 mM) ont été préparés. L'électrolyte utilisé était donc composé d'acide formique 25 mM, pH 3,8 et de chlorure de sodium préparé dans un mélange méthanol/eau 10/90 (v/v) ; la surface interne du capillaire ayant été modifiée par greffage dynamique de polybrène.

Pour chaque concentration en chlorure de sodium, de l'eau ultra pure a été injectée trois fois.

La mobilité électroosmotique et le courant généré par les différents électrolytes sont présentés dans le tableau II.4.

Tableau II.4 : Mobilité électroosmotique et courant pour différentes concentrations en chlorure de sodium.

Conditions de séparation : - Capillaire de silice fondue 75 cm x 75 µm d.i. - T = 25 °C - Injection : 0,5 psi, 5 sec (21 nL) - Détection UV à 200 nm - Electrolyte : acide formique 25 mM, pH 3,8 en solution dans un mélange méthanol/eau 10/90 (v/v) contenant des concentrations variables en NaCl - Solution de greffage : composition identique à l'électrolyte, polybrène sous forme chlorure 0,1 % en masse en solution dans un mélange méthanol/eau 10/90 (v/v)

[NaCl] (mM)	Voltage (kV)	Mobilité électroosmotique ($m^2.s^{-1}.V^{-1}$)	Remarque concernant la stabilité du courant
30	- 21	$(2,30 \pm 0,02).10^{-8}$	Stable 56 µA
60	- 21	$(2,37 \pm 0,06).10^{-8}$	Montée 52 → 55 µA
100	- 11	$(1,78 \pm 0,10).10^{-8}$	Montée 62 → 75 µA
300	- 7	$(1,96 \pm 0,60).10^{-8}$	Montée 100 → 150 µA

A partir de 100 mM de chlorure de sodium, les temps de migration de l'eau ultra pure ne sont plus reproductibles. Les courants associés à chaque injection d'eau ultra pure ne sont plus stables ; la chaleur produite par effet Joule n'étant plus dissipée durablement à partir de 100 mM de chlorure de sodium.

En tenant compte de ces résultats et des résultats issus des courbes de percée, la concentration maximale en chlorure de sodium possible dans l'électrolyte est de 30 mM, impliquant une gamme de concentration en $EuCl_3.6H_2O$ comprise entre 0 et 10 mM.

3.4.3. Récapitulatif des conditions expérimentales

Les conditions retenues pour la détermination des constantes apparentes de complexation par couplage CE-ICP/MS sont récapitulées dans le tableau II.5.

Tableau II.5 : Conditions optimales pour la détermination de constantes apparentes de complexation par électrophorèse capillaire.

Echantillons	Ligands solubilisés dans un mélange méthanol/eau [ligand] ≤ 300 µM ou eau ultra pure (marqueur de flux électroosmotique)
Injection	Voie hydrodynamique 0,5 psi, 5 sec (21 nL)
Capillaire	Capillaire de silice fondue 75 cm x 75 µm d.i. (d.e. 375 µm) Surface interne modifiée par « coating » dynamique de chlorure de polybrène (0,1 % en masse)
Electrolyte	Acide formique 25 mM pH 3,8 en solution dans un mélange méthanol/eau 10/90 (v/v) contenant $EuCl_3.6H_2O$ (variant entre 0 et 10 mM) et NaCl (concentration nécessaire pour maintenir la concentration en chlorures constante $[Cl^-]$ = 30 mM)
Voltage	V = - (20 ± 1) kV
Température	25 °C
Liquide de compensation	Acide formique 5 mM pH 3,8 2 $\mu g.L^{-1}$ d'In^{3+}
Détection	UV à 200 nm et/ou ICP/MS à m/z = 31 (et m/z = 115)

3.4.4. Performances de la méthode

3.4.4.1.Reproductibilité des analyses

La reproductibilité de la méthode a été évaluée à partir du calcul de la mobilité électroosmotique moyenne et de son écart-type associé, déterminés à partir de 3 injections d'eau ultra pure pour chaque électrolyte. En revanche, l'injection des ligands n'a pas été répétée trois fois de façon systématique dans chaque électrolyte, et ce quel que soit le ligand.
Pour évaluer l'erreur liée à la mobilité apparente, le ligand 14 a été injecté 3 fois dans les électrolytes contenant 0, 2,5 et 9 mM d'europium. Pour chacun de ces électrolytes, la mobilité électroosmotique et la mobilité apparente du ligand ainsi que les écarts-types associés à chacune d'entre elles ont été calculés. Les résultats obtenus sont présentés dans le tableau II.6.

Tableau II.6 : Mobilités électroosmotiques et mobilités apparentes du ligand 14 dans différents électrolytes composés d'acide formique 25 mM, pH 3.8, en solution dans un mélange méthanol/eau 10/90 (v/v) ; $[Cl^-]_{tot}$ = 30 mM et contenant $EuCl_3.6H_2O$.

$[Eu^{3+}]$ (mM) dans l'électrolyte	Mobilité électroosmotique μ_{eo} ($m^2.s^{-1}.V^{-1}$)	Mobilité apparente μ_{app} ($m^2.s^{-1}.V^{-1}$)
0	$(2,90 \pm 0,05).10^{-8}$ *CV = 1,7 %*	$(4,63 \pm 0,06).10^{-8}$ *CV = 1,7 %*
2,5	$(3,00 \pm 0,02).10^{-8}$ *CV = 0,7 %*	$(3,76 \pm 0,02).10^{-8}$ *CV = 0,5 %*
9	$(4,09 \pm 0,06).10^{-8}$ *CV = 1,5 %*	$(3,50 \pm 0,03).10^{-8}$ *CV = 0,5 %*

Les coefficients de variation restant inférieurs à 2 %, ceci démontre la reproductibilité des temps de migration. Par conséquent, l'erreur expérimentale sur la mobilité apparente attribuée à chaque ligand, et quel que soit l'électrolyte étudié se traduira par un écart-type relatif de 2 % associé à chaque valeur de mobilité apparente.

L'erreur expérimentale liée à la mobilité électrophorétique sera calculée à partir de l'équation suivante:

$$s_{\mu_{ep}} = \sqrt{s^2_{\mu_{app}} + s^2_{\mu_{eo}}} \qquad \text{(Eq. 25)}$$

Avec $s_{\mu_{ep}}$: Ecart-type associé à la mobilité électrophorétique

$s^2_{\mu_{app}}$: Variance associée à la mobilité apparente

$s^2_{\mu_{eo}}$: Variance associée à la mobilité électroosmotique

3.4.4.2.Limites de détection

Il n'est pas possible de définir une limite de détection absolue en électrophorèse capillaire d'affinité car celle-ci est fonction de plusieurs paramètres. Outre le nombre d'atomes de phosphore, qui sera bien entendu identique pour un ligand donné, la limite de détection va être affectée par tous les phénomènes contribuant à l'élargissement de pic : diffusion (fonction du temps de migration), adsorption éventuelle sur les parois du capillaire, cinétiques de complexation, ...

La limite de détection est estimée à partir de la hauteur du pic correspondant au ligand et du bruit de fond des électrophérogrammes obtenus pour chaque injection de ce ligand dans les différents électrolytes.

Dans la pratique, la limite de détection est estimée à partir de la relation :

$$LD = \frac{(3.\sigma_{signal\ du\ blanc}).[ligand]}{H_{pic\ du\ ligand} - H_{m_{signal\ du\ blanc}}} \qquad \text{(Eq. 26)}$$

Avec $\sigma_{signal\ du\ blanc}$: Ecart-type associé à la hauteur moyenne de la ligne de base

$[ligand]$: Concentration du ligand

$H_{pic\ du\ ligand}$: Hauteur du pic du ligand

$H_{m_{signal\ du\ blanc}}$: Hauteur moyenne de la ligne de base

Les limites de détection obtenues par ICP/MS pour l'ensemble des ligands et des électrolytes sont inférieures à 40 µM, dépendant des différents phénomènes évoqués à l'origine de l'élargissement des pics. Ceci correspond à des quantités de ligand inférieures à la picomole (0,84 pmol). Le couplage CE-ICP/MS est donc adapté en termes de sensibilité au criblage de bibliothèque de ligands disponibles en faible quantité.

4. ETUDE DE LA COMPLEXATION DE L'EUROPIUM PAR LES LIGANDS PHOSPHORES

4.1. Procédure expérimentale

Les électrolytes utilisés sont constitués de 25 mM d'acide formique (Prolabo) pH 3,7, de $EuCl_3.6H_2O$ (Aldrich) de concentration allant de 0 à 10 mM et de NaCl (Carlo Erba) permettant de maintenir la concentration en chlorures constante et égale à 30 mM en solution dans un mélange méthanol (Carlo Erba) /eau ultra pure 10/90 en volume.

Toutes les solutions utilisées pour les lavages sont filtrées avant utilisation (filtres de 0,45 µm à usage unique, Millipore).

Avant la première utilisation, chaque capillaire est rincé 3 minutes avec du méthanol, puis 5 minutes avec de l'eau ultra pure, et enfin 3 minutes avec une solution de soude 1 M.

Le capillaire est quotidiennement conditionné par un rinçage avec de l'eau ultra pure pendant 5 minutes. La surface interne du capillaire est modifiée par passage d'une solution composée de l'électrolyte et de l'inverseur de flux pendant 25 minutes. Le capillaire est finalement rincé avec l'électrolyte seul, pendant 3 minutes, pour éliminer l'excédent de polybrène dans le capillaire.
Entre chaque séparation, le revêtement formé par le polybrène à la surface interne du capillaire est régénéré par un rinçage avec la solution composée de l'électrolyte et de l'inverseur de flux pendant 10 minutes, puis par un rinçage avec l'électrolyte seul pendant 3 minutes. Chaque rinçage est effectué en appliquant une pression de 20 psi.

Les ligands ont été injectés et analysés en CE-ICP/MS selon les conditions décrites dans le tableau II.5. De par la double détection, il est possible de mesurer le temps de migration du ligand par suivi du signal à m/z = 31 (signal du ^{31}P) par ICP/MS et le temps de migration des espèces neutres par détection UV à 200 nm. Le temps de migration moyen de l'eau ultra pure a été déterminé à partir de trois injections d'eau ultra pure pour chaque électrolyte. Quant au temps de migration du ligand, il n'a été déterminé qu'à partir d'une seule injection de la solution mère de ligand pour chaque électrolyte.
Expérimentalement, la mobilité électrophorétique du ligand est déterminée grâce à l'équation (15) vue au paragraphe 2.1.3.

4.2. Criblage rapide des ligands : mise en évidence d'une éventuelle complexation

Pour mettre en évidence une éventuelle complexation, un criblage rapide des ligands a été réalisé. Il s'agissait d'évaluer l'affinité des différents ligands afin d'en dégager les plus efficaces. Chaque ligand, sous condition de solubilité dans un mélange hydro-alcoolique, a été injecté, dans un premier temps, dans l'électrolyte ne contenant pas d'europium (ligands 1 à 3 et 10 à 21), puis dans un second temps, dans l'électrolyte contenant 10 mM d'europium. Il a alors été possible de déterminer d'une part la mobilité électrophorétique du ligand libre, et d'autre part, la mobilité électrophorétique effective du ligand en présence d'europium. A titre d'exemple, les électrophorégrammes obtenus pour l'injection du ligand 14 dans l'électrolyte ne contenant pas d'europium et l'injection de ce même ligand dans l'électrolyte contenant 10 mM d'europium sont présentés dans la figure II.10.

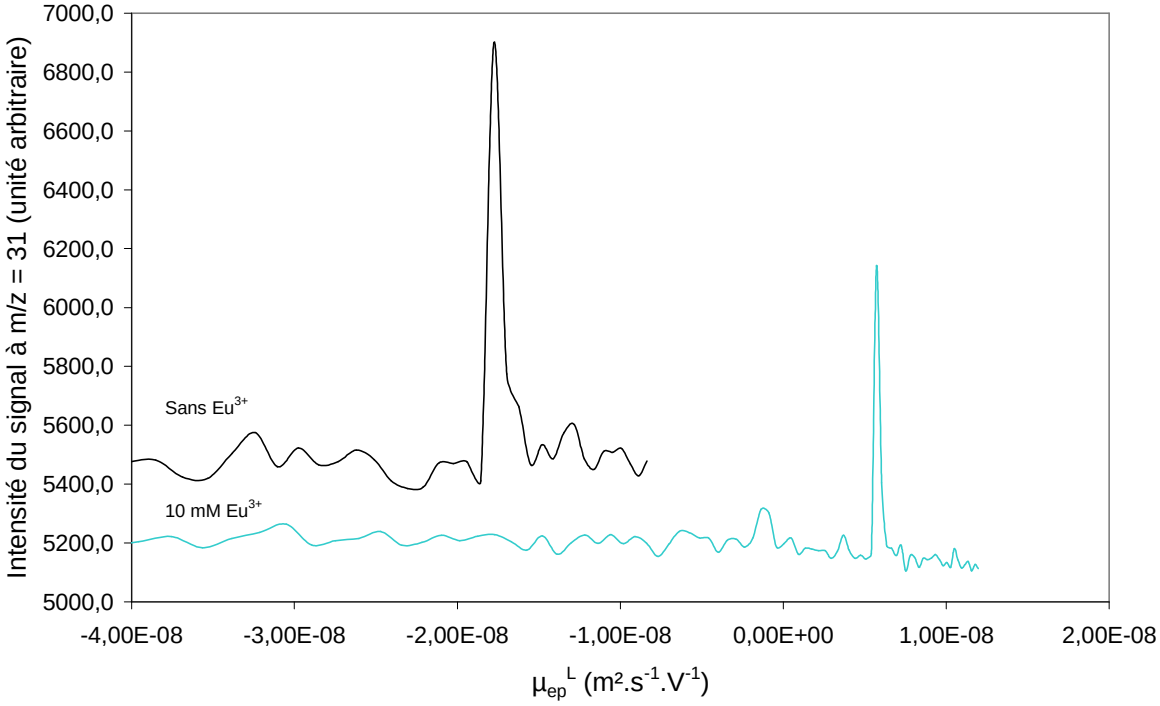


Figure II.10 : Electrophérogrammes obtenus par injection du ligand 14 dans un électrolyte ne contenant pas d'Eu^{3+} et dans un électrolyte contenant 10 mM d'Eu^{3+}.

Conditions de séparation : - Capillaire de silice fondue 75 cm x 75 µm d.i. - T = 25 °C - [ligand 14] = 83 µM - Injection : 0,5 psi, 5 sec (21 nL) - Détection : ICP/MS à m/z = 31 - Electrolyte : 25 mM d'acide formique, pH 3,8, dans un mélange de chlorure de sodium et de chlorure d'europium tel que la concentration en chlorures soit égale à 30 mM en solution dans un mélange méthanol/eau 10/90 (v/v) - Solution de greffage : électrolyte contenant du polybrène sous forme chlorure 0,1 % en masse.

La mobilité électrophorétique effective de ces 15 ligands dans les deux électrolytes est présentée dans la figure II.11.

Figure II.11 : Mobilité électrophorétique effective des 15 ligands en fonction de la concentration en europium dans l'électrolyte.

En absence d'europium (□), en présence de 10 mM d'europium (■)

Conditions de séparation : - Capillaire de silice fondue 75 cm x 75 µm d.i. - T = 25 °C - [ligand] ≤ 300 µM - Injection : 0,5 psi, 5 sec (21 nL) - Détection : ICP/MS à m/z = 31 - Electrolyte : 25 mM d'acide formique, pH 3,8, dans un mélange de chlorure de sodium et de chlorure d'europium tel que la concentration en chlorures soit égale à 30 mM en solution dans un mélange méthanol/eau 10/90 (v/v) - Solution de greffage : électrolyte contenant du polybrène sous forme chlorure 0,1 % en masse.

Comme nous l'avons vu dans le paragraphe 2.2, la mobilité électrophorétique effective peut être reliée à l'affinité pour le métal (Eq. 18). Dans les conditions expérimentales, les ligands neutres, à savoir les oxydes de phosphine et les esters de phosphonate (ligands 1 à 3 et 10 à 13), ne présentent pas de variations significatives de la mobilité électrophorétique effective en fonction de la concentration en europium de l'électrolyte. Les variations de la mobilité électrophorétique effective observées sont de l'ordre de 7.10^{-10} $m^2.s^{-1}.V^{-1}$, ce qui est de l'ordre de l'erreur expérimentale. Les oxydes de phosphines et les esters de phosphonate semblent ne pas posséder d'affinité significative pour l'europium du fait vraisemblablement de l'énergie d'hydratation élevée de l'europium Eu^{3+} (- 3535 $kJ.mol^{-1}$ [39]) et du faible caractère donneur des groupements P=O et P=S.

En revanche, les ligands de type acide carboxylique et/ou acide phosphonique (ligands 14 à 21) présentent des variations significatives de la mobilité électrophorétique effective, ce qui démontre une complexation de l'europium. La mobilité électrophorétique effective est significativement réduite (ligands 16 et 19) voire positive (ligands 14, 15, 17, 18, 20 et 21), ceci étant en accord avec la réduction de la charge négative due au ligand lors de la complexation et la formation de complexes de charges positives. La mobilité électrophorétique effective étant reliée à l'affinité pour le métal, il semble donc que les ligands 15, 20 et 21 soient les plus affins pour l'europium.

Pour chaque analyse, le volume injecté représente 21 nL de la solution de ligand. Considérant 3 réplicats pour chaque électrolyte, moins de 15 ng de ligand sont nécessaires pour réaliser le criblage.

Par ailleurs, le temps de conditionnement du capillaire est globalement d'une heure par électrolyte (équilibre du capillaire et étape de régénération du revêtement formé par le polybrène). De plus, les temps d'analyse sont compris entre 6 et 10 min et entre 10 et 25 min pour l'électrolyte ne contenant pas d'Eu^{3+} et l'électrolyte contenant 10 mM d'Eu^{3+} respectivement. Près de deux heures sont donc nécessaires pour évaluer l'affinité d'un ligand considérant 3 réplicats pour chaque électrolyte, conditionnement du capillaire compris.
Le temps consacré au conditionnement du capillaire représente près de 50 % du temps global pour l'évaluation de l'affinité d'un ligand. Dans l'esprit d'un criblage plus rapide, ce temps de conditionnement devrait être diminué voire supprimé. Pour ce faire, il serait envisageable d'utiliser des capillaires greffés de façon permanente ou encore de modificateurs de flux dits « scorpions » [32].

Ce criblage permet donc de sélectionner les ligands qui présentent une affinité pour l'europium, en près de deux heures et avec moins de 15 ng pour chaque ligand.

4.3. Détermination des constantes apparentes de complexation

Aucune étude n'a été réalisée pour déterminer les pKa des différents ligands. Nous ne pouvons pas prédire avec exactitude l'état global de protonation des différents ligands à pH 3,7. Ainsi, les ligands 14 à 18 peuvent exister sous forme d'un mélange de plusieurs espèces partiellement déprotonées, alors que les ligands 19 à 21 peuvent se comporter comme des

zwitterions. Considérant le premier pKa des acides phosphoniques autour de 2 et le second autour de 7 en solution aqueuse, la forme prédominante attendue dans le cas des ligands 14 à 18, 20 et 21 est la forme $-PO_3H^-$ [40, 41]. Le composé 19, quant à lui, est attendu sous forme totalement déprotonée en considérant un pKa de 1,5 rapporté pour des groupements de type PO(OH)(OR) [40, 41]. Finalement, seul l'équilibre $M^{3+} + L^- \rightleftharpoons ML^{2+}$ est considéré.

Une étude plus approfondie des ligands 14 à 21 visant à déterminer les constantes apparentes de complexation a été réalisée.

Pour mener cette étude, plusieurs électrolytes ont été préparés contenant 25 mM d'acide formique, pH 3,8, dans un mélange de chlorure de sodium et de chlorure d'europium tels que la concentration en chlorures soit égale à 30 mM en solution dans un mélange méthanol/eau 10/90 (v/v) ; la concentration en europium variant donc de 0 à 10 mM.
Chaque ligand a été injecté dans les différents électrolytes. L'analyse a été réalisée selon les conditions décrites dans le tableau II.5. Il a alors été possible de déterminer la mobilité électrophorétique effective du ligand en présence d'europium pour chaque électrolyte.

Un seul pic a été observé sur les différents électrophorégrammes quelle que soit la concentration en europium de l'électrolyte, ce qui indique des cinétiques d'échange rapides, correspondant à la formation de complexes labiles.

4.3.1. Mise en évidence de la stœchiométrie des complexes formés

Les électrophérogrammes obtenus, représentant l'intensité du signal à m/z = 31 en fonction de la mobilité électrophorétique effective, pour différents électrolytes sont présentés dans la figure II.12 dans le cas du ligand 14.

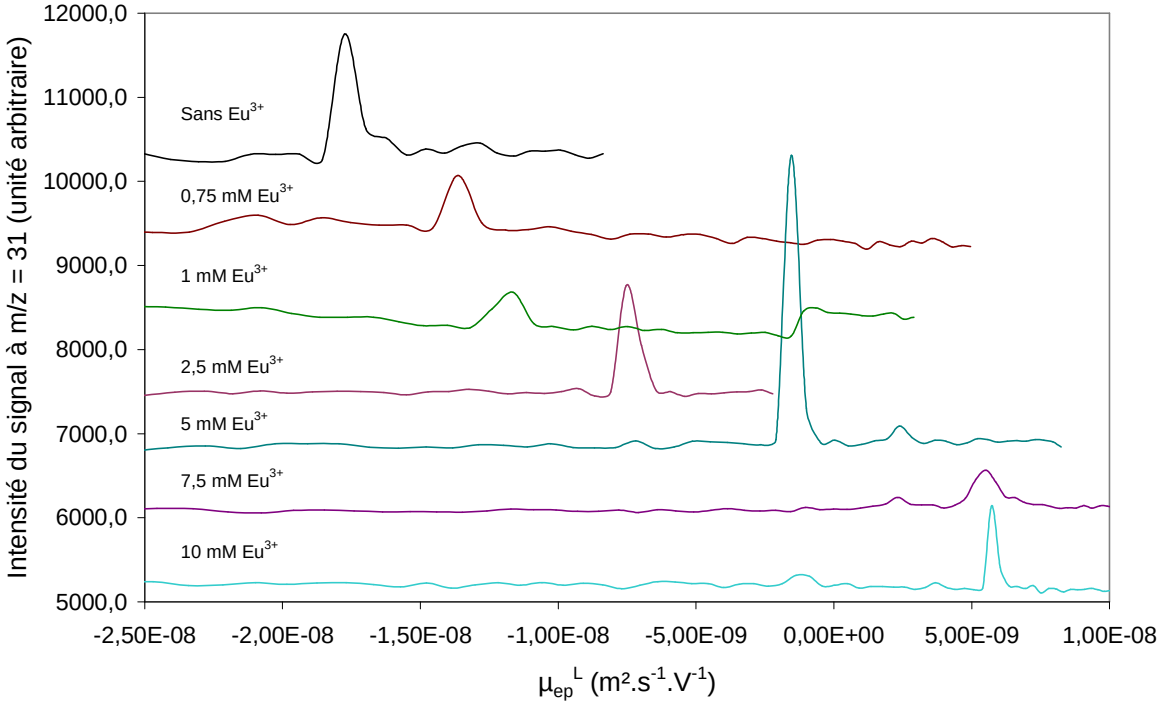


Figure II.12 : Electrophérogrammes obtenus par injection du ligand 14 en fonction de la concentration en Eu^{3+} dans l'électrolyte.

Condition de séparation : - Capillaire de silice fondue 75 cm x 75 µm d.i. - T = 25 °C - [ligand 14] = 83 µM - Injection : 0,5 psi, 5 sec (21 nL) - Détection : ICP/MS à m/z = 31 - Electrolyte : 25 mM d'acide formique, pH 3,8, dans un mélange de chlorure de sodium et de chlorure d'europium tel que la concentration en chlorures soit égale à 30 mM en solution dans un mélange méthanol/eau 10/90 (v/v) ; la concentration en europium variant de 0 à 10 mM - Solution de greffage : électrolyte contenant du polybrène sous forme chlorure 0,1 % en masse.

Ces électrophérogrammes illustrent le déplacement du pic du ligand en fonction de la concentration en europium dans l'électrolyte, ce qui témoigne de la complexation.

Pour rappel, le tracé de la forme linéaire x-réciproque du modèle de formation d'un complexe de stœchiométrie 1 : 1 permet de déceler la présence d'équilibre d'ordres supérieurs [36]. La forme linéaire x-réciproque a donc été représentée pour chaque ligand dans le but de mettre en évidence d'éventuels équilibres d'ordres supérieurs. Les différents tracés obtenus sont présentés dans la figure II.13.

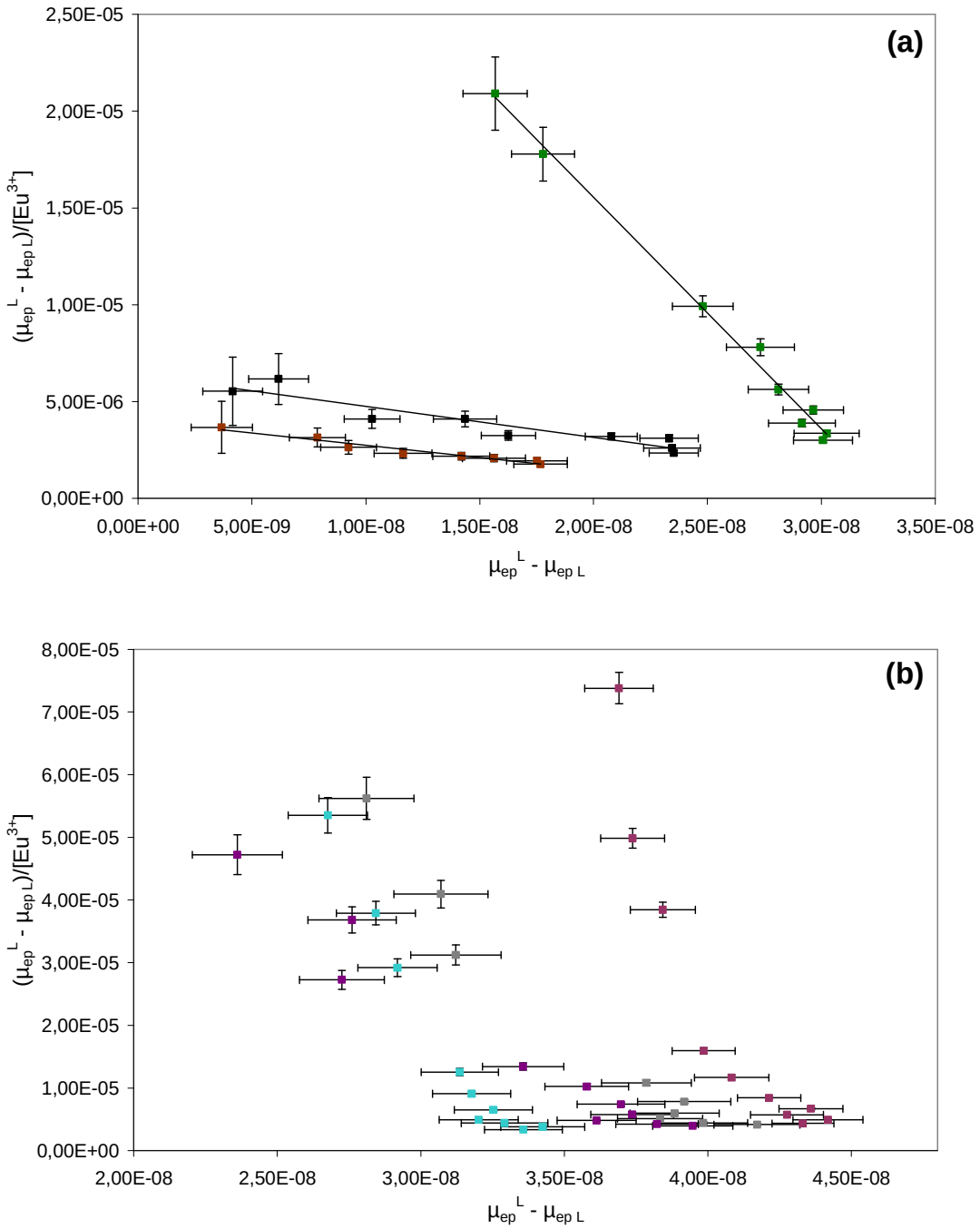


Figure II.13 : Transformation linéaire x-réciproque de l'isotherme de complexation des différents ligands en présence de concentrations croissantes en europium dans l'électrolyte.

(a) Ligand 14 (■), ligand 16 (■) et ligand 17 (■)

(b) Ligand 15 (■), ligand 18 (■), ligand 20 (■) et ligand 21 (■)

Conditions de séparation : - Capillaire de silice fondue 75 cm x 75 µm d.i. - T = 25 °C - [ligand] ≤ 300 µM - Injection : 0,5 psi, 5 sec (21 nL) - Détection : ICP/MS à m/z = 31 - Electrolyte : 25 mM d'acide formique, pH 3,8, dans un mélange de chlorure de sodium et de chlorure d'europium tel que la concentration en chlorures soit égale à 30 mM en solution dans un mélange méthanol/eau 10/90 (v/v) - Solution de greffage : électrolyte contenant du polybrène sous forme chlorure 0,1 % en masse.

La mobilité électrophorétique effective du ligand est exprimée en $m^2.s^{-1}.V^{-1}$, la concentration en europium en M.

Comme le montre la figure II.13 (a), les représentations x-réciproques sont linéaires pour les ligands 14, 16 et 17. La linéarité de la représentation x-réciproque témoigne de la formation d'un complexe de stœchiométrie 1 : 1 pour ces ligands. Dans ce cas, l'équation de la mobilité électrophorétique effective du ligand pour la formation d'un complexe de stœchiométrie 1 : 1 est directement utilisée par régression non linéaire ou sous l'une de ses formes linéaires vues au paragraphe 2.2.2.1 pour la détermination de constantes apparentes de complexation.

Par contre, comme le montre la figure II.13 (b), les représentations x-réciproques ne sont pas linéaires pour les ligands 15, 18, 20 et 21. La non-linéarité de la représentation linéaire x-réciproque permet de supposer la présence d'équilibres d'ordres supérieurs, et donc la présence de complexes successifs. Compte tenu de la structure de ces ligands qui présentent deux fonctions complexantes (deux phosphonates pour les ligands 15, 18 et 21 et un phosphonate et un iminoacétate pour le ligand 20) et des conditions d'étude qui peuvent favoriser, dans certains cas, la formation d'espèces polynucléaires, l'espèce dinucléaire M_2L est envisageable. Dans ce cas, l'isotherme de complexation ne peut être modélisée qu'à partir de la régression non linéaire contrairement au cas des complexes de stœchiométrie 1 : 1.

Après analyse de l'allure de la représentation x-réciproque, il est possible de classer les ligands en deux groupes, l'un regroupant les ligands qui adoptent une stœchiométrie métal : ligand 1 : 1 et l'autre rassemblant ceux qui semblent former des complexes successifs.

4.3.2. Etude des complexes de stœchiométrie 1 : 1

Pour chaque ligand, les représentations linéaires de l'isotherme ont été tracées ainsi que la régression non linéaire. La linéarité des différentes représentations linéaires témoignent de l'exactitude du modèle de formation d'un complexe de stœchiométrie métal : ligand 1 : 1. A partir de la mesure des mobilités électrophorétiques effectives du ligand, la régression non linéaire et les transformations linéaires de l'isotherme ont été utilisées pour déterminer la constante de complexation apparente ainsi que la mobilité électrophorétique du complexe.

4.3.2.1.Détermination des constantes de complexation à partir de l'isotherme de complexation

L'isotherme de complexation du ligand 14 est présentée sur la figure II.14. L'ajustement a été réalisé par régression non linéaire à l'aide du logiciel Origin et la constante de complexation a été obtenue par convergence en minimisant la fonction erreur (χ^2). Le choix d'un coefficient de pondération de 1 se justifie par le fait que l'erreur associée aux différentes mobilités électrophorétiques effectives est constante sur la plage de concentration en europium étudiée.

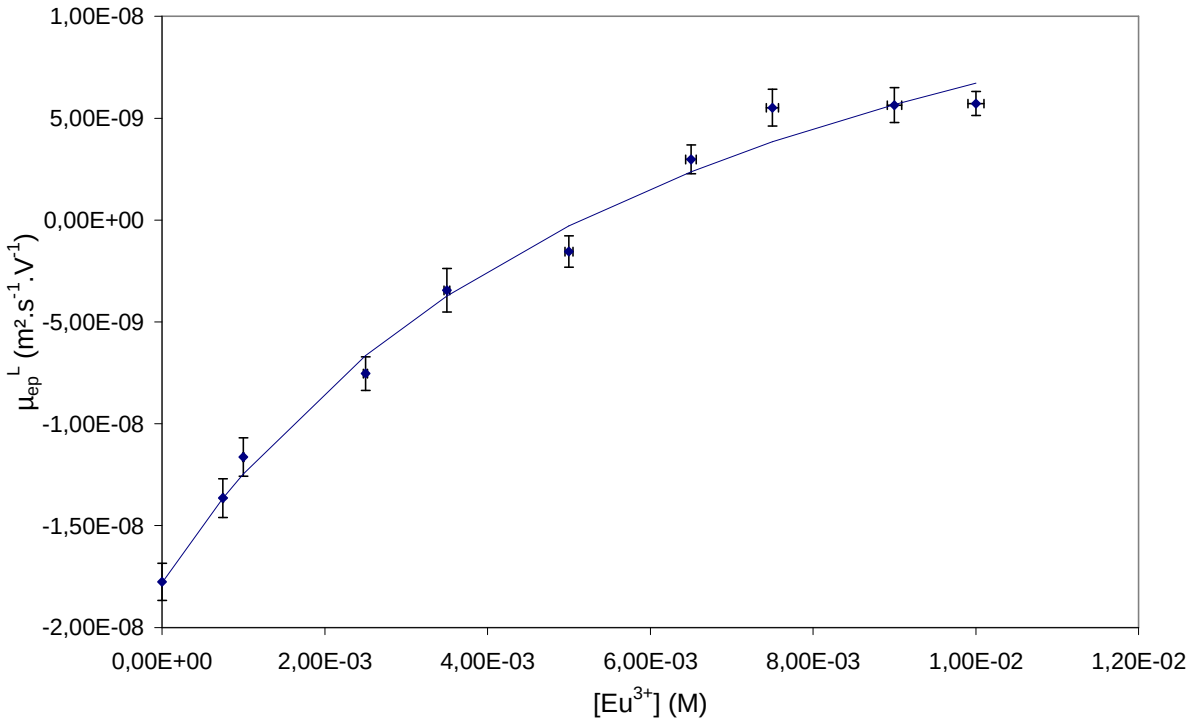


Figure II.14 : Variation de la mobilité électrophorétique effective du ligand 14 en fonction de la concentration en europium dans l'électrolyte.

Les isothermes correspondant aux composés 16 et 17 ont été traitées de façon identique et l'ensemble des résultats est récapitulé dans le tableau II.7.

Tableau II.7 : Récapitulatif des constantes de complexation apparentes et des mobilités électrophorétiques du ligand seul et du complexe déterminées par régression non linéaire pour les ligands 14, 16 et 17.

Ligand	log β_{11}	$\mu_{ep\ L}$ ($m^2.s^{-1}.V^{-1}$)	$\mu_{ep\ ML}$ ($m^2.s^{-1}.V^{-1}$)	χ^2
14	2,16 ± 0,11	(- 1,76 ± 0,09).10^{-8}	(2,4 ± 0,5).10^{-8}	1,04.10^{-18}
16	2,02 ± 0,07	(- 1,84 ± 0,04).10^{-8}	(1,6 ± 0,3).10^{-8}	1,58.10^{-19}
17	3,09 ± 0,03	(- 2,05 ± 0,04).10^{-8}	(1,24 ± 0,03).10^{-8}	1,61.10^{-19}

La figure II.15 présente les isothermes de complexation des ligands 16 et 17. L'isotherme de complexation du ligand 17 présente un plateau aux concentrations en europium les plus élevées, ce qui n'est pas le cas de l'isotherme de complexation des ligands 14 et 16, vraisemblablement du fait de leur affinité moins importante pour l'europium. Il est à noter que l'équation 19 montre que la mobilité électrophorétique du complexe $\mu_{ep\ ML}$ et la constante de complexation K_{11} sont fortement corrélées et ne peuvent être déterminées séparément. Pour une estimation plus précise de la constante de complexation, il est donc nécessaire de disposer d'un grand nombre de points dans la plage de concentrations en europium où l'espèce ML est prédominante. Pour les ligands 14 et 16, la plage de concentration où l'espèce ML est prédominante n'est pas couverte (absence de plateau). Dès lors, les erreurs associées à la constante de complexation K_{11} et la mobilité électrophorétique du complexe $\mu_{ep\ ML}$ sont probablement plus grandes que celles annoncées, associées au traitement mathématique.

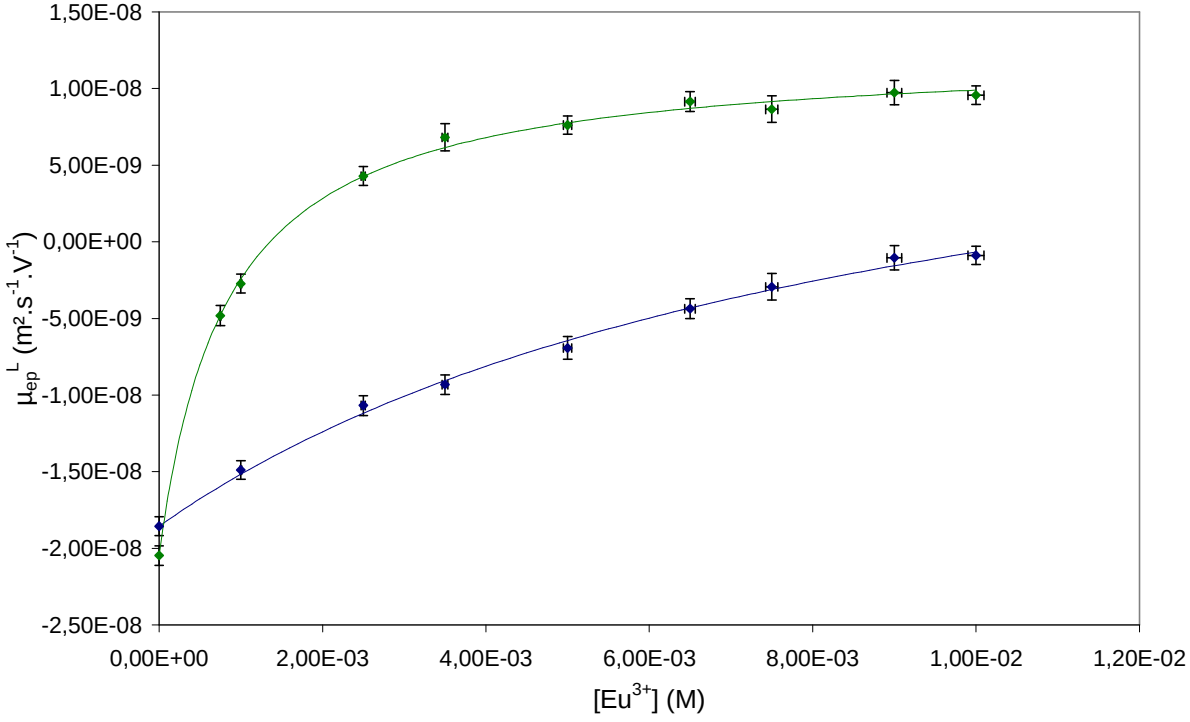
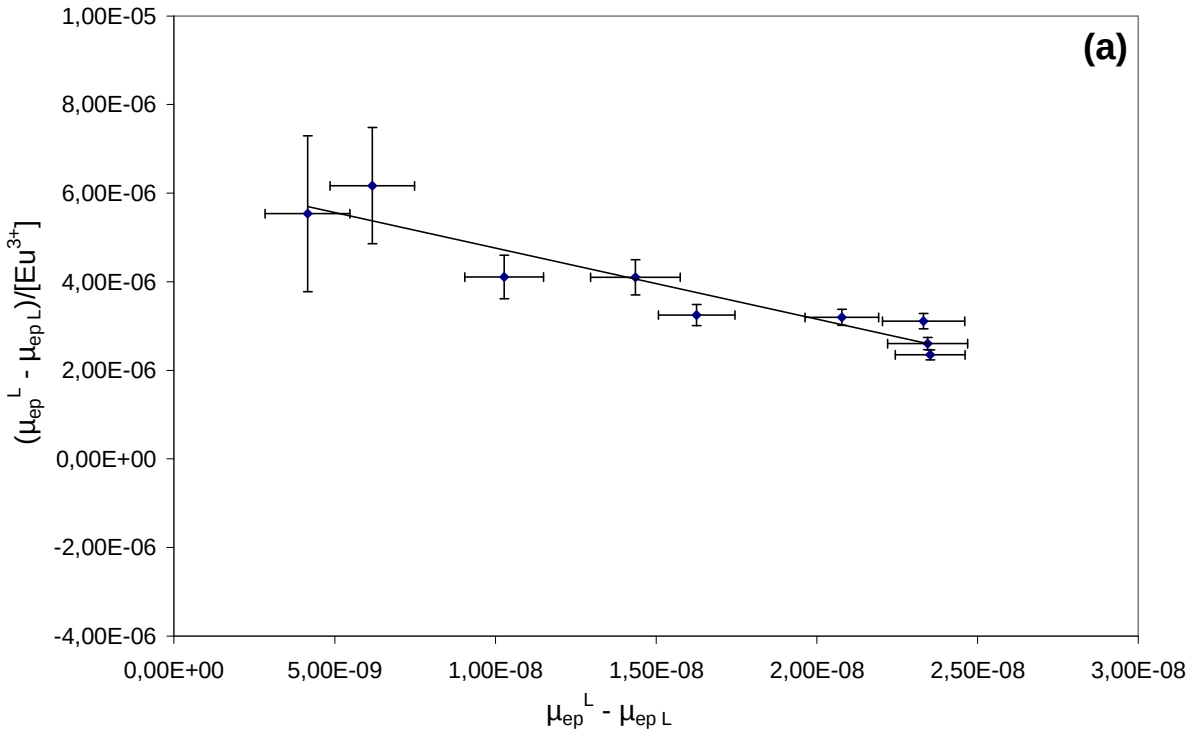
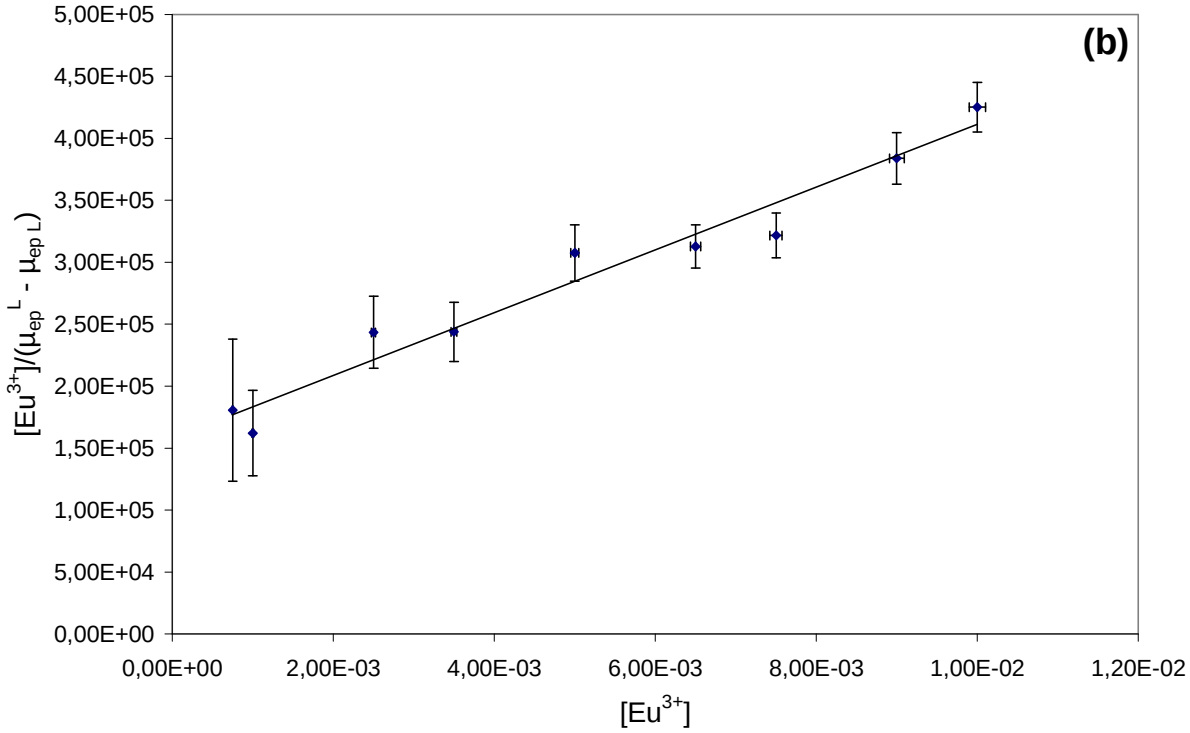


Figure II.15 : Variation de la mobilité électrophorétique effective du ligand 16 (—) et du ligand 17 (—) en fonction de la concentration en europium dans l'électrolyte.

4.3.2.2.Détermination des constantes de complexation à partir des méthodes de linéarisation de l'isotherme

Conformément à ce qui a été énoncé dans le paragraphe 2.2.2.1, les transformations linéaires de l'isotherme permettent d'accéder aux constantes de complexation. Elles ont donc été tracées et sont présentées dans la figure II.16 dans le cas du ligand 14.


(a)
1,00E-05
8,00E-06
6,00E-06
4,00E-06
2,00E-06
0,00E+00
-2,00E-06
-4,00E-06
(μep L - μep L)/[Eu3+]
0,00E+00
5,00E-09
1,00E-08
1,50E-08
2,00E-08
2,50E-08
3,00E-08
μep L - μep L


(b)
5,00E+05
4,50E+05
4,00E+05
3,50E+05
3,00E+05
2,50E+05
2,00E+05
1,50E+05
1,00E+05
5,00E+04
0,00E+00
[Eu3+]/(μep L - μep L)
0,00E+00
2,00E-03
4,00E-03
6,00E-03
8,00E-03
1,00E-02
1,20E-02
[Eu3+]

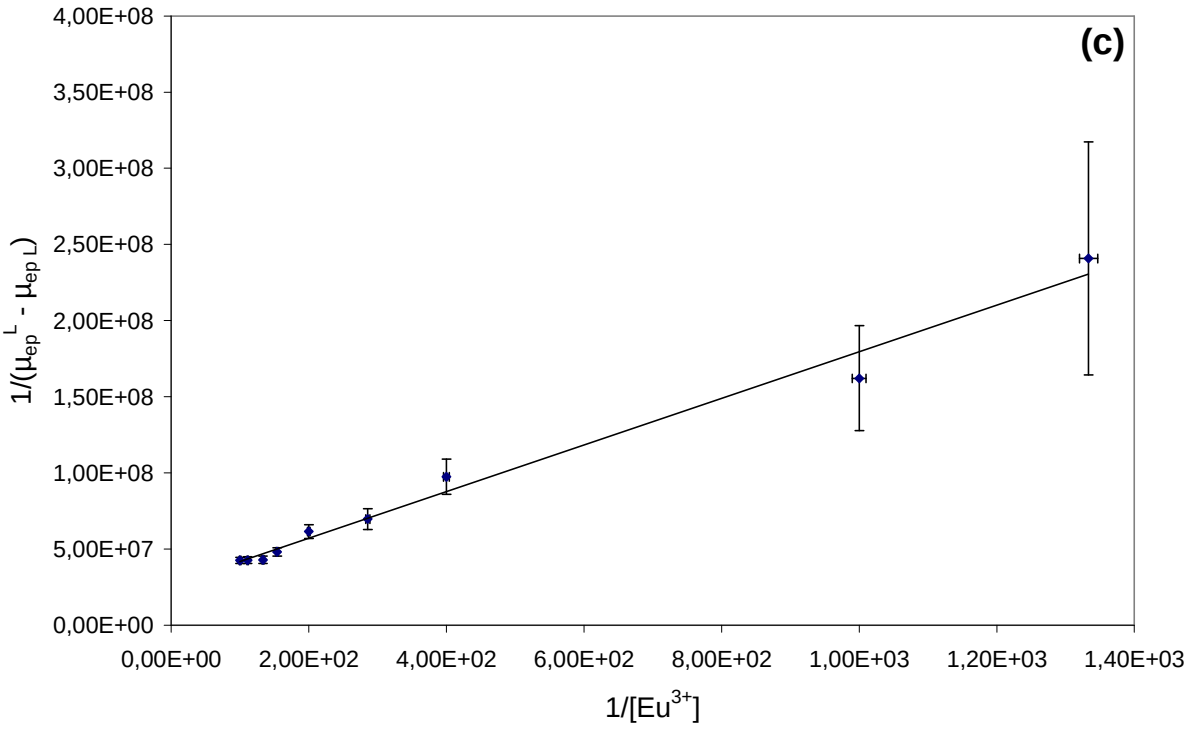


Figure II.16 : Transformations linéaires de l'isotherme de complexation du ligand 14 en présence de concentrations croissantes en europium dans l'électrolyte : x-réciproque (a), y-réciproque (b) et xy-réciproques (c).

La mobilité électrophorétique effective du ligand est exprimée en $m^2.s^{-1}.V^{-1}$, la concentration en europium en M.

Les constantes de complexation apparentes ainsi que les mobilités électrophorétiques du complexe déterminées à partir de la régression non linéaire et des transformations linéaires sont récapitulées dans le tableau II.8.

Tableau II.8 : Récapitulatif des constantes de complexation apparentes et des mobilités électrophorétiques du complexe déterminées lors de l'étude de complexation de l'europium par les différentes représentations pour le ligand 14.

Représentation	Equation	R^2	$\log \beta_{11}$	$\mu_{ep\ ML}$ ($m^2.s^{-1}.V^{-1}$)
Régression	$y = \frac{1{,}76.10^{-8} - 3{,}40.10^{-6}x}{1 + 1{,}44.10^{2}x}$	0,9864	2,16	$2{,}4.10^{-8}$
x-réciproque	$y = -1{,}61.10^{2}x - 6{,}36.10^{-6}$	0,8810	2,21	$2{,}18.10^{-8}$
y-réciproque	$y = -2{,}53.10^{7}x - 1{,}58.10^{5}$	0,9598	2,20	$2{,}17.10^{-8}$
xy-réciproques	$y = -1{,}53.10^{5}x - 2{,}66.10^{7}$	0,9856	2,24	$1{,}98.10^{-8}$
Valeur moyenne			2,20 ± 0,04	$(2{,}2 \pm 0{,}2).10^{-8}$

Dans les conditions d'étude, une constante apparente moyenne de complexation de l'europium par le ligand 14, issue des différents traitements mathématiques, peut être calculée : log β_{11} = 2,20 ± 0,04. De manière identique, une mobilité électrophorétique moyenne du complexe peut être déterminée à partir des différentes représentations. Dans les conditions d'étude, cette mobilité électrophorétique est la suivante : $\mu_{ep\ ML}$ = (2,2 ± 0,2).10^{-8} m².s^{-1}.V^{-1}.

Le même raisonnement a été conduit pour les ligands 16 et 17. Les résultats obtenus sont récapitulés dans les tableaux II.9 et II.10 pour les ligands 16 et 17 respectivement.

Tableau II.9 : Récapitulatif des constantes de complexation apparentes et des mobilités électrophorétiques du complexe déterminées lors de l'étude de complexation de l'europium par les différentes représentations pour le ligand 16.

Représentation	Equation	R²	log β_{11}	$\mu_{ep\ ML}$ ($m^2.s^{-1}.V^{-1}$)
Régression	$y = \frac{1{,}84.10^{-8} - 1{,}71.10^{-6}x}{1 + 1{,}10.10^{2}x}$	0,9959	2,02	1,63.10^{-8}
x-réciproque	$y = -1{,}27.10^{2}x - 4{,}02.10^{-6}$	0,9508	2,10	1,31.10^{-8}
y-réciproque	$y = -3{,}08.10^{7}x - 2{,}54.10^{5}$	0,9789	2,08	1,39.10^{-8}
xy-réciproques	$y = -2{,}39.10^{5}x - 3{,}39.10^{7}$	0,9979	2,15	1,09.10^{-8}
Valeur moyenne			2,09 ± 0,06	(1,4 ± 0,2).10^{-8}

Tableau II.10 : Récapitulatif des constantes de complexation apparentes et des mobilités électrophorétiques du complexe déterminées lors de l'étude de complexation de l'europium par les différentes représentations pour le ligand 17.

Représentation	Equation	R²	log β_{11}	$\mu_{ep\ ML}$ ($m^2.s^{-1}.V^{-1}$)
Régression	$y = \frac{2{,}05.10^{-8} - 1{,}51.10^{-5}x}{1 + 1{,}22.10^{3}x}$	0,9983	3,09	1,24.10^{-8}
x-réciproque	$y = -1{,}19.10^{3}x - 3{,}94.10^{-5}$	0,9931	3,08	1,26.10^{-8}
y-réciproque	$y = -3{,}06.10^{7}x - 2{,}40.10^{4}$	0,9994	3,11	1,22.10^{-8}
xy-réciproques	$y = -2{,}53.10^{4}x - 3{,}03.10^{7}$	0,9979	3,08	1,25.10^{-8}
Valeur moyenne			3,09 ± 0,02	(1,24 ± 0,02).10^{-8}

On constate que les différentes formes linéaires de l'équation de l'isotherme conduisent à des résultats très proches de ceux obtenus dans le paragraphe précédent. Toutefois, l'obtention des valeurs de β_{11} et $\mu_{ep\ ML}$ n'est possible qu'à condition de supposer la valeur de $\mu_{ep\ L}$ comme étant exacte et non entachée d'erreur.

4.3.3. Etude des complexes successifs 1 : 1 et 2 : 1

Dans ce paragraphe seront étudiés les ligands formant des complexes successifs. Les électrophérogrammes obtenus, représentant l'intensité du signal à m/z =31 en fonction de la mobilité électrophorétique effective, pour différents électrolytes sont présentés dans la figure II.17 pour le ligand 15.

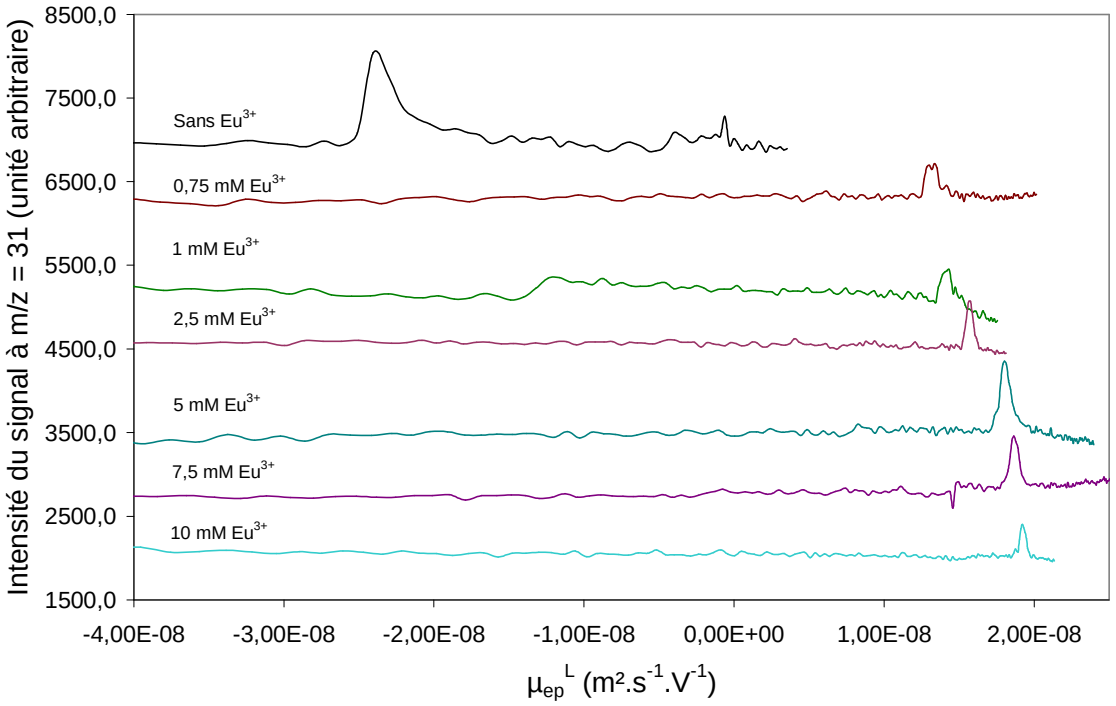


Figure II.17 : Electrophérogrammes obtenus par injection du ligand 15 pour différents électrolytes.
Conditions de séparation : - Capillaire de silice fondue 75 cm x 75 µm d.i. - T = 25 °C - [ligand 15] = 59 µM - Injection : 0,5 psi, 5 sec (21 nL) - Détection : ICP/MS à m/z = 31 - Electrolyte : 25 mM d'acide formique, pH 3,8, dans un mélange de chlorure de sodium et de chlorure d'europium tel que la concentration en chlorures soit égale à 30 mM en solution dans un mélange méthanol/eau 10/90 (v/v) ; la concentration en europium variant de 0 à 10 mM - Solution de greffage : électrolyte contenant du polybrène sous forme chlorure 0,1 % en masse.

Les électrophérogrammes obtenus par l'injection des différents ligands dans les électrolytes mettent ici encore en évidence le déplacement du pic des ligands en fonction de la concentration en europium dans l'électrolyte, ce qui témoigne de la complexation.

A partir de la mesure des mobilités électrophorétiques effectives du ligand 15, la régression non linéaire tenant compte de la formation d'un complexe 1 : 1 (Eq. 19) et la régression non linéaire tenant compte de la formation d'un complexe 1 : 1 et d'un complexe 2 : 1 (Eq. 25) ont été utilisées pour modéliser l'isotherme de complexation de ce ligand (Figure II.18).
On constate que l'ajustement de l'isotherme de complexation est nettement amélioré en tenant compte de la formation d'un complexe 1 : 1 et d'un complexe 2 : 1 ($\chi^2 = 2{,}66.10^{-19}$) au lieu d'un seul complexe 1 : 1 ($\chi^2 = 1{,}91.10^{-18}$), comme le montre la figure II.18.

Figure II.18 : Variation de la mobilité électrophorétique effective du ligand 15 en fonction de la concentration en europium dans l'électrolyte en posant l'hypothèse de la formation d'un seul complexe de stœchiométrie 1 : 1 (ligne pointillée) ou en posant l'hypothèse de la formation de complexes successifs ML et M_2L (ligne pleine).

La régression non linéaire tenant compte de la formation d'un complexe 1 : 1 et d'un complexe 2 : 1 a été utilisée pour déterminer les constantes de complexation apparentes ainsi

que les mobilités électrophorétiques des complexes formés. Elle est présentée par la figure II.19 dans le cas du ligand 15.

Figure II.19 : Variation de la mobilité électrophorétique effective du ligand 15 en fonction de la concentration en europium dans l'électrolyte.

Les constantes apparentes de complexation et les mobilités électrophorétiques déterminées sont récapitulées dans le tableau II.11. Dans les conditions d'étude, la mobilité électrophorétique du ligand 15 est la suivante : $\mu_{ep\ L} = (-\ 2{,}41 \pm 0{,}06).10^{-8}\ m^2.s^{-1}.V^{-1}$.

Tableau II.11 : Constantes apparentes de complexation β_{i1} (*i* = 1 ou *i* = 2) et mobilités électrophorétiques $\mu_{ep}(M_iL)$ des différentes espèces, calculées pour le ligand 15.

Complexe	ML (i = 1)	M_2L (i = 2)
$\log \beta_{i1}$	4,6 ± 0,2	2,2 ± 0,3
$\mu_{ep\ MiL}$ ($m^2.s^{-1}.V^{-1}$)	$(1{,}3 \pm 0{,}2).10^{-8}$	$(2{,}4 \pm 0{,}3).10^{-8}$

Les erreurs associées aux constantes de complexation sont relativement importantes avec un écart-type relatif de près de 15 % pour la seconde constante, et ce, pour les raisons de corrélation de variables évoquées lors de l'étude des complexe de stœchiométrie 1 : 1 dans le paragraphe 4.3.2.1.

Le diagramme de distribution des espèces libres et liées du ligand 15, dans les conditions expérimentales, est présenté dans la figure II.20.

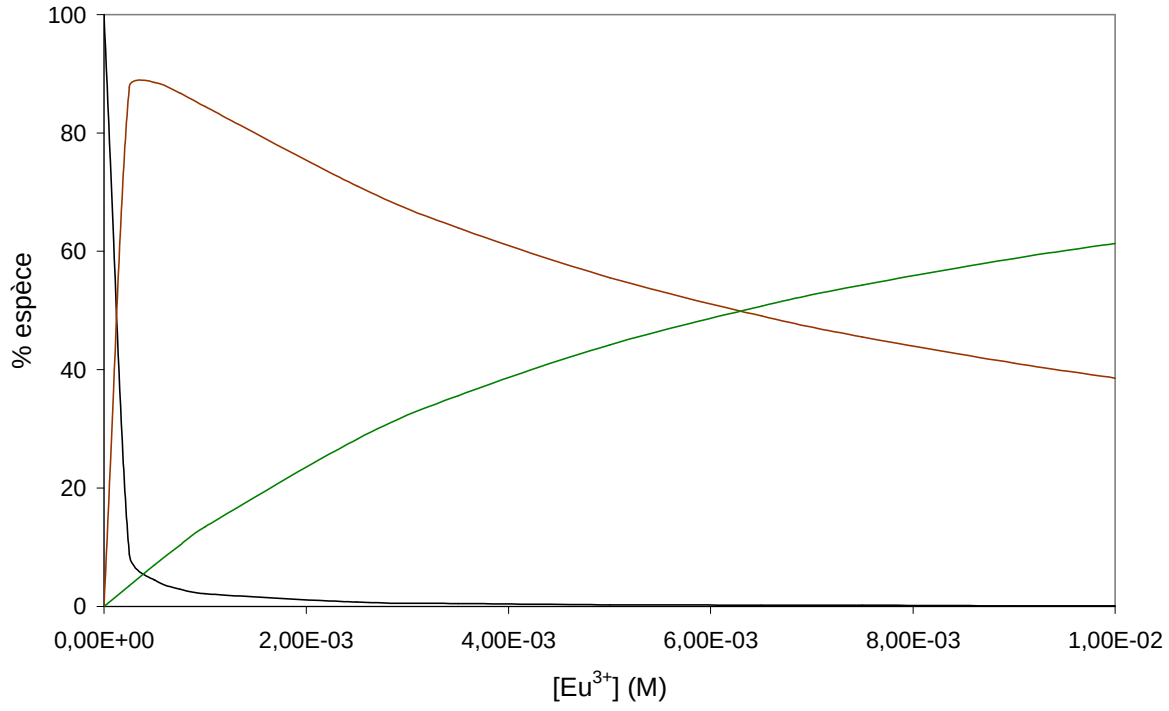


Figure II.20 : Diagramme de distribution relatif au ligand 15.
Espèce L(—), espèce ML (—), espèce M_2L (—)

D'après ce diagramme, la fraction de l'espèce ML atteint son maximum à 89 % à une concentration en europium de 0,5 mM, les proportions de L et M_2L étant approximativement de 4 et 7 % respectivement. Pour la concentration en europium la plus élevée, soit 10 mM, les espèces ML et M_2L sont en équilibre dans un rapport 39 : 61. Les trois espèces contribuent donc de manière significative à la mobilité électrophorétique apparente du ligand.

Le même raisonnement a été conduit pour les ligands 18, 20 et 21. Toutefois, le ligand 15 représente le seul cas où l'introduction d'un second complexe conduit à une nette amélioration de la corrélation. En effet, les différentes tentatives de modélisation en intégrant

les deux espèces ML et M_2L conduisent soit à des estimations non réalistes pour la constante de complexation K_{21} et la mobilité électrophorétique du complexe M_2L accompagnées d'écarts-types relatifs supérieurs à 100 % pour les ligands 20 et 21, soit à des divergences pour le ligand 18. Dans ces trois cas, la seule présence d'une espèce ML permet de modéliser les courbes avec une bonne corrélation. Ceci semble a priori contradictoire avec les résultats obtenus dans le paragraphe 4.3.1 où les transformations x-réciproques indiquaient clairement une absence de linéarité.

On peut donc supposer que l'isotherme de complexation, dans la gamme de concentration en europium étudiée, présente peu d'informations relatives à la formation du second complexe, ce qui pourrait expliquer le fait qu'il n'est pas possible de déterminer la constante de complexation K_{21} et la mobilité électrophorétique du complexe M_2L.

Afin d'illustrer ce dernier propos, nous avons représenté l'incidence sur la forme des courbes x-réciproques théoriques de la constante de complexation K_{21} dans le cas du composé 15 en conservant les autres paramètres identiques à ceux trouvés par régression non-linéaire. Ces courbes sont présentées sur la figure II.21.

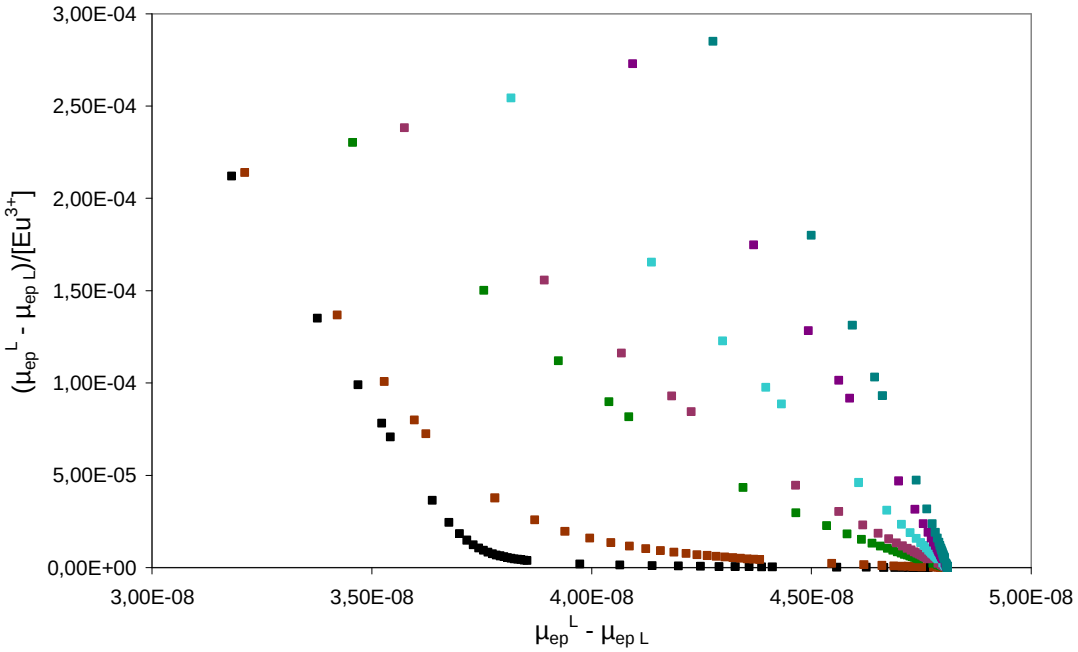


Figure II.21 : Transformations linéaires x-réciproques de l'isotherme de complexation théorique en fonction de la constante de complexation K_{21}.

avec $\mu_{ep\ L}$ = - 2,41.10^{-8} m^2.s^{-1}.V^{-1} ; $\mu_{ep\ ML}$ = 1,3.10^{-8} m^2.s^{-1}.V^{-1} ; $\mu_{ep\ M_2L}$ = 2,4.10^{-8} m^2.s^{-1}.V^{-1} ; K_{11} = 3,98.10^4 M^{-1} et K_{21} = 1,6.10^4 M^{-1} (■) ; 9,95.10^3 M^{-1} (■) ; 5.10^3 M^{-1} (■) ; 2,5.10^3 M^{-1} (■) ; 1,6.10^3 M^{-1} (■) ; 1,6.10^2 M^{-1} (■) ; 1,6.10^1 M^{-1} (■).

La mobilité électrophorétique effective du ligand est exprimée en m².s^{-1}.V^{-1}, la concentration en europium en M.

Il faut noter que la courbe présentant les symboles (■) représente le cas où les constantes microscopiques sont équivalentes. Ainsi, on constate que l'écart de linéarité de la représentation x-réciproque du modèle de formation d'un complexe 1 : 1 est d'autant plus important que la constante de complexation K_{21} est faible. Il s'ensuit qu'une faible abondance de l'espèce M_2L suffit à permettre la détection d'un équilibre secondaire grâce à la transformation x-réciproque mais il reste cependant difficile de conclure quant à des valeurs significatives caractérisant cette espèce, puisqu'elle ne contribue que marginalement à la mobilité mesurée.

Les résultats obtenus sont récapitulés dans le tableau II.12.

Tableau II.12 : Récapitulatif des constantes de complexation et des mobilités électrophorétiques du ligand seul et du complexe déterminées par régression non-linéaire.

Ligand	log β_{11}	$\mu_{ep\ L}$ ($m^2.s^{-1}.V^{-1}$)	$\mu_{ep\ ML}$ ($m^2.s^{-1}.V^{-1}$)	χ^2
15	4,14 ± 0,08	(- 2,4 ± 0,2).10^{-8}	(1,86 ± 0,06).10^{-8}	1,91.10^{-18}
18	3,87 ± 0,05	(- 2,34 ± 0,07).10^{-8}	(1,01 ± 0,03).10^{-8}	3,92.10^{-19}
20	3,60 ± 0,05	(- 2,9 ± 0,2).10^{-8}	(1,15 ± 0,06).10^{-8}	1,17.10^{-18}
21	3,44 ± 0,05	(- 2,4 ± 0,2).10^{-8}	(1,49 ± 0,06).10^{-8}	1,20.10^{-18}

Il est à noter que dans le cas du ligand 19, aucune détermination de constante n'a été possible. Les électrophérogrammes, représentant l'intensité du signal à m/z =31 en fonction de la mobilité électrophorétique, pour différents électrolytes (figure II.22) montrent que les différences de mobilité électrophorétique effective, observées après le premier ajout d'europium dans l'électrolyte, sont de l'ordre de l'erreur expérimentale. Ceci semble suggérer que la totalité du ligand est complexée dès le premier ajout d'europium dans l'électrolyte.

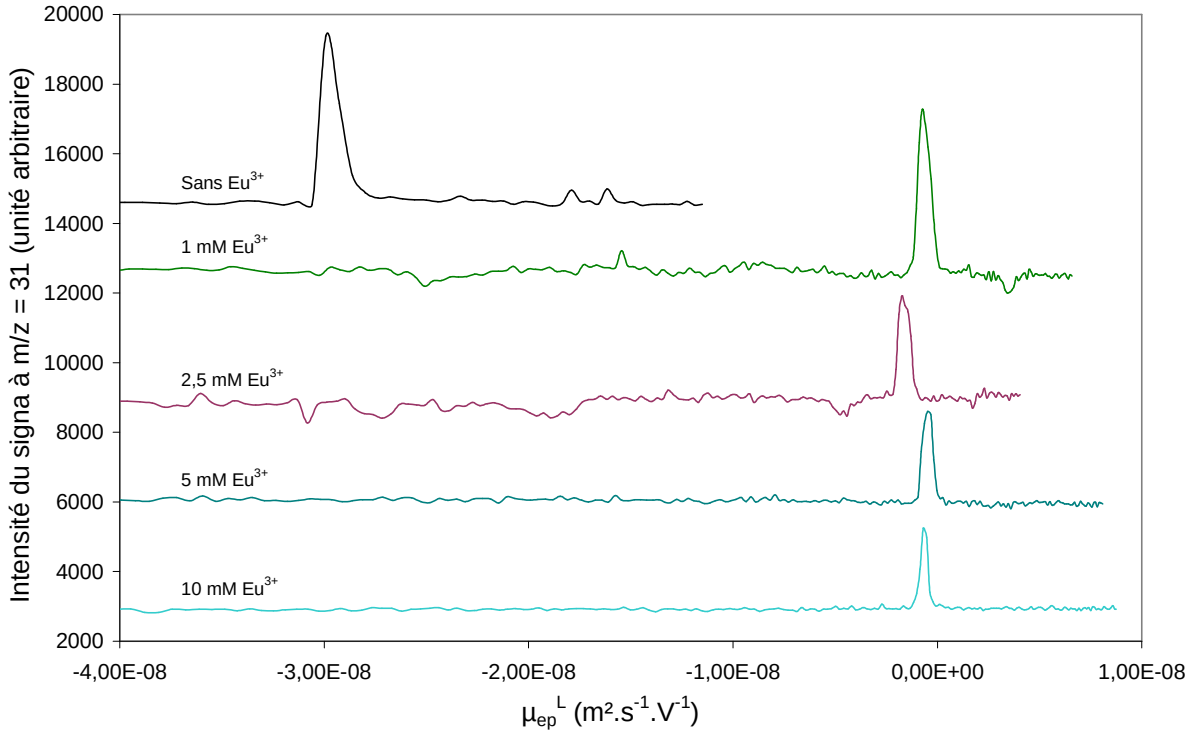


Figure II.22 : Electrophérogrammes obtenus par injection du ligand 19 pour différents électrolytes.
Conditions de séparation : - Capillaire de silice fondue 75 cm x 75 µm d.i. - T = 25 °C - [ligand 19] = 207 µM - Injection : 0,5 psi, 5 sec (21 nL) - Détection : ICP/MS à m/z = 31 - Electrolyte : 25 mM d'acide formique, pH 3,8, dans un mélange de chlorure de sodium et de chlorure d'europium tels que la concentration en chlorures soit égale à 30 mM en solution dans un mélange méthanol/eau 10/90 (v/v) ; la concentration en europium variant de 0 à 10 mM - Solution de greffage : électrolyte contenant du polybrène sous forme chlorure 0,1 % en masse.

Ce ligand présentant différents groupements ionisables, son affinité pour l'europium sera dépendante du pH. Il serait alors envisageable de jouer sur les conditions d'étude, c'est-à-dire l'utilisation d'un électrolyte de plus bas pH pour décrire les équilibres en présence.

4.3.4. Récapitulatif des constantes apparentes de complexation

Les constantes apparentes de complexation ainsi que la mobilité électrophorétique des différents complexes sont récapitulées sont le tableau II.13.

Tableau II.13 : Constantes apparentes de complexation et mobilité électrophorétique des différents complexes (Electrolyte: acide formique 25 mM, pH 3.8, en solution dans un mélange méthanol/eau 10/90 (v/v) ; $[Cl^-]_{tot}$ = 30 mM ; *T* = 298 K).

Ligand	$\mu_{ep\ L}$ ($m^2.s^{-1}.V^{-1}$)	$\mu_{ep\ ML}$ ($m^2.s^{-1}.V^{-1}$)	log K_{11}	$\mu_{ep\ M_2L}$ ($m^2.s^{-1}.V^{-1}$)	log K_{21}
14	(- 1,76 ± 0,09) .10^{-8}	(2,2 ± 0,2) .10^{-8}	2,20 ± 0,04	n.d.	n.d.
15	(- 2,41 ± 0,05) .10^{-8}	(1,3 ± 0,1) .10^{-8}	4,6 ± 0,2	(2,4 ± 0,3) .10^{-8}	2,2 ± 0,3
16	(- 1,84 ± 0,04) .10^{-8}	(1,4 ± 0,2) .10^{-8}	2,09 ± 0,06	n.d.	n.d.
17	(- 2,05 ± 0,04) .10^{-8}	(1,24 ± 0,02) .10^{-8}	3,09 ± 0,02	n.d.	n.d.
18	(- 2,34 ± 0,07) .10^{-8}	(1,01 ± 0,03) .10^{-8}	3,87 ± 0,05	*	*
19	(- 3,0 ± 0,2) .10^{-8}	/	/	/	/
20	(- 2,9 ± 0,1) .10^{-8}	(1,15 ± 0,06) .10^{-8}	3,60 ± 0,05	*	*
21	(- 2,4 ± 0,1) .10^{-8}	(1,49 ± 0,06) .10^{-8}	3,44 ± 0,05	*	*

n.d. : Non détecté

(/) : Non déterminée par cette méthode

(*) : L'espèce M_2L ne peut être exclue de par l'étude de l'allure de la représentation x-réciproque

Les valeurs de mobilité électrophorétique des différents ligands sont en accord avec l'hypothèse où les ligands sont partiellement déprotonés et portent une charge globale négative. Les différentes valeurs de mobilité électrophorétique, comprises entre - 2,9 et - 1,7.10^{-8} $m^2.s^{-1}.V^{-1}$, semblent bien refléter l'état de charge de ces ligands : 14, 16 < 17 < 15, 18, 20, 21. La complexation induit une diminution de la mobilité électrophorétique comme le montrent les valeurs obtenues pour les différentes espèces complexées ML et M_2L, comprises entre 1,0 et 2,4.10^{-8} $m^2.s^{-1}.V^{-1}$. Ces résultats sont en accord avec la formation d'espèces complexées positives.

4.4. Prise en compte de l'effet de force ionique

Afin de garantir un flux électroosmotique relativement constant, nous avons choisi de maintenir la concentration en chlorures dans l'électrolyte constante [42]. Cette contrainte

conduit à des variations de force ionique d'un électrolyte à l'autre. Afin de vérifier si ces faibles variations affectent la détermination des constantes de complexation, la détermination de celles-ci à force ionique nulle a été réalisée dans les deux cas : (i) dans le cas de la formation d'un complexe 1 : 1 où le ligand 14 a été choisi comme exemple et (ii) dans celui de la formation de deux complexes successifs de stœchiométrie métal : ligand 1 : 1 et 2 : 1, qui n'est représenté dans cette étude que par le ligand 15.

Dans le cas de l'équilibre de complexation suivant :

$$M^{3+} + L^{-} \rightleftharpoons ML^{2+}$$

l'expression de la constante prend alors la forme suivante :

$$\beta_{11}^{0} = \frac{[ML^{2+}]}{[M^{3+}].[L^{-}]} \cdot \frac{\gamma_{ML^{2+}}}{\gamma_{M^{3+}} \cdot \gamma_{L^{-}}} = \beta_{11} \cdot \frac{\gamma_{ML^{2+}}}{\gamma_{M^{3+}} \cdot \gamma_{L^{-}}} \qquad \text{(Eq. 28)}$$

A force ionique faible (voire modérée), on peut utiliser la théorie des interactions ioniques spécifiques (SIT) telle que :

$$\log \gamma_i = -\frac{A \,.\, z^2 \,.\, \sqrt{I}}{1 + 1{,}5 \,.\, \sqrt{I}} + \sum_{j=1}^{N} \varepsilon\,(i, j) \,.\, m_j \qquad \text{(Eq. 29)}$$

Avec γ_i : Facteur d'activité exprimé en molalité

A : Egal à 0,509

$\varepsilon\,(i, j)$: Coefficient d'interaction entre l'ion i et un ion j de charge opposée ($\varepsilon(i,j) \leq 1$ kg.mol^{-1})

m_j : Molalité de l'ion j

En première approximation, on peut négliger le terme $\varepsilon(i,j).m_j$ et l'expression (29) devient alors :

$$\log \gamma_i = -z^2 \,.\, D \text{ avec } D = \frac{A \,.\, \sqrt{I}}{1 + 1{,}5 \,.\, \sqrt{I}} \qquad \text{(Eq. 30)}$$

soit $\log \gamma_{L^-} = -D$, $\log \gamma_{M^{3+}} = -9 \,.\, D$ et $\log \gamma_{ML^{2+}} = -4 \,.\, D$

En combinant les équations (28) et (30), on obtient l'expression de la constante à force ionique nulle en fonction de la constante apparente :

$$\beta_{11}^{0} = \beta_{11} \,.\, 10^{6\,D} \text{ soit } \log \beta_{11}^{0} = \log \beta_{11} + 6\,D \qquad \text{(Eq. 31)}$$

La prise en compte de l'effet de force ionique sur la mobilité se traduit au moyen de la théorie de Debye-Hückel-Onsager par l'équation (32) :

$$\mu_{ep,i}^{0} = \mu_{ep,\,i}^{L} + \frac{2}{3}\frac{z_i \,.\, e \,.\, L_B}{\eta}\sum_j C_j \,.\, z_j^2 \qquad \text{(Eq. 32)}$$

Avec $\mu_{ep,i}^{0}$: Mobilité électrophorétique à dilution infinie

$\mu_{ep,\,i}^{L}$: Mobilité électrophorétique effective du ligand L

i : Ligand étudié

j : Ions présents dans l'électrolyte

z : Charge des ions présents dans l'électrolyte

η : Viscosité dynamique du milieu

L_B : Longueur de Bjerrum (égale à 7 Å dans l'eau)

Ces corrections étant appliquées pour chaque électrolyte, les constantes de complexation à force ionique nulle ont été calculées par régression non-linéaire. Les résultats sont récapitulés dans le tableau suivant :

Tableau II.14 : Constantes de complexation de l'europium et mobilités électrophorétiques des différentes espèces, calculées à force ionique nulle.

Ligand	$\mu_{ep}°_{L}$ ($m^2.V^{-1}.s^{-1}$)	$\mu_{ep}°_{ML}$ ($m^2.V^{-1}.s^{-1}$)	$\log \beta_{11}^{0}$	$\mu_{ep}°_{M_2L}$ ($m^2.s^{-1}.V^{-1}$)	$\log \beta_{21}^{0}$
14	$-1{,}64.10^{-8}$	$3{,}26.10^{-8}$	2,5	-	-
15	$-2{,}41.10^{-8}$	$1{,}38.10^{-8}$	4,6	$2{,}52.10^{-8}$	6,7

A partir de ces valeurs, il est possible de recalculer les constantes de complexation dans les différents électrolytes. Leurs valeurs moyennes, comparée à celle trouvées précédemment, sont récapitulées dans le tableau II.15.

Tableau II.15 : Comparaison des constantes de complexation de l'europium par les ligands 14 et 15 en tenant compte ou non des variations de force ionique.

Ligand	Sans prise en compte des variations de force ionique		Avec prise en compte des variations de force ionique	
	log β_{11}	log K_{21}	log β_{11}	log K_{21}
14	2,20 ± 0,04	-	2,0 - 2,1	-
15	4,6 ± 0,2	2,2 ± 0,3	5,5 - 5,8	1,5 - 1,6

Comme cela était prévisible, on constate que les variations de force ionique ont d'autant plus d'effet que les espèces sont chargées. Ainsi, si les valeurs obtenues dans le cas des ligands mono anioniques sont très proches, elles semblent sous-estimées dans le cas des ligands plus chargés.

4.5. Détermination des constantes de complexation par spectrophotométrie UV-visible : Validation des résultats obtenus par CE-ICP/MS

Afin de valider les résultats obtenus par la méthode CE-ICP/MS mise au point, l'affinité de deux ligands vis-à-vis de l'europium a été déterminée par spectrophotométrie UV-visible. Les études ont été réalisées à l'Institut de Chimie Moléculaire de l'Université de Bourgogne, Dijon. La validation a été réalisée sur deux ligands. Les ligands choisis sont le ligand 1 pour lequel aucune affinité pour l'europium n'a été détectée en CE-ICP/MS et le ligand 17 formant un complexe de stœchiométrie métal : ligand 1 : 1 dans les conditions expérimentales.

Les titrages ont été suivis par spectrophotométrie UV-Visible entre 250 et 500 nm dans un milieu méthanol/tampon formiate 25 mM pH 3,7 10/90 (v/v) en maintenant la concentration en chlorures égale à 0,1 M et le pH à 3,8 afin de reproduire au plus près les conditions expérimentales utilisées lors des mesures électrophorétiques.

D'après les résultats obtenus par la méthode CE-ICP/MS, les oxydes de phosphine et les esters de phosphonate présentent peu ou pas d'affinité pour l'europium dans un milieu hydro-organique composé à 90 % d'eau. Ces résultats sont confirmés par l'étude spectrophotométrique réalisée sur le ligand 1. En effet, aucune variation spectrale significative n'est observée lors de l'addition d'europium dans les conditions expérimentales.

Le ligand 1 présente donc une faible affinité pour l'europium dans les conditions expérimentales.

D'après les résultats obtenus par la méthode CE-ICP/MS, le ligand 17 forme un complexe de stœchiométrie métal : ligand 1 : 1 ; la constante apparente de complexation associée étant la suivante : log β_{11} = 3,2 ± 0,1. Ce résultat est confirmé par l'étude spectrophotométrique menée sur ce ligand. En effet, des variations spectrales (élargissement progressif, effet bathochrome subi par la bande d'absorption maximale du ligand à 315 nm) sont observées lors de l'addition d'europium dans les conditions expérimentales ce qui démontre une complexation (Figure II.23). Le traitement des différents spectres par le logiciel Specfit met en évidence la formation d'un complexe de stœchiométrie métal : ligand 1 : 1. La constante apparente de complexation associée à l'équilibre de formation de ce complexe est la suivante : log β_{11} = 3,1 ± 0,2. La valeur obtenue est donc en parfait accord avec celle déterminée par la méthode CE-ICP/MS. Par ailleurs, 2 mL d'une solution de ce ligand à 0,35 mM soit 150 µg de ligand sont nécessaires pour réaliser cette étude.

Figure II.23 : Titrage spectrophotométrique du ligand 17.

Conditions : solvant : méthanol/acide formique en solution aqueuse, 25 mM, pH 3,7 10/90, I = 0,1 M (NaCl), T = 298,2 (2), $[17]_{tot}$ = 0,35 mM, $[EuCl_3]_{tot}$ = 4,04 mM, V_0 = 2 mL, l = 1 cm. Spectres corrigés par la dilution : 1-10 : 0,29, 0,58, 0,87, 1,16, 1,74, 2,32, 3,48, 4,64, 6,38, 8,7 équivalent d'Eu^{3+}.

L'accord des résultats obtenus par spectrophotométrie UV-Visible et par CE-ICP/MS permet donc de valider la méthode CE-ICP/MS mise au point pour la spéciation de l'europium tant sur l'aspect qualitatif (nombre et stœchiométrie des espèces en présence) que l'aspect quantitatif (détermination de constantes apparentes de complexation avec précision).

5. CONCLUSION

Dans ce chapitre, le couplage CE-ICP/MS a été utilisé pour le criblage de la bibliothèque de ligands phosphorés mise à disposition par le CEA de Saclay et le Laboratoire de Conception et Application de Molécules Bioactives de Strasbourg, à raison de quelques milligrammes chacun.

Nous avons montré que le couplage mis au point permet la détection de ces ligands par l'intermédiaire du phosphore de manière très sensible. Les limites de détection ICP/MS obtenues sont inférieures à 40 µM. Les études de spéciation par CE-ICP/MS ont été réalisées à l'échelle du nanogramme, où les techniques classiques présentent un manque de sensibilité.

De ce fait, ce résultat nous a permis de proposer une méthode de détermination des constantes de complexation par électrophorèse d'affinité où le ligand à étudier constitue l'échantillon et où l'europium se trouve dans l'électrolyte. Ceci constitue un double avantage :

- d'une part, une réduction de la consommation d'échantillon d'un facteur pouvant aller jusqu'à 10000 environ par rapport à la spectrophotométrie UV-Visible, par exemple. Les consommations d'échantillon et d'électrolyte sont respectivement de quelques nanolitres et de quelques microlitres, constituant ainsi un avantage pour un criblage peu consommateur de matière.
- d'autre part, une réduction significative des temps d'analyse, due à l'utilisation d'électrolytes identiques pour tous les ligands analysés. En effet, la principale limitation de l'électrophorèse capillaire est de posséder des temps de conditionnement et de rinçage très supérieurs aux temps d'analyse.

Nous avons également montré que l'affinité de ces ligands peut être rapidement évaluée par analyse des variations de mobilité électrophorétique dans 2 électrolytes, l'un ne comportant pas d'europium et l'autre contenant 10 mM de ce lanthanide. Cette étape ne nécessite que 2 à 15 ng de composé et environ deux heures d'analyse, étapes de conditionnement du capillaire comprises. Pour un criblage encore plus rapide, le temps consacré au conditionnement du capillaire pourrait être réduit par l'utilisation de capillaires greffés de façon permanente ou encore de modificateurs de flux dits « scorpions ».

Le criblage des ligands nous a permis de sélectionner les plus efficaces dont l'affinité a été mesurée. Nous avons montré qu'en milieu majoritairement aqueux, les oxydes de phosphine et les esters de phosphonate ne complexent que très faiblement l'europium. De plus, nous avons

montré que dans les conditions expérimentales, il est nécessaire que le ligand possède des fonctions présentant une acidité relativement forte pour observer une complexation.

Pour les ligands présentant une affinité pour l'europium, une étude plus approfondie a montré que ces ligands possèdent des stœchiométries et des affinités multiples et variées vis-à-vis de l'europium. Globalement, les ligands présentant une fonction complexante forment des complexes de stœchiométrie 1 : 1. Dans le cas des ligands présentant plusieurs fonctions complexantes, nous avons montré que ceux-ci semblaient conduire à la formation de complexes successifs de stœchiométrie métal : ligand 1 : 1 et 2 :1. Cependant, seul le ligand bisphosphonate (15) a permis la détermination de ces deux constantes. Dans les autres cas, il semble que les variations de mobilité électrophorétique engendrées par l'hypothèse d'un second complexe ne soient pas suffisantes pour améliorer la corrélation. Par conséquent, les isothermes de complexation ont également été modélisées selon l'hypothèse d'un complexe unique et de stœchiométrie 1 : 1.

L'ensemble de ces ligands a été positionné sur une échelle d'affinité pour faciliter la comparaison (Figure II.24).

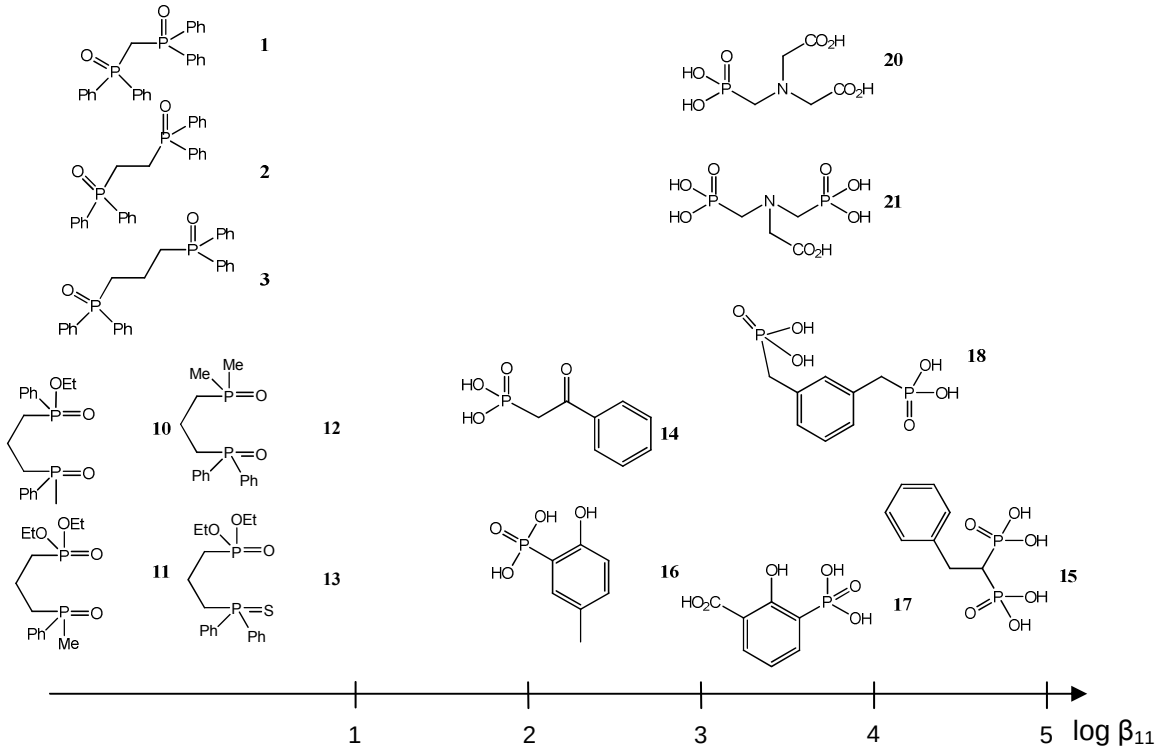


Figure II.24 : Constantes de complexation des ligands étudiés dans ce travail.

L'approche a été comparée à l'étude par titrage spectrophotométrique de deux ligands, l'un présentant peu d'affinité pour l'europium et l'autre formant un complexe de stœchiométrie 1 :

1 dans les conditions expérimentales. Les résultats obtenus ont montré un excellent accord entre les deux méthodes, ce qui démontre le potentiel de cette méthode pour les études de spéciation.

La méthode de spéciation mise au point par CE-ICP/MS apparaît donc comme une alternative aux méthodes classiques pour étudier des systèmes dont l'un des partenaires est disponible en faible quantité, ce qui est compatible avec l'étude de systèmes dont l'un des protagonistes est disponible en faible quantité.
De plus, l'utilisation de la détection multi-élémentaire par spectrométrie de masse permet d'envisager d'étendre la méthode à d'autres classes de ligand présentant des hétéroatomes autre que le phosphore, tels que l'iode.

6. REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

[1] J. Petit, J. Aupiais, S. Topin, V. Geertsen, C. Beaucaire, M. Stambouli, Electrophoresis, 31 (2010) 355-363.

[2] J. Petit, V. Geertsen, C. Beaucaire, M. Stambouli, J. Chromatogr. A, 1216 (2009) 4113-4120.

[3] S. Ehala, E. Makrlík, P. Toman, V. Kašička, Electrophoresis, 31 (2010) 702-708.

[4] S. Topin, J. Aupiais, N. Baglan, T. Vercouter, P. Vitorge, P. Moisy, Anal. Chem., 81 (2009) 5354-5363.

[5] M. Girardot, P. Gareil, A. Varenne, Electrophoresis, 31 (2010) 546-555.

[6] S. Ehala, V. Kašička, E. Makrlík, Electrophoresis, 29 (2008) 652-657.

[7] S. Ehala, J. Dybal, E. Makrlík, V. Kašička, J. Chromatogr. A, 1216 (2009) 3660-3665.

[8] S. Safi, Z. Asfari, M. Leroy, C. Basset, E. Quéméneur, C. Vidaud, A. Hagège, Analyst, 134 (2009) 256-260.

[9] L. Yi, L. Xiaomei, F. Hui, Z. Yingcheng, L. Dan, W. Ying, J. Chromatogr. A, 1143 (2007) 284-287.

[10] T. Le Saux, A. Varenne, F. Perreau, L. Siret, S. Duteil, L. Duhau, P. Gareil, J. Chromatogr. A, 1132 (2006) 289-296.

[11] S. Ehala, J. Míšek, I.G. Stará, I. Starý, V. Kašička, J. Sep. Sci., 31 (2008) 2686-2693.

[12] R. Plasson, H. Cottet, Anal. Chem., 78 (2006) 5394-5402.

[13] L. M. Lewis, L. J. Engle, W. E. Pierceall, D. E. Hughes, K. J. Karen Joy Shaw, J. Biomol. Screen., 9 (2004) 303-308.

[14] J. Horvath, V. Dolnik, Electrophoresis, 22 (2001) 644-655.

[15] S. Hjertén, J. Chromatogr., 347 (1985) 191-198.

[16] M. Nakatani, A. Skibukawa, T. Nakagawa, J. Chromatogr. A, 661 (1994) 315-321.

[17] C. S. Robb, J. Liq. Chrom. Relat. Tech., 30 (2007) 729-759.

[18] Y. Okamoto, F. Kitagawa, K. Otsuka, Electrophoresis, 27 (2006) 1031-1040.

[19] D. Bohoyo, I. Le Potier, C. Rivière, H. Klafki, J. Wiltfang, M. Taverna, J. Sep. Sci., 33 (2010) 1090-1098.

[20] R. Haselberg, L. van der Sneppen, F. Ariese, W. Ubachs, C. Gooijer, G. J. de Jong, G. W. Somsen, Anal. Chem., 81 (2009) 10172-10178.

[21] S. Amon, A. Plematl, A. Rizzi, Electrophoresis, 27 (2006) 1209-1219.

[22] H. Katayama, Y. Ishihama, N. Asakawa, Anal. Chem., 70 (1998) 5272-5277.

[23] J. S. Fritz, S. A. Steiner, J. Chromatogr. A, 934 (2001) 87-93.

[24] R. Nehme, C. Perrin, H. Cottet, M.-D. Blanchin, H. Fabre, J. Chromatogr. A, 1218 (2011) 3537-3544.

[25] B. Jung, J. Caslavska, W. Thormann, J. Chromatogr. A, 1206 (2008) 26-32.

[26] Y. Wang, P. L. Dubin, Anal. Chem., 71 (1999) 3463-3468.

[27] R. Haselberg, V. Brinks, A. Hawe, G. J. de Jong, G. W. Somsen, Anal Bioanal Chem, 400 (2011) 295-303.

[28] S. Amon, A. Plematl, A. Rizzi, Electrophoresis, 27 (2006) 1209-1219.

[29] R. Ramautar, E. Nevedomskaya, O. A. Mayboroda, A. M. Deelder, I. D. Wilson, H. G. Gika, G. A. Theodoridis, G. W. Somsena, G. J. de Jong, Mol. BioSyst., 7 (2011) 194-199.

[30] R. Haselberg, G. J. de Jong, G. W. Somsen, Anal. Chim. Acta, 678 (2010) 128-134.

[31] M. E. Roche, M. A. Anderson, R. P. Oda, B. L. Riggs, M. A. Strausbauch, R. Okazki, P. J. Wettstein, J. P. Landers, Anal. Biochem., 258 (1998) 87-95.

[32] R. Sebastiano, C. Gelfi, P. G. Righetti, A. Citterio, J. Chromatogr. A, 894 (2000) 53-61.

[33] P. Janos, J. Chromatogr. A, 1037 (2004) 15-28.

[34] K. L. Rundlett, D. W. Armstrong, Electrophoresis, 18 (1197) 2194-2202.

[35] M. T. Bowser, D. D. Y. Chen, Electrophoresis, 19 (1998) 383-387.

[36] M. T. Bowser, D. D. Y. Chen, Anal. Chem., 70 (1998) 3261-3270.

[37] D. A. Deranleau, J. Am. Chem. Soc., 91 (1969) 4050-4054.

[38] J. Chamoun, A. Hagège, J. Anal. At. Spectrom., 20 (2005) 1030-1034.

[39] Y. Marcus, Ion properties, Ed. Marcel Dekker, New York, (1997).

[40] A. E. Martell, R. M. Smith, R. J. Motekaitis, NIST Critically Selected Stability Constants of Metal Complexes Database, ver. 8.0, NIST Standard Reference Database No. 46, Gaithersburg, MD, 2004.

[41] L. D. Pettit, K. J. Powell, The IUPAC Stability Constants Database, ver. 5.84, Academic Software and IUPAC, Otley, 2010.

[42] M. Martin-Jouet, A. Hagège, M. J. F. Leroy, J. Chromatogr. A, 946 (2002) 255-263.

Chapitre 3 :

Extraction solide/liquide d'ions lanthanides par des copolymères

1. INTRODUCTION

Dans la recherche de polymères présentant une sélectivité pour les lanthanides, la stratégie adoptée a consisté à réaliser une bibliothèque composée de près d'une cinquantaine de polymères obtenus en synthèse parallèle, dans le but d'évaluer l'influence des différents facteurs intervenant dans la synthèse d'un polymère (monomère, agent de réticulation). Ces différents polymères ont été synthétisés par le Laboratoire des Systèmes Chimiques Fonctionnels de Strasbourg. Notre démarche a consisté à développer une méthodologie adaptée au criblage de cette bibliothèque, notamment en termes de quantités requises et de sensibilité, permettant de sélectionner les candidats les plus prometteurs pour l'extraction solide/liquide des lanthanides. A l'issue du criblage, ces candidats ont alors été caractérisés en termes d'affinité pour un lanthanide donné, à savoir l'europium.

Ainsi, après avoir rappelé brièvement le principe de l'extraction solide/liquide et les différents composants d'un polymère influençant les propriétés d'extraction de ce dernier, nous présenterons le criblage des polymères en fonction de leur affinité pour l'europium. De par ce criblage, les polymères les plus prometteurs seront sélectionnés. Dans une troisième partie, une étude visant à accéder aux capacités d'extraction des polymères sera réalisée pour les plus affins de l'europium. Dans une quatrième et dernière partie, la sélectivité $La^{3+}/Eu^{3+}/Lu^{3+}$ sera évaluée pour les polymères à base d'un des trois monomères acides retenus lors de l'étape du criblage en utilisant le *tetra*acrylate pentaérythritol comme agent de réticulation.

2. PRINCIPE DE L'EXTRACTION SOLIDE/LIQUIDE

Tous les systèmes étudiés en extraction solide/liquide ne présentent pas le même comportement. Les phénomènes d'adsorption peuvent être abordés par leur comportement isotherme. On distingue deux types d'adsorption qui diffèrent selon la nature des interactions mises en jeu : l'adsorption physique et l'adsorption chimique. L'adsorption physique est un phénomène réversible impliquant des interactions faibles de type Van der Walls entre le soluté et le solide. Plusieurs couches peuvent être adsorbées à la surface du solide au cours de ce processus d'adsorption. L'adsorption chimique, quant à elle, implique des liaisons fortes

entre le soluté et le solide. Une seule couche est, en général, adsorbée à la surface du solide au cours de ce phénomène.

2.1. Formes des isothermes

La relation entre la quantité d'un soluté adsorbé à la surface d'un solide et l'activité de ce dernier en phase liquide en contact avec le solide, à une température donnée, est appelée isotherme d'adsorption. Les isothermes d'adsorption, représentent par la quantité de soluté adsorbé par unité de masse de solide en fonction de la concentration en solution de ce même soluté à l'équilibre. Ils constituent une aide à la description des phénomènes d'adsorption.

Les isothermes d'adsorption présentent, en général, trois zones, chacune correspondant à un mode de fixation particulier sur le solide (Figure III.1). La première zone représente l'adsorption du soluté jusqu'à formation d'une monocouche, la surface et les pores du solide étant totalement recouvert. La seconde zone correspond à l'adsorption du soluté sur la monocouche, soit en multicouche. La troisième coïncide avec la pénétration du solvant dans les pores du solide.

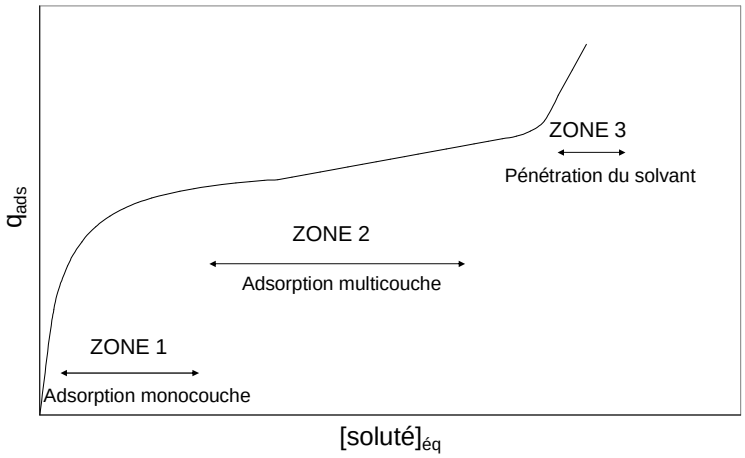


Figure III.1 : Allure générale d'une isotherme d'adsorption.

La forme des isothermes suggère le type d'interaction entre le soluté et le solide. Giles *et al.* [1] ont proposé une classification des isothermes selon leur forme : l'isotherme de type « C » (partage constant), l'isotherme de type « L » (Langmuir) et l'isotherme de type « S » (sigmoïde). La figure III.2 décrit les différents types d'isotherme.

Figure III.2 : Classification des isothermes selon Giles *et al.* [1] adapté de [2].

- Isotherme de type « C »

Les isothermes de type « C » (figure III.2 (a)) sont représentées sous la forme d'une droite passant par l'origine, caractéristique d'une affinité constante du soluté pour le solide. Le rapport entre la concentration du soluté adsorbé et celle en équilibre en solution, appelé coefficient de distribution ou de partage, est constant quelle que soit la concentration initiale en soluté.

- Isotherme de type « L » et « H »

Ce type d'isotherme est le plus fréquemment rencontré. Les isothermes de type « L » (figure III.2 (b)) sont concaves ce qui reflète une diminution du rapport entre la concentration du soluté adsorbé et celle en équilibre en solution lorsque la concentration augmente. Cela suggère une saturation progressive des sites libres au fur et à mesure de l'adsorption, et donc une capacité d'adsorption par le solide limitée.

Les isothermes de type « H » (figure III.2 (c)) ne sont qu'un cas particulier des isothermes de type « L » et présentent une pente à l'origine très forte, ce qui indique une très forte affinité du soluté pour le solide.

- Isotherme de type « S »

Les isothermes de type « S » (figure III.2 (d)) sont représentées par une courbe sigmoïde présentant un point d'inflexion. Ce type d'isotherme est le résultat d'au moins deux mécanismes opposés. Il indique une affinité variable du solide pour le soluté et décrit soit une adsorption coopérative (les molécules adsorbées favorisent l'adsorption ultérieure des molécules suivantes), soit la présence d'un compétiteur défavorable à l'interaction

soluté/solide (interaction soluté/compétiteur ou compétiteur/solide). A l'épuisement du compétiteur, l'adsorption du soluté est alors favorisée.

2.2. Modélisation des isothermes

Plusieurs modèles théoriques ou empiriques peuvent être utilisés pour caractériser les propriétés de la reconnaissance et la distribution des sites d'adsorption (hétérogénéité des sites d'adsorption). Chaque modèle exprime la relation entre la quantité adsorbée et la quantité en solution du soluté M à l'équilibre dans un solvant à une température donnée et repose sur différentes hypothèses quant à la distribution des sites.
Les deux modèles les plus couramment utilisés sont le modèle de Langmuir et le modèle de Freundlich. Ils sont employés uniquement pour la description des isothermes de type « L » ou de type « H ». Le modèle de Langmuir n'est valable que dans le cas d'une adsorption monocouche. Quant au modèle de Freundlich, il peut être appliqué aussi bien dans le cas d'une adsorption monocouche que dans celui d'une adsorption multicouche.

2.2.1. Modèle de Langmuir

Le modèle de Langmuir repose sur quatre hypothèses : (i) le solide présente une capacité d'adsorption limitée (ii) chaque site est équivalent (de même énergie), (iii) chaque site ne retient qu'une seule molécule de soluté (adsorption monocouche) et (iv) l'occupation d'un site ne dépend pas de l'occupation des sites voisins (chaque site est stériquement indépendant). Considérant une surface présentant une capacité maximale d'extraction q_m (en mol.g^{-1}) avec une constante d'extraction K (en M^{-1}), l'isotherme de Langmuir est définie par la relation :

$$q_{ads} = \frac{q_m \,.\, K \,.\, [soluté]_{éq}}{1 + K \,.\, [soluté]_{éq}} \qquad \text{(Eq. 1)}$$

Avec q_{ads} : Quantité de soluté adsorbé par unité de masse de solide (mol.g^{-1})

$[soluté]_{éq}$: Concentration du soluté en solution à l'équilibre (M)

Un traitement classique des données de l'isotherme consiste à tracer le rapport $\frac{q_{ads}}{[soluté]_{éq}}$ en fonction de q_{ads} pour donner la droite de Scatchard correspondante. A partir de l'équation de la droite, il est possible de déterminer la constante d'extraction ainsi que la capacité maximale d'extraction du solide.

$$\frac{q_{ads}}{[soluté]_{éq}} = K \,.\, q_m - K \,.\, q_{ads} \qquad \text{(Eq. 2)}$$

Ainsi, K correspond à l'opposé de la pente et q_m est obtenue à partir du rapport « ordonnée à l'origine sur pente ».

Comme cela a été évoqué dans le Chapitre II (paragraphe 2.2.2.1), le traitement par linéarisation doit être considéré avec précaution car le poids statistique donné aux différents points de la droite diffère. Il est donc souvent préférable d'utiliser des méthodes d'ajustement des paramètres par régression non linéaire.

Dans certains cas, la linéarisation de l'équation de l'isotherme ne conduit pas à une droite, mais à une courbe convexe.

La non-linéarité observée peut traduire l'existence de plusieurs classes de sites d'adsorption. Il est alors possible de généraliser l'isotherme de Langmuir par la relation :

$$q_{ads} = \sum_{i=1}^{p} \frac{q_{m_i} \,.\, K_i \,.\, [soluté]_{éq}}{1 + K_i \,.\, [soluté]_{éq}} \qquad \text{(Eq. 3)}$$

Avec p : Nombre de classes de sites d'adsorption

q_{mi} : Capacité d'extraction des sites i

K_i : Constante d'extraction associée aux sites i.

Cependant, un ajustement parfait de ce modèle ne peut démontrer à priori l'existence de plusieurs classes de sites d'adsorption car toute isotherme concave qui progresse asymptotiquement vers un maximum peut être ajustée par une équation de Langmuir à p sites.

Pour les solides présentant deux types de sites d'adsorption, il est possible de délimiter deux régions linéaires représentant d'une part, des sites de reconnaissance de haute affinité et d'autre part, des sites de reconnaissance de basse affinité (figure III.3).

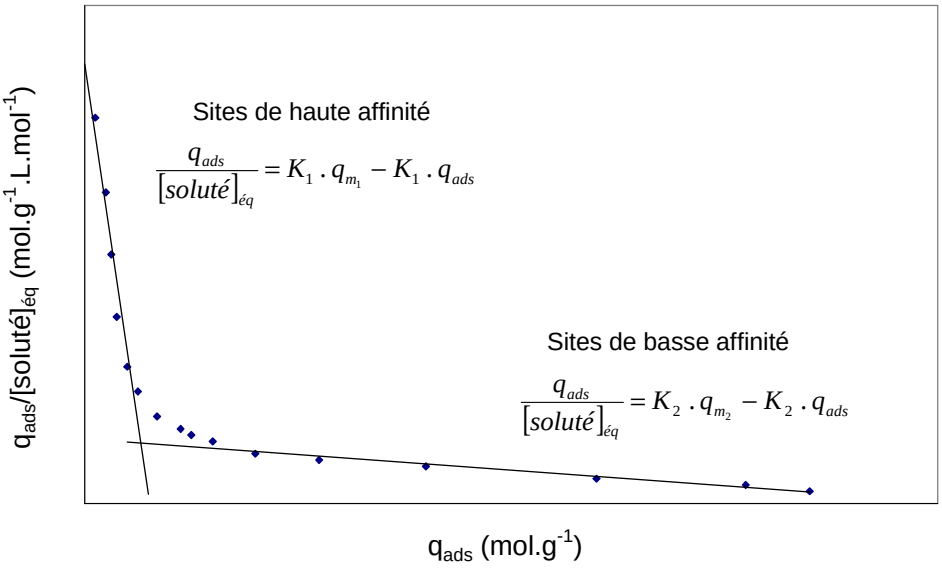


Figure III.3 : Exemple de représentation de Scatchard obtenue pour un solide présentant deux classes de sites d'adsorption.

Toutefois, la détermination graphique des différents paramètres (capacité maximale d'extraction et constante d'extraction associées à chaque site) dépend de la délimitation des différentes régions linéaires. Le modèle dit de bi-Langmuir peut être alors utilisé par convergence des données expérimentales et des données théoriques déterminées à l'aide de l'équation suivante :

$$q_{ads} = \frac{q_{m_1} . K_1 . [soluté]_{éq}}{1 + K_1 . [soluté]_{éq}} + \frac{q_{m_2} . K_2 . [soluté]_{éq}}{1 + K_2 . [soluté]_{éq}} \qquad \text{(Eq. 4)}$$

Cependant, il semble difficile d'utiliser le modèle de bi-Langmuir lors de la comparaison de polymères présentant différentes concentrations en soluté.

2.2.2. Modèle de Freundlich

Le modèle de Freundlich est empirique et il repose sur l'hypothèse d'une distribution continue de l'énergie des sites d'adsorption, prenant en compte l'hétérogénéité de ces derniers.

L'équation de l'isotherme de Freundlich est donnée par la relation :

$$q_{ads} = a \,.\, [soluté]_{éq}^{m} \qquad \text{(Eq. 5)}$$

Avec q_{ads} : Quantité de soluté adsorbé par unité de masse de solide (mol.g^{-1})

$[soluté]_{éq}$: Concentration du soluté en solution à l'équilibre (M)

a : Facteur pré-exponentiel

m : Index d'hétérogénéité

Le facteur pré-exponentiel a rend compte de la capacité ainsi que de l'affinité du polymère ($a = q_m \times K$).

L'index d'hétérogénéité m est compris entre 0 et 1. Plus il est proche de 1, plus le système présente des sites d'adsorption homogènes avec une distribution étroite des constantes d'affinité. Dans le cas où la valeur de m tend vers 1, l'isotherme devient linéaire.

D'après l'équation de ce modèle, l'isotherme ne peut atteindre un plateau de saturation contrairement au modèle de Langmuir.

L'équation de l'isotherme de Freundlich peut être linéarisée de la façon suivante:

$$\log q_{ads} = \log a + m \,.\, \log [soluté]_{éq} \qquad \text{(Eq. 6)}$$

Le tracé de log q_{ads} en fonction de log $[soluté]_{éq}$ permet de déterminer les différents paramètres (figure III.4). Le modèle de Freundlich n'est valable qu'à faible concentration en soluté, zone où le tracé est linéaire, compte tenu du fait que l'isotherme de Freundlich ne peut atteindre un plateau de saturation. Le tracé log-log permet de déceler la région de concentrations où le modèle est valable.

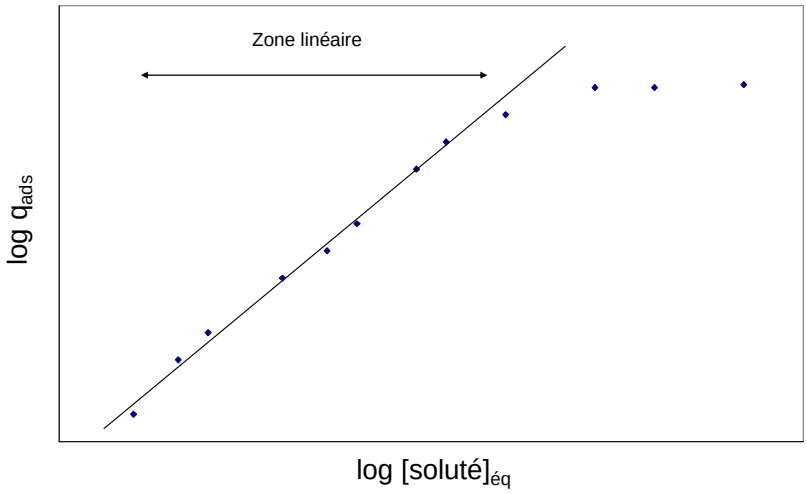


Figure III.4 : Exemple de linéarisation de l'isotherme de Freundlich.

Les paramètres a et m permettent de calculer le nombre de sites d'adsorption N_i présentant une constante d'extraction K_i selon l'équation :

$$N_i = 2{,}3 \,.\, a \,.\, m \,.\, \left(1 - m^2\right) .\, K_i^{-m} \qquad \text{(Eq. 7)}$$

Il est alors possible de tracer la courbe de distribution de l'affinité représentant N (K) = f (log K) (figure III.5).

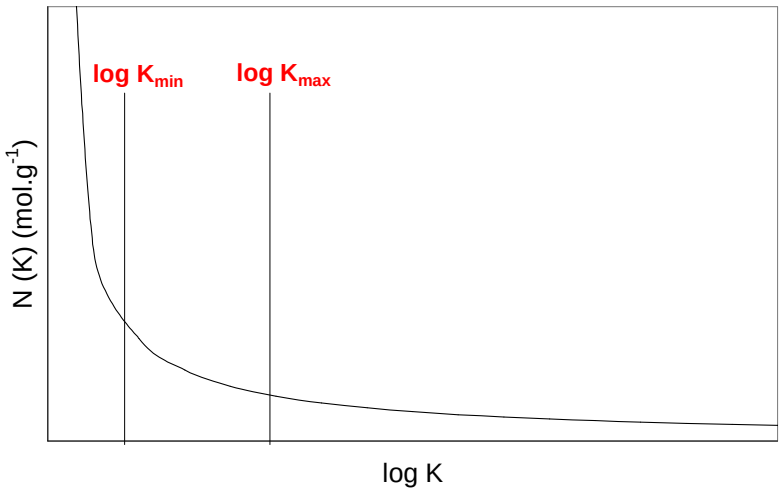


Figure III.5 : Exemple de courbe de distribution des constantes d'association.

La distribution de l'affinité est déterminée sur toute une gamme de constantes d'extraction. Toutefois, en pratique, la distribution des constantes d'extraction est limitée. Les limites de constantes d'extraction sont données par les limites de concentrations à l'équilibre du soluté, utilisées lors de l'établissement de l'isotherme :

$$K_{\min} = \frac{1}{[soluté]_{éq\ \max}} \qquad \text{(Eq. 8)}$$

$$K_{\max} = \frac{1}{[soluté]_{éq\ \min}} \qquad \text{(Eq. 9)}$$

La surface sous la courbe entre les limites log K_{min}et log K_{max} représente le nombre de sites dont les constantes d'extraction associées sont comprises entre K_{min} et K_{max}. Ce nombre peut être déterminé par l'intégration de la fonction N (K) entre log K_{min} et log K_{max}, conduisant à l'équation suivante :

$$N_{moy\,(K_{\min} - K_{\max})} = a\,.\,(1 - m^2)\,.\,(K_{\min}^{-m} - K_{\max}^{-m}) \qquad \text{(Eq. 10)}$$

La constante d'extraction $K_{A\,moy\,(K_{\min} - K_{\max})}$ associée au nombre moyen de sites dont les constantes d'extraction sont comprises entre K_{min} et K_{max} est donnée par l'équation :

$$K_{A\,moy\,(K_{\min} - K_{\max})} = \left(\frac{m}{m-1}\right).\left(\frac{K_{\min}^{1-m} - K_{\max}^{1-m}}{K_{\min}^{-m} - K_{\max}^{-m}}\right) \qquad \text{(Eq. 11)}$$

Cette équation est obtenue en intégrant entre K_{min} et K_{max} le produit du nombre de sites N_i et de la constante d'extraction K_i correspondante, divisé par le nombre de sites dont les constantes d'extraction sont comprises entre K_{min} et K_{max}.

Si K_{min} et K_{max} sont identiques pour différents solides, il est alors possible de comparer leurs constantes d'association moyennes, $K_{A\,moy\,(K_{\min} - K_{\max})}$, et leurs nombres moyens de sites d'adsorption, $N_{moy\,(K_{\min} - K_{\max})}$.

3. INFLUENCE DES DIFFERENTS COMPOSANTS D'UN POLYMERE

Cette partie est consacrée à la présentation des différents composants d'un polymère pouvant avoir une influence sur les propriétés d'extraction de ce dernier.

3.1. Solvant

Le solvant porogène permet de créer un réseau macro poreux à l'intérieur du polymère [5 - 7]. Dès lors, la diffusion des molécules cibles est facilitée. Sans porogène, les polymères sont denses et solides, les sites de reconnaissance étant plus difficiles à atteindre [6].
Selon la nature du solvant et de la quantité engagée dans la synthèse du polymère, la taille et la structure des pores seront différentes [8]. Toutefois, ces différences ne semblent pas avoir d'influence significative sur la sélectivité des polymères. La surface spécifique, le diamètre et le volume des pores reflètent l'influence du solvant. Le solvant doit être capable de solubiliser le monomère ainsi que la molécule cible. Les paramètres de ce dernier telles que sa constante diélectrique ou sa capacité à former des liaisons hydrogènes vont avoir une influence sur l'existence, le type et la force d'interactions entre les monomères fonctionnels et la molécule cible. Les solvants possédant une constante diélectrique faible favoriseront les interactions ioniques ou dipôle/dipôle. La capacité donneur ou accepteur de liaison hydrogène favorisera les interactions de ce type entre la molécule cible et le monomère fonctionnel.
Le solvant doit favoriser les interactions molécule cible - monomère ainsi que la stabilité du complexe de pré-polymérisation formé. Lorsque des liaisons hydrogènes ou des liaisons ioniques sont engagées dans le complexe de pré polymérisation, l'utilisation de solvants non protiques et peu polaires seront préférés pour éviter la compétition entre le monomère et le solvant et donc la déstabilisation du complexe de pré polymérisation en cas d'utilisation de solvant accepteur ou donneur de liaison hydrogène [9, 10]. L'utilisation d'un solvant accepteur ou donneur de liaison hydrogène dans ce cas, engendrera la formation d'un polymère moins sélectif de par la diminution des interactions entre la molécule cible et le polymère.

Il faut également noter que la reconnaissance de la molécule cible est plus efficace dans le solvant de polymérisation. En effet, le même structure microscopique est adoptée lors de la reconnaissance que celle adoptée lors de la synthèse ; les interactions entre la molécule cible et les monomères fonctionnels étant alors reproduites à l'identique [11, 12]. Le comportement

du polymère est donc influencé par le solvant ; on parle alors d'effet d'impression du solvant porogène [13].

3.2. Agent de réticulation

De nombreux agents de réticulation peuvent être engagés notamment le divinylbenzène (DVB), l'éthylène glycol diméthacrylate (EGDMA) ou encore le (N,N')-alkylenbis(acrylamide). L'agent de réticulation permet d'assurer la stabilité mécanique du polymère imprimé. Il affecte non seulement la structure tridimensionnelle du polymère mais aussi la sélectivité de ce dernier. Une structure rigide du polymère est nécessaire pour la conservation des sites de reconnaissance [14]. Toutefois, une certaine flexibilité de l'ensemble des chaînes pour l'accès aux sites de reconnaissance avec des cinétiques rapides est également nécessaire. Pour un polymère hautement réticulé, la flexibilité des chaînes est amoindrie et donc les sites de reconnaissance sont moins accessibles. Généralement, le pourcentage de l'agent de réticulation est supérieur à 80 % (mol) dans le polymère. La conservation de la forme et de la taille de la cavité dépend de la nature et du taux de l'agent de réticulation [9, 10, 15]. Le choix de l'agent de réticulation sera donc un compromis entre la rigidité de la structure et la flexibilité des chaînes.

Kala *et al.* ont comparé l'influence de la nature de l'agent de réticulation sur la reconnaissance de l'Er^{3+} d'un polymère imprimé [16]. Différentes combinaisons monomère fonctionnel/agent de réticulation styrène/divinylbenzène, 2-hydroxyéthylméthacrylate/ éthylène glycol diméthacrylate ou méthylméthacrylate/éthylène glycol diméthacrylate ont été utilisées pour la copolymérisation. En termes de sélectivité, la séquence suivante est observée : styrène/divinylbenzène > 2-hydroxyéthylméthacrylate/éthylène glycol diméthacrylate > méthylméthacrylate/éthylène glycol diméthacrylate. Cette séquence est attribuée à la différence de rigidité des polymères, due à la présence de cycles aromatiques dans le polymère styrène-DVB par rapport aux chaines aliphatiques présentes dans les deux autres polymères. Ils montrent ainsi que plus la matrice est rigide, plus la sélectivité est élevée.

Garcia *et al.* ont étudié l'influence du ratio monomère/agent de réticulation pour des polymères imprimés pour la reconnaissance du Gd^{3+} [17]. Ils ont étudié l'influence de ce dernier à travers des polymères synthétisés à partir d'une composition acrylate/divinylbenzène/styrène variant entre 14/24/62 et 18/85/0, la quantité de Gd^{3+} et de solvant étant fixes. La sélectivité des polymères augmente lorsque le pourcentage de divinylbenzène augmente, jusqu'à prendre une valeur de 3,5. Cela s'expliquerait par le fait que

la rigidité du polymère augmente, et donc une conservation de la forme et de la taille de la cavité. Ils montrent alors que plus la matrice est rigide, plus la sélectivité est élevée. Ainsi, la diminution du taux de réticulation conduit à une stabilité physique moindre des cavités formées lors de l'impression.

Par ailleurs, la nature de l'agent de réticulation conditionne la mouillabilité du polymère imprimé par les solvants des différents échantillons. Il a été montré que les résines commerciales polyvinylpyridine-divinylbenzène extraient les lanthanides, mais avec des constantes d'extraction faible [18]. Cela provient probablement du fait de l'hydrophobicité du divinylbenzène. Garcia *et al.* ont alors remplacé le divynylbenzène par de l'éthylène glycol diméthacrylate ou par le (N,N')-alkylènebis(acrylamide) (1, 2 ou 3) dans le but d'obtenir un polymère moins hydrophobe pour la préparation de polymère imprimé pour la reconnaissance du Gd^{3+} [17].

La proportion d'agent de réticulation présente dans le mélange de pré polymérisation est fonction de $n_{monomère}/n_{agent\ de\ réticulation} \sim 1/5$ (mol/mol), ce qui signifie que l'agent de réticulation est en excès dans le matériau fini pour optimiser cet effet de stabilité du polymère. Le pourcentage massique de l'agent de réticulation est supérieur à 80 %. Un polymère imprimé réticulé aboutit à un matériau rigide. De ce fait, les empreintes sont conservées, mais tout en gardant une flexibilité de l'ensemble des chaînes pour l'accès aux sites de reconnaissance. En revanche, pour un polymère hautement réticulé, la flexibilité des chaînes est amoindrie et donc les sites de reconnaissance sont moins accessibles.

3.3. Monomère

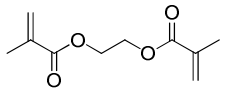
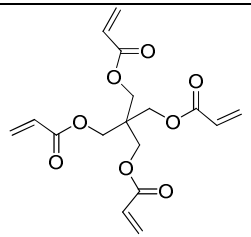
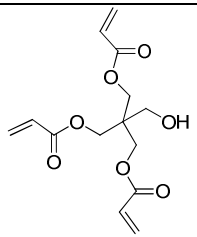
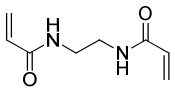
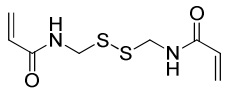
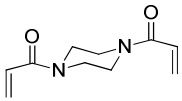
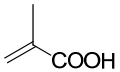
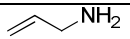
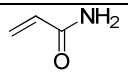
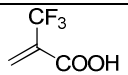
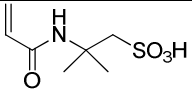
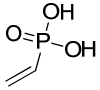
Les monomères sont choisis en fonction de leur capacité à interagir avec les groupements fonctionnels du template [9, 10, 15]. Dans le cas des empreintes ioniques, les monomères utilisés doivent également satisfaire au nombre et à la géométrie de coordination de l'ion métallique. Le nombre de points d'interaction joue un rôle important dans la reconnaissance ionique [17]. En jouant sur les différentes caractéristiques fonctionnelles des différents monomères, il est possible d'améliorer l'affinité et la sélectivité du polymère imprimé pour le template.

4. PRESENTATION DES POLYMERES

Quarante-huit polymères ont été synthétisés par le Laboratoire des Systèmes Chimiques Fonctionnels de Strasbourg, à raison de 500 mg chacun. Le tableau III.1 rassemble l'ensemble des polymères synthétisés.

Les agents de réticulation ont été choisis de façon à étudier l'influence de la nature des atomes donneurs O, N et S (agents de réticulation 1, 4 - 6) ainsi que le nombre de fonctions polymérisables (agents de réticulation 1 - 3). Les monomères, quant à eux, ont été choisis de façon à étudier l'influence de la nature des atomes donneurs (monomères B à H) ainsi que la nature de la fonction acide (monomères B et F à H).

Tableau III.1 : Polymères synthétisés.

	 « agent de réticulation 1 »	 « agent de réticulation 2 »	 « agent de réticulation 3 »	 « agent de réticulation 4 »	 « agent de réticulation 5 »	 « agent de réticulation 6 »
« sans monomère A»	1 A	2 A	3 A	4 A	5 A	6 A
 « monomère B »	1 B	2 B	3 B	4 B	5 B	6 B
 « monomère C »	1 C	2 C	3 C	4 C	5 C	6 C
« monomère D »	1 D	2 D	3 D	4 D	5 D	6 D
 « monomère E »	1 E	2 E	2 E	4 E	5 E	6 E
 « monomère F »	1 F	2 F	3 F	4 F	5 F	6 F
 « monomère G »	1 G	2 G	3 G	4 G	5 G	6 G
 « monomère H »	1 H	2 H	3 H	4 H	5 H	6 H

« agent de réticulation » : 1, éthylène glycol diméthacrylate ; 2, *tetra*acrylate pentaérythritol ; 3, triacrylate pentaerythritol ; 4, N, N'-Ethylène-bisacrylamide ; 5, N, N'-Bis(acryloyl)cystamine et 6, 1,4-di(acryloyl)piperazine.
« sans Monomère A» : aucun monomère engagé dans la synthèse du polymère, « monomère » : B, acide 2-méthylpropénoïque ; C, 3-amino-propène ; D, 2-propènenitrile ; E, 2-propènamide ; F, acide 2-trifluorométhylpropénoïque ; G, acide acrylamido-2-méthyl-2-propane sulfonique et H, acide vinylphosphonique.

Les différents polymères synthétisés ont été obtenus par polymérisation en masse. La réaction de polymérisation a été réalisée dans le DMSO à 65°C pendant 24 heures, par polymérisation radicalaire initiée thermiquement grâce à la présence d'azobisisobutyronitrile, et ce à partir d'un mélange monomère/agent de réticulation 1/4 (mol/mol) pour les polymères. Les polymères ainsi obtenus ont été lavés successivement par une solution d'acide chlorhydrique, de l'eau ultra pure et du méthanol. Seule la fraction de granulométrie 100 - 250 µm de chaque polymère, obtenue après broyage et tamisage, a été utilisée pour l'ensemble des études.

5. CRIBLAGE DES POLYMERES

Dans un premier temps, il s'agissait d'évaluer l'affinité des différents polymères afin d'en dégager les plus efficaces et ainsi apprécier l'influence des éléments de la matrice polymérique (agent de réticulation, monomère). Un protocole rapide et peu consommateur de polymère a donc été mis au point.

5.1. Procédure expérimentale

Pour le criblage rapide des polymères, l'extraction de 0,165 µmol d'Eu^{3+} (soit 32,9 µM) a été étudiée. Le sel de chlorure d'europium ($EuCl_3.6H_2O$, Aldrich, 99,99 %) a été dissous dans une solution d'acide chlorhydrique 0,01 M préparée à partir d'acide chlorhydrique 37 % (Riedel de Haën). Cette solution a été diluée cinquante fois par une solution de chlorure de sodium 0,01 M préparée à partir de chlorure de sodium, 99 - 100,5 % (Carlo Erba). Le sel de chlorure d'europium est donc en solution dans une solution aqueuse de (Na^+, H^+) Cl^- 0,01 M, pH 3,8.
La solution de chlorure d'europium ainsi obtenue a été diluée par deux et ce avec du méthanol (Carlo Erba). Dans un tube en verre, cette solution (5 mL) a été mise en contact avec 20 mg de polymère. L'utilisation du mélange méthanol/eau 50/50 (v/v) permet un meilleur contact entre le polymère et la solution d'europium.

L'extraction a été réalisée sous agitation magnétique pendant 2 heures, durée déterminée comme suffisante pour atteindre l'équilibre, à (25,0 ± 0,2) °C, température maintenue à l'aide d'un bain thermorégulé. Le mélange a ensuite été centrifugé à 6000 tours.min^{-1} pendant 10 minutes.

Un aliquot a été prélevé et dilué dans l'acide nitrique 2,5 % (v/v) préparé à partir d'acide nitrique supra pur, 65 % (Merck). Il a alors été analysé par spectrométrie de masse ICP/MS (Agilent 7500 ce) piloté par le logiciel Mass Hunter, dont les paramètres de fonctionnement sont récapitulés dans le Tableau III.2, et ce en mesurant l'intensité du signal à m/z = 153 (signal de ^{153}Eu).

Tableau III.2 : Conditions optimales de fonctionnement pour l'ICP/MS.

ICP/MS	
Puissance du plasma	1550 W
Débit du gaz plasmagène	15,0 L.min^{-1}
Débit du gaz auxiliaire	0,9 L.min^{-1}
Débit du gaz de nébulisation	1,0 L.min^{-1}
Débit du gaz de make up	0,3 L.min^{-1}
Température chambre de nébulisation	2 °C
Temps d'intégration	0,3 s pour ^{139}La 0,3 s pour ^{153}Eu 0,3 s pour ^{175}Lu

L'étalonnage a été réalisé avec des solutions de concentration en europium allant de 0 à 0,658 µM. Ces dernières ont été obtenues par dilution de la solution d'europium de concentration 32,9 µM préparée dans le mélange méthanol/solution aqueuse de (Na^+, H^+) Cl^- 0,01 M, pH 3,8 50/50 (v/v) dilué par de l'acide nitrique 2,5 % (v/v).

Pour chaque polymère, trois extractions ont été réalisées en parallèle. L'analyse par ICP/MS de chaque surnageant a été répétée trois fois. La reproductibilité de l'extraction a alors été calculée sur l'ensemble des neuf mesures.

Le pourcentage d'extraction de l'ion lanthanide est défini par la relation suivante :

$$\% = \frac{[Eu^{3+}]_i . V - [Eu^{3+}]_{éq} . V}{[Eu^{3+}]_i . V} . 100 \qquad \text{(Eq. 12)}$$

Avec % : Pourcentage d'extraction de l'europium

V : Volume de solution (L)

$[Eu^{3+}]_i$: Concentration initiale en europium dans la solution (M)

$[Eu^{3+}]_{éq}$: Concentration à l'équilibre en europium dans la solution (M)

La concentration adsorbée de l'ion lanthanide peut être calculée à partir de la relation suivante :

$$q_{ads} = \frac{[Eu^{3+}]_i . V - [Eu^{3+}]_{éq} . V}{m_{polymère}} \qquad \text{(Eq. 13)}$$

Avec q_{ads}: Concentration adsorbée de l'ion lanthanide (mol.g^{-1})

$m_{polymère}$: Masse de polymère pour l'essai (g)

5.2. Résultats du criblage

Les résultats obtenus pour l'extraction de 0,165 µmol d'Eu^{3+} sont présentés dans la figure III.6.

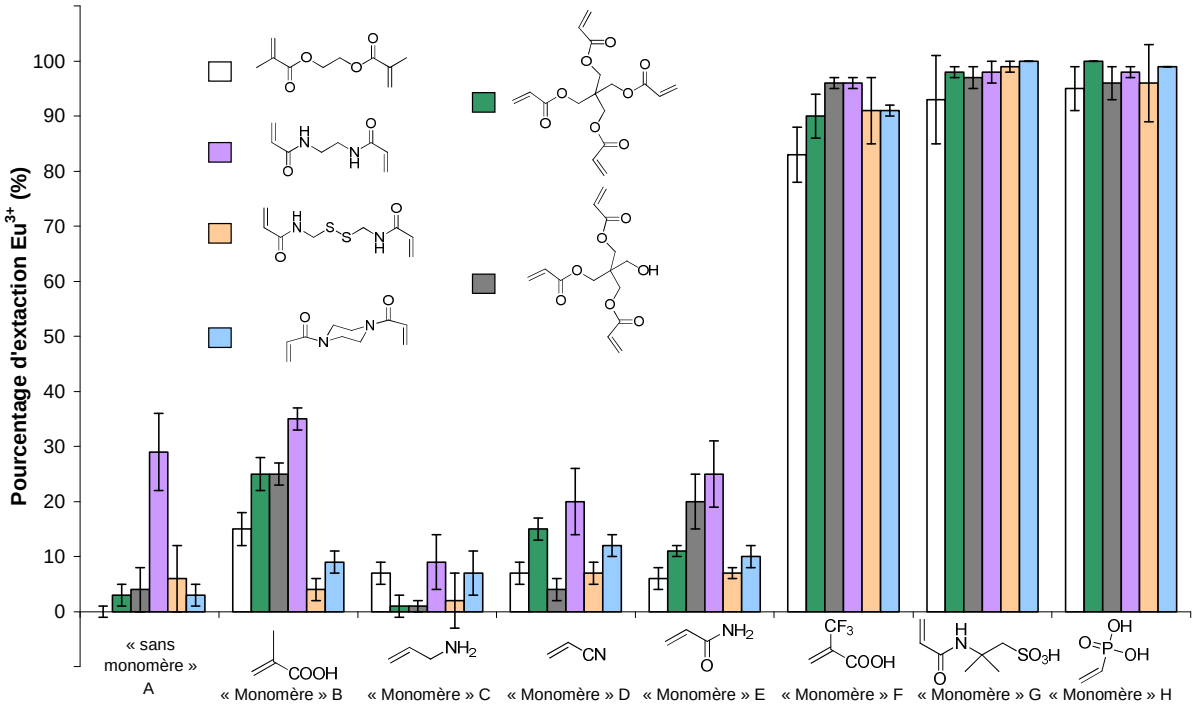


Figure III.6 : Pourcentage d'extraction de l'europium par les différents polymères.
« Agent de réticulation » : 1, (□) ; 2, (■) ; 3 (■) ; 4 (■) ; 5, (■), et 6, (■).

Les polymères synthétisés à partir des agents de réticulation seuls ne conduisent pas à des pourcentages d'extraction d'europium significatifs (< 6 %), sauf dans le cas du N, N'-éthylène-bisacrylamide où l'extraction atteint 30 %. Moins de 200 nmol d'$Eu^{3+}.g^{-1}$ de polymère sont extraites par ces polymères dans les conditions expérimentales adoptées. A l'exception du N, N'-éthylène-bisacrylamide seul, l'agent de réticulation semble avoir peu d'influence sur l'extraction de faibles concentrations d'europium.

Par contre, on constate un effet attendu de la nature du monomère incorporé. L'incorporation des monomères présentant différents groupements azotés (monomères C à E) dans le polymère ne permet pas d'améliorer la capacité d'extraction du polymère, par rapport aux polymères synthétisés à partir des agents de réticulation seuls.

En revanche, l'incorporation des monomères présentant différentes fonctions acides permet d'augmenter, de façon significative, la capacité d'extraction du polymère par rapport aux polymères synthétisés à partir d'agents de réticulations, à l'exception du monomère B dont les performances restent très faibles.

L'efficacité d'extraction semble directement liée au pKa de ces différents monomères. Le pKa de la fonction acide des monomères B, F et H est de 4,5 [19], 3,0 [19] et 2,6 [20] respectivement. Le pKa de la fonction acide du monomère G est inférieur à 2 [21].

L'extraction d'Eu^{3+} par les polymères des séries F, G et H est trois à vingt fois plus efficace que celle par les polymères de la série B,. Ainsi, lorsque le pKa de la fonction acide présente dans le monomère diminue, l'extraction de l'europium est plus efficace. A pH 3,8, les fonctions des monomères F, G et H sont déprotonées, ce qui conduit à une extraction plus efficace dans les conditions expérimentales.

En conclusion, le criblage de l'ensemble des polymères en fonction de leur affinité pour l'europium a donc été réalisé via l'extraction solide/liquide de 0,165 µmol d'europium à un pH initial de 3,8. 60 mg de chaque polymère ont été nécessaires pour réaliser les mesures en triplicats.
Les polymères synthétisés à partir des monomères acides, dissociés dans les conditions expérimentales (acide 2-trifluorométhylpropénoïque, acide acrylamido-2-méthyl-2-propane sulfonique et acide vinylphosphonique), conduisent à une extraction quasi-quantitative de l'europium. Ces polymères ont donc été retenus pour la suite de l'étude.

6. ETUDE DE LA CAPACITE D'EXTRACTION DES POLYMERES

Dans un second temps, il s'agissait d'évaluer les capacités d'extraction des polymères pour apprécier l'influence des éléments de la matrice polymérique (agent de réticulation, monomère, stœchiométrie monomère/agent de réticulation).

6.1. Procédure expérimentale

Pour établir les différentes courbes de saturation, des solutions de concentration initiale en europium allant jusqu'à 3,5 mM ont été préparées dans un mélange méthanol/solution aqueuse de (Na^+, H^+) Cl^- 0,01 M pH 3,8 50/50 (v/v). Le protocole d'extraction utilisé est identique à celui décrit au paragraphe 4.1. Les modèles de Langmuir et de Freundlich ont été envisagés. Les différents paramètres relatifs à chaque modèle ont été déterminés par convergence des valeurs expérimentales et des valeurs calculées à partir de l'équation de l'isotherme de chaque modèle. L'ajustement a été réalisé par régression non linéaire à l'aide du logiciel Origin et les différents paramètres obtenus en minimisant la fonction erreur σ^2 ($\sigma^2 = \sum \left(q_{ads\,\exp} - q_{ads\,\mathrm{mod}\,ele}\right)^2$).

6.2. Reproductibilité des extractions

Lors du criblage des polymères, le pourcentage d'extraction de l'europium ainsi que la concentration adsorbée ont été déterminés à partir de 3 extractions.

Lors de l'établissement des courbes de saturation, réaliser toutes les expériences en triplicats nécessiterait une quantité importante de chacun des polymères. Nous avons donc décidé de ne réaliser qu'une seule extraction à chaque fois, à condition de vérifier la reproductibilité de l'extraction. Celle-ci a déjà été vérifiée quel que soit le polymère utilisé à basse concentration lors du criblage et montre des variations inférieures à 8 %. Pour les concentrations plus importantes, 3 extractions ont été réalisées pour différents polymères, et ce pour différentes concentrations initiales en europium. Pour chaque concentration, la concentration adsorbée ainsi que l'écart-type associé ont été calculés.

Les résultats obtenus sont présentés dans le tableau III.3.

Tableau III.3 : Quantité adsorbée (q_{ads}) pour chaque concentration initiale en europium.

$[Eu^{3+}]_i$ (µM)	q_{ads} (µmol.g^{-1})
667	114,5 ± 1,2 *CV = 1,1 %*
1422	127,6 ± 4,2 *CV = 3,3 %*
2333	140,9 ± 5,3 *CV = 3,8 %*
3299	145,8 ± 5,4 *CV = 3,8 %*

Les coefficients de variation restent inférieurs à 4 %, ce qui implique que la méthode est reproductible. Par conséquent, l'erreur expérimentale sur la quantité d'europium adsorbée, et quelle que soit la concentration initiale en europium se traduira par un écart-type relatif de 4 % associé à chaque valeur de quantité d'europium adsorbée.

6.3. Polymères blancs

Afin d'établir les différentes isothermes d'adsorption, les polymères de la série A, correspondants aux matrices polymériques synthétisées uniquement à partir de chacun des agents de réticulation, ont été incubés en présence de différentes concentrations initiales en europium allant jusqu'à 3,5 mM.

La figure III.7 présente les isothermes d'adsorption obtenues pour les polymères de cette série.

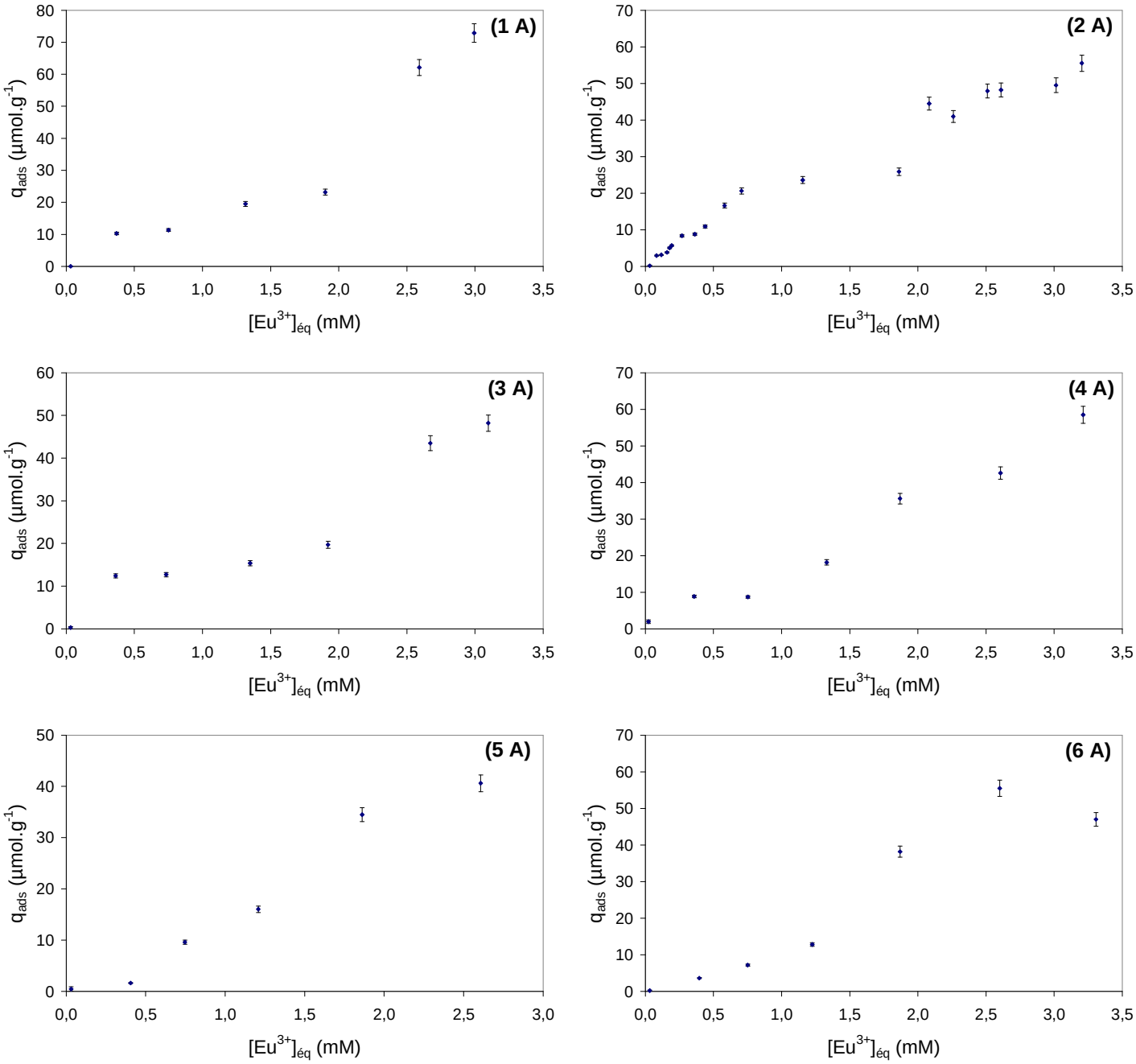


Figure III.7 : Isothermes d'adsorption des polymères 1 A à 6 A.

Pour des concentrations en europium en solution importantes $[Eu^{3+}]_{éq}$ > 2,0 mM et $[Eu^{3+}]_{éq}$ > 1,5 mM pour les polymères 1 A à 3 A et 4 A à 6 A respectivement, on observe, une augmentation importante de la quantité d'europium adsorbé qui ne reflète pas un accroissement de son affinité pour le solide. Deux hypothèses peuvent expliquer ce phénomène : (i) la pénétration de la solution dans les pores du solide, (ii) la composition du bulk ne peut plus être considérée comme constante à forte concentration en europium. Dans ce cas, la compétition entre Eu^{3+} et les ions Na^{+} du sel de fond doit être prise en compte, traduisant ainsi un mécanisme d'échange d'ions.

Les isothermes ont donc été considérées pour des concentrations $[Eu^{3+}]_{éq}$ comprises entre 0 et 2,0 mM pour les polymères 1 A à 3 A et entre 0 et 1,5 mM pour les polymères 4 A à 6 A respectivement. Malgré le faible nombre de points, le traitement mathématique a été réalisé en appliquant les modèles de Langmuir et de Freundlich.

A titre indicatif, le tableau III.4 rassemble les constantes q_m et K du modèle de Langmuir et les constantes a et m du modèle de Freundlich.

Tableau III.4 : Constantes de Langmuir (q_m et K) et constantes de Freundlich (a et m) déterminées par régression non linéaire pour chaque polymère de la série A.

Polymère	Constantes de Langmuir		Constantes de Freundlich	
	q_m ($\mu mol.g^{-1}$)	K (mM^{-1})	a	m
1 A	40 ± 10	0,6 ± 0,3	16 ± 1	0,6 ± 0,1
2 A	70 ± 20	0,5 ± 0,2	29 ± 2	1,1 ± 0,1
3 A	20 ± 4	3 ± 1	15 ± 1	0,4 ± 0,1
4 A	50 ± 60	0,4 ± 0,8	15 ± 2	1,1 ± 0,2
5 A	> 6500	< 0,002	13,1 ± 0,1	1,1 ± 0,1
6 A	> 900	< 0,02	10,1 ± 0,4	1,0 ± 0,1

Les constantes d'extraction K obtenues par le modèle de Langmuir sont faibles pour l'ensemble des polymères de la série, ce qui dénote une faible affinité de ces polymères pour l'europium dans les conditions expérimentales. Dans le cas des polymères 5 A et 6 A, le manque de convergence ainsi que les très faibles valeurs de K, associées à de fortes capacités

d'adsorption théoriques semblent indiquer un phénomène non-spécifique. Toutefois, cette conclusion doit être prise avec précaution.

Comme le suggèrent les index d'hétérogénéité m obtenus par le modèle de Freundlich, les polymères 1 A et 3 A présentent des sites de reconnaissance hétérogènes qui ne peuvent être reliés ni à la nature des agents de réticulation, ni aux conditions de synthèse dans l'état actuel de nos recherches.

6.4. Comparaison des polymères fonctionnalisés

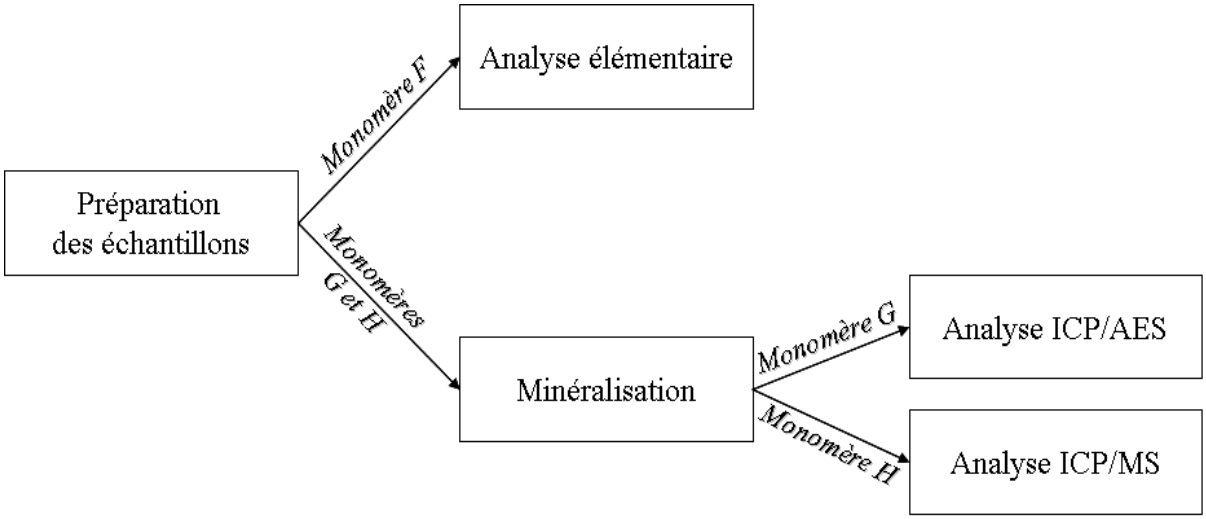
Afin d'établir les différentes isothermes d'adsorption, chaque polymère des séries F, G et H a été mis en contact avec différentes concentrations initiales en europium allant jusqu'à 1,2, 3,5 et 2,0 mM pour les séries F, G et H respectivement. Pour s'affranchir des variations de stœchiométrie et de masse molaires dues aux différents monomères, toutes les quantités d'europium adsorbé sur les polymères seront exprimées en µmol par mmol de monomère. Compte tenu des phénomènes évoqués au paragraphe 5.3.1, les isothermes ne seront considérées dans ce qui suit que dans la zone de concentrations où la composition du bulk est considérée comme constante.

6.4.1. Vérification de la stœchiométrie monomère/agent de réticulation

La stœchiométrie finale monomère/agent de réticulation a été fixée à 0,25 en engageant un équivalent de monomère pour 4 équivalents d'agent de réticulation lors des différentes synthèses. Les monomères impliqués dans les séries de polymères retenues comportant tous un ou plusieurs hétéroatomes, ces derniers ont été quantifiés par analyse élémentaire Cette analyse nous permet non seulement d'apprécier le taux d'incorporation des monomères mais aussi de comparer les polymères entre eux.

6.4.1.1.Procédure expérimentale

La stratégie adoptée pour la détermination de la stœchiométrie monomère/agent de réticulation a fait intervenir la procédure expérimentale décrite dans la figure III.8.



Monomère F : acide 2-trifluorométhylpropénoïque

Monomère G : acide acrylamido-2-méthyl-2-propane sulfonique

Monomère H : acide vinylphosphonique

Figure III.8 : Procédure expérimentale de détermination du taux d'incorporation de monomère dans le polymère pour les séries F, G et H.

Compte tenu des faibles quantités disponibles pour chaque polymère, il a été nécessaire d'utiliser des échantillons de polymère avec lesquels l'extraction du lanthanide avait déjà été réalisée. Les échantillons de polymères ont été choisis parmi ceux présentant les plus faibles quantités de lanthanide adsorbées, n'entraînant pas de variation en masse supérieure à 5 %. Après élimination du surnageant par centrifugation à 6000 tours.min^{-1} pendant 10 minutes (BioBlock Scientific), le polymère a été récupéré avec 300 µL d'eau ultra pure et transféré dans un eppendorf, taré au préalable. Le polymère a été séché à l'étuve à 50 °C entre 24 et 32 heures. Le polymère a été considéré comme sec lorsque deux mesures consécutives de masse de l'ensemble ne conduisaient plus à aucune variation. Trois échantillons ont été préparés pour chaque polymère.

Cette étape de préparation ainsi qu'une étape de dissolution des échantillons de polymères des séries G et H ont été nécessaires avant l'analyse par ICP/AES (série G) ou par ICP/MS (série H). Seule cette étape de préparation des échantillons de polymères de la série F a été réalisée avant l'analyse élémentaire.

Différents protocoles de minéralisation ont été testés pour les polymères des séries G et H afin de déterminer les conditions optimales de mise en solution.

Le premier protocole testé a consisté en l'attaque du polymère soit par un acide soit par l'eau oxygénée 30 % (m/m, Carlo Erba) à haute température. Dans le cas de l'attaque du polymère par un acide, l'acide nitrique 68 % Normapur (Prolabo), l'acide sulfurique 95 - 97 % (Aldrich) ou encore l'eau régale composée d'acide chlorhydrique 37 % Normapur (Prolabo)/acide nitrique 68 % Normapur 2/1 (v/v) ont été testés. Pour ce faire, 20 mg de polymère déterminés par pesée ont été mis en présence de 5 mL d'acide ou de 5 mL d'eau oxygénée. La minéralisation a été réalisée à haute température, maintenue à l'aide d'un bain de sable (Roth). Le réactif de minéralisation, la température ainsi que la durée de minéralisation ont été étudiés. Le tableau III.5 récapitule les différents essais conduits avec ce protocole.

Tableau III.5 : Récapitulatif des différentes conditions de minéralisation testées avec ce protocole.

Réactif	Température (°C)	Durée (heures)	Remarque
Acide nitrique	100	12	Minéralisation partielle
		24	
	150	12	
		24	
	200	12	
		24	
Eau régale	100	12	Adhérence du polymère à la surface des parois du flacon de minéralisation
		24	
	150	12	
		24	
	200	12	
		24	
Acide sulfurique	100	12	Adhérence du polymère à la surface des parois du flacon de minéralisation
		24	
	150	12	
		24	
	200	12	
		24	
Eau oxygénée	100	12	Adhérence du polymère à la surface des parois du flacon de minéralisation
		24	
	150	12	
		24	
	200	12	
		24	

Les différentes conditions de minéralisation testées à travers ce protocole n’ont pas permis la minéralisation du polymère quels que soient le réactif, la température et la durée de minéralisation.

Le second protocole, quant à lui, a consisté à utiliser l'énergie micro-ondes pour la minéralisation. Pour ce faire, 20 mg de polymère, déterminés par pesée, ont été mis en présence de 6 mL d'un mélange acide nitrique 68 % Normapur /eau oxygénée 30 % (m/m) 5/1 (v/v). L'ensemble a alors été placé dans un réacteur et dans le four micro-ondes (Multiwave 3000, Anton Paar).

Un programme multi-étapes a été utilisé. Tout d'abord, la puissance micro-onde a été augmentée progressivement jusqu'à ébullition du mélange. La pression dans le réacteur augmente donc avec la température car le réacteur est un système fermé et étanche. Le réacteur a alors atteint une pression maximale de 60 bars correspondant à des températures d'environ 200-250 °C selon les échantillons. 25 minutes sont nécessaires pour y parvenir. La pression et la température ont été maintenues pendant 10 minutes. Enfin, l'ensemble a été refroidi pendant 15 minutes. Ces conditions de pression et de température élevées permettent de minéraliser le polymère. Le minéralisât a alors été récupéré ainsi que les eaux de rinçage du réacteur. Le volume obtenu a été réduit pour concentrer le minéralisât par chauffage à 50 °C pendant 24 heures, la température étant maintenue à l'aide d'un bain de sable.

Pour chaque série de 8 minéralisations, un réacteur blanc contenant 6 mL d'un mélange acide nitrique 68 % Normapur /eau oxygénée 30 % (m/m) 5/1 (v/v) a été réalisé.

Ce second protocole a donc été adopté pour la minéralisation des polymères des séries G et H.

La teneur en fluor a été déterminée par analyse élémentaire du fluor (Service Central d'Analyse, Solaize) pour chaque polymère de la série F.

Pour les polymères des séries G et H, un aliquot de chaque minéralisât a été prélevé et dilué par de l'acide nitrique 2,5 % (v/v). Ces derniers ont alors été analysés soit par spectrométrie d'émission atomique ICP/AES (Varian 720-ES) en mesurant l'intensité du signal à la longueur d'onde d'émission du soufre (181,972 nm), soit par spectrométrie de masse ICP/MS en mesurant l'intensité du signal à m/z = 31 (signal du ^{31}P).

Les paramètres de fonctionnement de l'ICP/AES sont récapitulés dans le Tableau III.6.

L'étalonnage de la mesure par ICP/AES a été réalisé avec des étalons de concentration en soufre allant de 0 à 156 µM. Ces derniers ont été obtenus par dilution d'une solution standard mono-élémentaire de concentration en soufre certifiée 10000 ± 30 $mg.L^{-1}$ (CPI International) par de l'acide nitrique 2,5 % (v/v).

Les paramètres de fonctionnement de l'ICP/MS sont récapitulés dans le Tableau III.2.

L'étalonnage de la mesure a été réalisé avec des étalons de concentration en phosphore allant de 0 à 3,23 µM. Ces derniers ont été obtenus par dilution d'une solution standard mono

élémentaire de concentration en phosphore certifiée 1000 ± 3 mg.L^{-1} (CPI International) par de l'acide nitrique 2,5 % (v/v).

Tableau III.6 : Conditions optimales de fonctionnement pour l'ICP/AES.

ICP/AES	
Puissance du plasma	1200 W
Débit du gaz plasmagène	15,0 L.min^{-1}
Débit du gaz auxiliaire	1,50 L.min^{-1}
Débit du gaz de nébulisation	0,75 L.min^{-1}
Temps d'intégration	5 s
Longueur d'onde	181,972 nm

6.4.1.2.Taux d'incorporation du monomère dans le polymère

Cette étude a consisté à déterminer la stœchiométrie monomère/agent de réticulation expérimentale, ainsi que le taux d'incorporation du monomère dans le polymère dans le but de vérifier la stœchiométrie monomère/agent de réticulation prédite à partir des quantités engagées lors de la synthèse et ce, pour les polymères sélectionnés lors du criblage. Pour rappel, les polymères ont été synthétisés à partir d'un mélange monomère/agent de réticulation 1/4 (mol/mol).

Le nombre de moles de monomère, la stœchiométrie monomère/agent de réticulation déterminée expérimentalement ainsi que le taux d'incorporation du monomère dans le polymère pour chaque polymère des différentes séries sont présentés dans les tableaux III.7 à III.9 pour les polymères des séries F, G et H respectivement.

Tableau III.7 : Stœchiométries monomère/agent de réticulation théorique et expérimentale et taux d'incorporation du monomère dans le polymère pour chaque polymère de la série F.

Agent de réticulation	mmol de F.g^{-1} de polymère théorique	mmol de F.g^{-1} de polymère expérimental	Stœchiométrie théorique	Stœchiométrie expérimentale	Taux d'incorporation (%)
1	3,21	1,45 ± 0,04	1/4,0	1/9,7 (± 0,3)	45 ± 2
2	1,91	1,28 ± 0,19	1/4,1	1/6,4 (± 1,1)	67 ± 10
3	2,25	1,96 ± 0,04	1/4,0	1/4,7 (± 0,1)	87 ± 2
4	3,67	3,08 ± 0,04	1/4,0	1/5,0 (± 0,1)	84 ± 1
5	2,51	2,07 ± 0,17	1/4,6	1/5,7 (± 0,5)	82 ± 7
6	3,27	2,54 ± 0,04	1/4,0	1/5,4 (± 0,1)	78 ± 1

Tableau III.8 : Stœchiométries monomère/agent de réticulation théorique et expérimentale et taux d'incorporation du monomère dans le polymère pour chaque polymère de la série G.

Agent de réticulation	mmol de S.g^{-1} de polymère théorique	mmol de S.g^{-1} de polymère expérimental	Stœchiométrie théorique	Stœchiométrie expérimentale	Taux d'incorporation (%)
1	1,00	0,95 ± 0,03	1/4,0	1/4,3 (± 0,1)	96 ± 3
2	0,61	0,59 ± 0,02	1/4,1	1/4,3 (± 0,1)	97 ± 3
3	0,71	0,70 ± 0,02	1/4,0	1/4,1 (± 0,1)	99 ± 1
4	1,13	1,03 ± 0,06	1/4,0	1/4,5 (± 0,2)	91 ± 5
5	7,99*	7,12 ± 0,09	1/4,5	1/4,1 (± 0,2)	100 ± 0
6	1,01	0,99 ± 0,03	1/4,0	1/4,1 (± 0,1)	98 ± 3

(*) : Cette valeur tient compte de la contribution de l'agent de réticulation

Tableau III.9 : Stœchiométries monomère/agent de réticulation théorique et expérimentale et taux d'incorporation du monomère dans le polymère pour chaque polymère de la série H.

Agent de réticulation	mmol de P.g^{-1} de polymère théorique	mmol de P.g^{-1} de polymère expérimental	Stœchiométrie théorique	Stœchiométrie expérimentale	Taux d'incorporation (%)
1	1,14	0,45 ± 0,01	1/3,9	1/10,5 (± 0,2)	40 ± 1
2	0,75	0,43 ± 0,01	1/3,5	1/6,3 (± 0,2)	58 ± 2
3	0,75	0,73 ± 0,05	1/4,1	1/4,3 (± 0,3)	97 ± 6
4	1,27	0,90 ± 0,04	1/4,1	1/6,0 (± 0,2)	71 ± 3
5	0,88	0,31 ± 0,03	1/4,4	1/13,7 (± 1,6)	35 ± 4
6	1,14	1,20 ± 0,02	1/3,9	1/3,7 (± 0,1)	105 ± 2

On constate que la structure du polymère est déterminée par l'affinité comparée de l'agent de réticulation pour le monomère ou pour lui-même lors de la polymérisation. Les résultats montrent que l'incorporation de l'acide acrylamido-2-méthyl-2-propane sulfonique dans les polymères (série G) est totale et indépendante de la nature de l'agent de réticulation, ce qui semble montrer une affinité similaire de l'agent de réticulation pour le monomère ou pour lui-même, contrairement au cas des acides 2-trifluorométhylpropénoïque et vinylphosphonique. Pour ces derniers, on constate un plus faible taux d'incorporation, notamment en présence des agents de réticulation 1 et 2, atteignant même, dans certains cas, des incorporations inférieures à 50 %.

6.4.1.3.Reproductibilité des synthèses

Cette étude a consisté à déterminer la stœchiométrie monomère/agent de réticulation expérimentale, ainsi que le taux d'incorporation du monomère dans le polymère dans le but de vérifier la reproductibilité de synthèse. Cette étude a été réalisée sur trois lots de polymère 2 G et trois lots de polymère 2 H.

Le nombre de moles de monomère, la stœchiométrie monomère/agent de réticulation déterminée expérimentalement ainsi que le taux d'incorporation du monomère dans le polymère pour chaque lot de polymère 2 G et chaque lot de polymère 2 H sont présentés dans les tableaux III.10 et III.11 pour les polymères 2 G et 2 H respectivement.

Tableau III.10 : Stœchiométries monomère/agent de réticulation théorique et expérimentale et taux d'incorporation du monomère dans le polymère pour chaque polymère 2 G.

Polymère	mmol de S.g^{-1} de polymère théorique	mmol de S.g^{-1} de polymère expérimental	Stœchiométrie théorique	Stœchiométrie expérimentale	Taux d'incorporation (%)
2 G - 1	0,61	0,59 ± 0,02	1/4,1	1/4,3 (± 0,1)	97 ± 3
2 G - 2		0,62 ± 0,02		1/4,1 (± 0,1)	101 ± 4
2 G - 3		0,60 ± 0,01		1/4,2 (± 0,2)	99 ± 2
Moyenne des trois lots		0,60 ± 0,02 *CV = 4 %*	/	/	98 ± 4

Tableau III.11 : Stœchiométries monomère/agent de réticulation théorique et expérimentale et taux d'incorporation du monomère dans le polymère pour chaque polymère 2 H.

Polymère	mmol de P.g^{-1} de polymère théorique	mmol de P.g^{-1} de polymère expérimental	Stœchiométrie théorique	Stœchiométrie expérimentale	Taux d'incorporation (%)
2 H - 1	0,75	0,43 ± 0,01	1/3,5	1/6,3 (± 0,2)	58 ± 2
2 H - 2		0,62 ± 0,02		1/4,4 (± 0,2)	83 ± 3
2 H - 3		0,40 ± 0,02		1/6,8 (± 0,2)	53 ± 2
Moyenne des trois lots		0,49 ± 0,10 *CV = 20 %*	/	/	66 ± 14

La synthèse des polymères impliquant l'acide acrylamido-2-méthyl-2-propane sulfonique semble tout à fait contrôlée compte tenu de la bonne reproductibilité du nombre de mmol de S.g^{-1} de polymère déterminé expérimentalement d'une synthèse à l'autre, comme le montrent les résultats obtenus pour trois lots de polymère 2 G.

En revanche, la synthèse des polymères impliquant l'acide vinylphosphonique semble souffrir d'un manque de reproductibilité comme le suggère le coefficient de variation (près de 20 %) associé au nombre de mmol de P.g^{-1} de polymère déterminé expérimentalement pour trois lots de polymère 2 H. Il semble donc indispensable de déterminer pour chaque lot la composition en monomère.

6.4.2. Influence de la stœchiométrie

Pour évaluer l'influence de la stœchiométrie monomère/agent de réticulation, trois lots de polymères H ont été synthétisés.

La stœchiométrie monomère/agent de réticulation déterminée expérimentalement ainsi que le taux d'incorporation du monomère dans le polymère, et ce pour chaque lot de polymère, est présentée dans le tableau III.11.

Les différentes isothermes obtenues sont présentées dans la figure III.9 ; les quantités d'europium adsorbé sur les polymères sont exprimées en µmol par mmol de monomère.

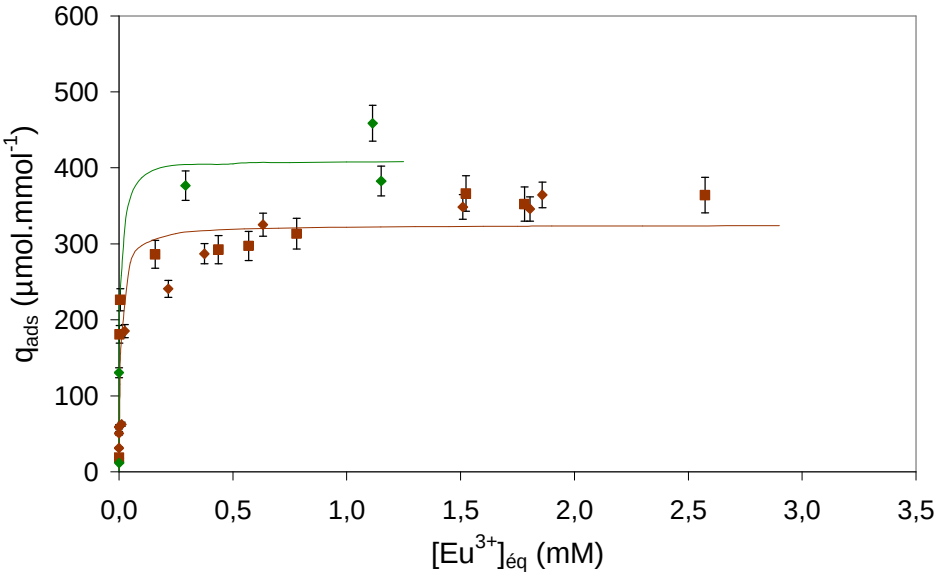


Figure III.9 : Isothermes d'adsorption des polymères 2 H -1 (◆), 2 H - 2 (◆) et 2 H - 3 (■).

Les isothermes des polymères 2 H - 1 et 2 H - 3 ont été traitées par le modèle de Langmuir.
Le tableau III.12 rassemble les constantes q_m et K du modèle de Langmuir.

Tableau III.12 : Constantes de Langmuir (q_m et K) déterminées par régression non linéaire pour les polymères 2 H - 1 et 2 H - 3.

Polymère	Constantes de Langmuir	
	q_m (µmol.mmol^{-1})	K (mM^{-1})
2 H - 1	330 ± 20	30 ± 12
2 H - 3	325 ± 13	510 ± 170

Les capacités maximales d'extraction, obtenues lors du traitement des isothermes par le modèle de Langmuir, sont de 330 et de 325 µmol.mmol^{-1} de monomère pour les polymères 2 H - 1 et 2 H - 3 respectivement.

Par contre, les constantes d'extraction diffèrent largement. Ceci peut être expliqué par le défaut de points dans la partie ascendante de la courbe, conduisant à des valeurs entachées d'une erreur importante. Néanmoins, il est intéressant de constater que ces deux polymères semblent se comporter de façon identique, comme le montre la modélisation unique réalisée sur la figure III.9 (q_m = 325 ± 16 µmol.mmol^{-1} de monomère, K = 110 ± 47 mM^{-1})

Compte tenu du faible nombre de points de l'isotherme du polymère 2 H - 2, il n'a pas été envisageable d'appliquer un modèle, quel qu'il soit. Toutefois, l'existence d'un plateau semble se dessiner autour de 400 µmol.mmol^{-1} de monomère, valeur légèrement supérieure à celles trouvées pour les autres polymères. Ce polymère semble donc présenter une capacité maximale d'extraction supérieure à celles obtenues pour les deux autres polymères. Il semble donc qu'outre l'augmentation d'unités complexantes, l'incorporation de monomère en plus grande quantité influence l'extraction. On pourrait envisager l'hypothèse qu'une plus forte réticulation, favorable à la meilleure tenue du polymère, est défavorable à l'extraction. A ce stade, il n'est cependant pas possible de conclure.

6.4.3. Influence de l'agent de réticulation

6.4.3.1.Polymères à base d'acide 2-trifluorométhylpropénoïque

Les différentes isothermes obtenues pour les polymères de la série F sont présentées dans la figure III.10 ainsi que les modélisations associées.

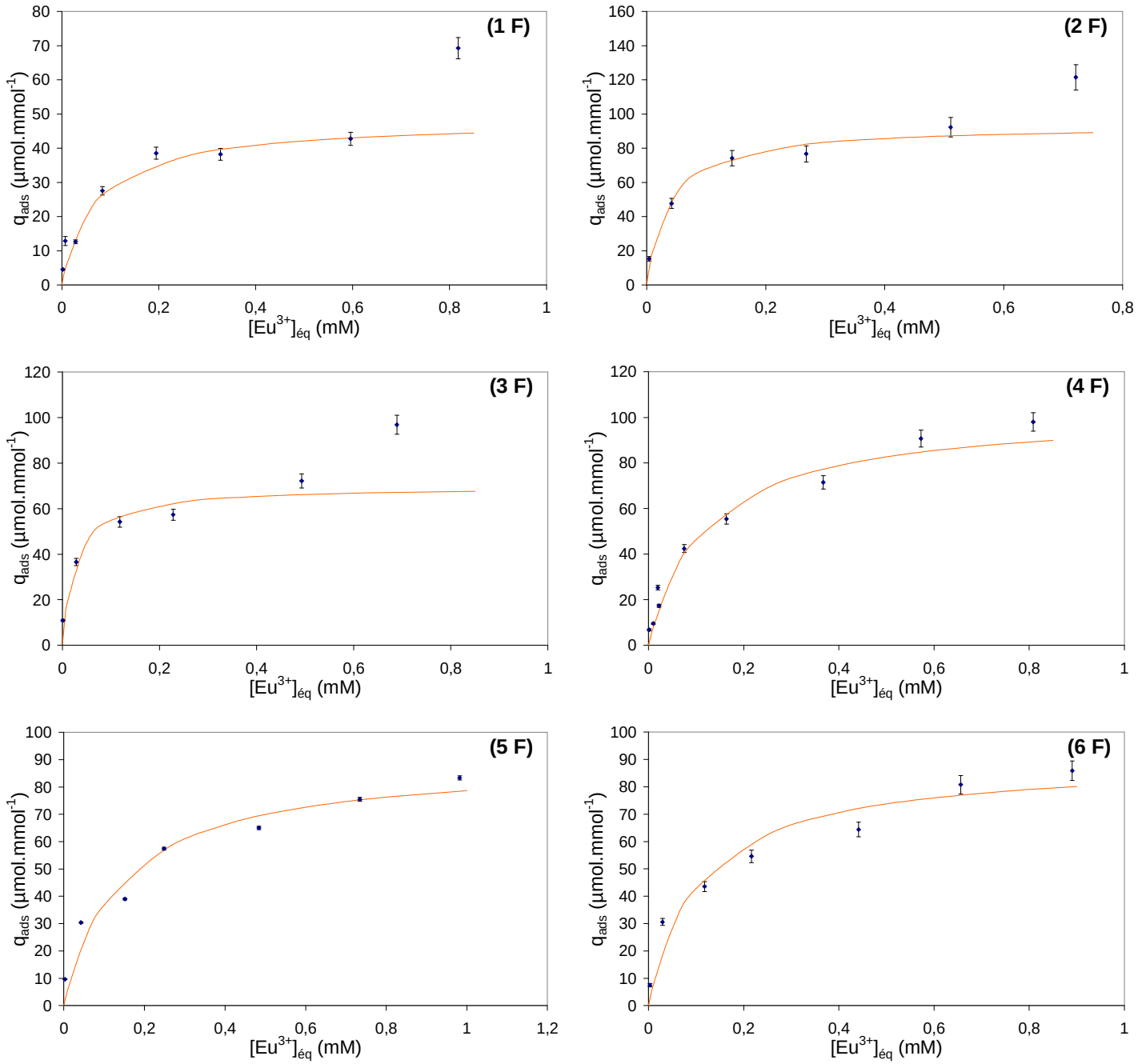


Figure III.10 : Isothermes des polymères 1 F à 6 F. Points expérimentaux (◆) et modèle de Langmuir (—).

Le tableau III.13 rassemble les constantes q_m et K du modèle de Langmuir pour chacun de ces polymères

Tableau III.13 : Constantes de Langmuir (q_m et K) déterminés par régression non linéaire pour chaque polymère de la série F.

Polymère	Constantes de Langmuir		Stœchiométrie monomère/agent de réticulation
	q_m (µmol.mmol^{-1})	K (mM^{-1})	
1 F	48 ± 3	16 ± 3	1/9,7 (± 0,3)
2 F	94 ± 6	26 ± 8	1/6,4 (± 1,1)
3 F	70 ± 6	36 ± 17	1/4,7 (± 0,1)
4 F	106 ± 8	8 ± 2	1/5,0 (± 0,1)
5 F	90 ± 9	7 ± 2	1/5,7 (± 0,5)
6 F	90 ± 9	9 ± 3	1/5,4 (± 0,1)

Comme nous l'avons vu précédemment, la capacité d'extraction du polymère semble influencée par la stœchiométrie monomère/agent de réticulation du polymère (taux d'incorporation du monomère dans le polymère).

Les polymères 2 F à 6 F présentent des capacités d'extraction maximales nettement supérieures à celle obtenue pour le polymère 1 F (48 µmol.mmol^{-1}), polymère qui présente un taux d'incorporation de monomère très inférieur aux autres polymères. Toutefois, l'hypothèse d'une réticulation diminuant la capacité d'extraction semble remise en cause. En effet, les agents de réticulation inclus dans les polymères 2 F et 3 F présentent respectivement 4 et 3 fonctions polymérisables. Cependant, la capacité d'extraction ne semble pas différer de celles des autres polymères, à l'exception du polymère 1 F.

6.4.3.2.Polymères à base d'acide acrylamido-2-méthyl-2-propane sulfonique

La figure III.11 présente les différentes isothermes obtenues pour les polymères de la série G.

Le modèle de Langmuir a été appliqué pour le traitement de chaque isotherme, et ce, malgré un nombre de points limité dans la partie ascendante des isothermes des polymères 2 G, 3 G et 5 G.

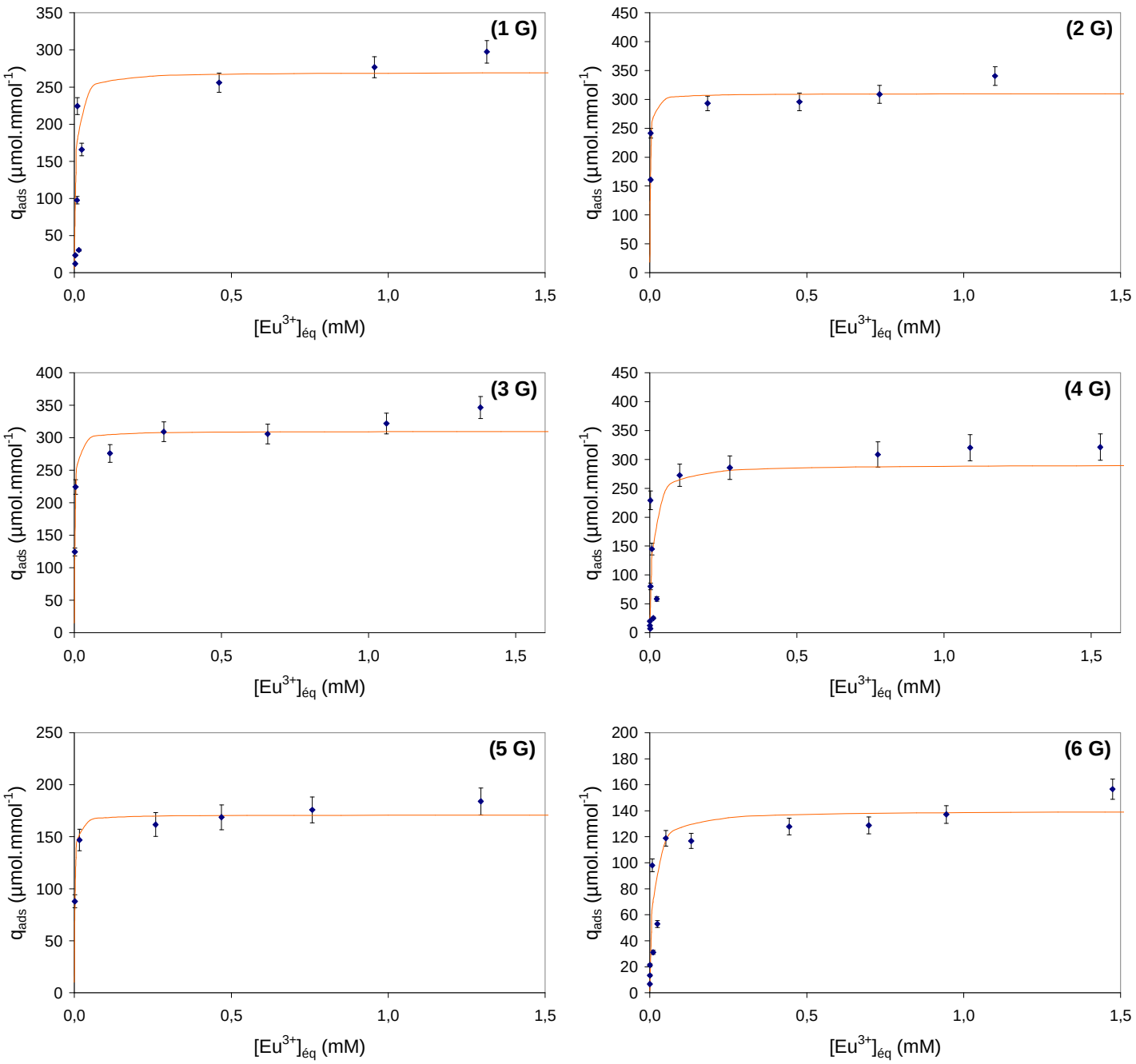


Figure III.11 : Isothermes des polymères 1 G à 6 G. Points expérimentaux (◆) et modèle de Langmuir (—).

Les isothermes sont de type H selon la classification de Giles [1], décrivant ainsi une forte affinité de ces polymères pour l'europium dans les conditions expérimentales. Compte tenu de cette forte affinité (> 100 mM^{-1}), il n'est pas possible de conclure quant aux valeurs de la constante d'extraction de chaque polymère.

Les capacités maximales d'extraction obtenues pour le modèle de Langmuir sont récapitulées dans le tableau III.14.

Tableau III.14 : Capacités maximales d'extraction déterminées par régression non linéaire à partir du modèle de Langmuir pour chaque polymère de la série G.

Polymère	Constantes de Langmuir		Stœchiométrie monomère/agent de réticulation
	q_m (µmol.mmol^{-1})	K (mM^{-1})	
1 G	270 ± 50	>200	1/4,3 (± 0,1)
2 G	310 ± 20	>200	1/4,3 (± 0,1)
3 G	310 ± 10	>200	1/4,1 (± 0,1)
4 G	290 ± 40	>100	1/4,5 (± 0,2)
5 G	170 ± 5	>200	1/4,1 (± 0,2)
6 G	140 ± 10	>100	1/4,1 (± 0,1)

L'ensemble des polymères de cette série présentant des stœchiométries similaires, il est donc possible de les comparer directement.

Pour les polymères 1 G à 4 G, les capacités d'extraction sont similaires et de l'ordre de 300 µmol.mmol^{-1} de monomère. Ceci semble indiquer une saturation des sites si on admet la formation de complexes de stœchiométrie 1 : 3 Eu^{3+} : monomère.

Pour les polymères 5 G et 6 G, les capacités d'extraction sont deux fois plus faibles, ce qui semblerait indiquer une influence négative des agents de réticulation engagés dans ces polymères.

6.4.3.3.Polymères à base d'acide vinylphosphonique

Les isothermes des polymères de la série H sont présentées dans la figure III.12.

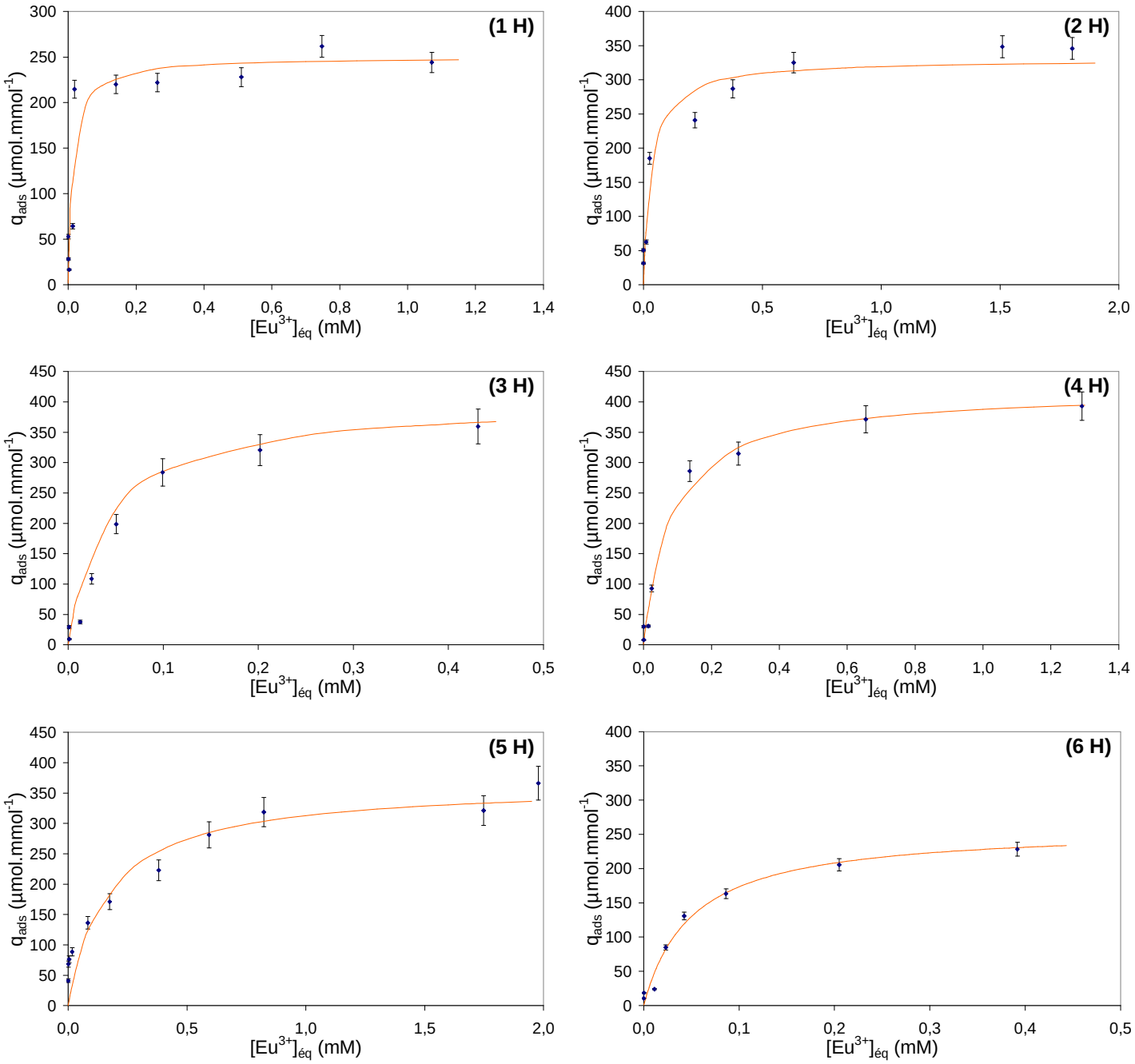


Figure III.12 : Isothermes des polymères 1 H à 6 H. Points expérimentaux (◆) et modèle de Langmuir (—).

Les constantes de Langmuir (q_m et K) sont récapitulées dans le tableau III.15.

Tableau III.15 : Constantes de Langmuir (q_m et K) déterminées par régression non linéaire pour chaque polymère de la série H.

Polymère	Constantes de Langmuir		Stœchiométrie monomère/agent de réticulation
	q_m (µmol.mmol^{-1})	K (mM^{-1})	
1 H	250 ± 201	70 ± 34	1/10,5 (± 0,2)
2 H	330 ± 20	30 ± 12	1/6,3 (± 0,2)
3 H	420 ± 30	16 ± 4	1/4,3 (± 0,3)
4 H	420 ± 20	12 ± 3	1/6,0 (± 0,2)
5 H	365 ± 40	6 ± 3	1/13,7 (± 1,6)
6 H	260 ± 20	20 ± 4	1/3,7 (± 0,1)

Les polymères 1 H et 6 H présentent une capacité d'extraction maximale comprise entre 260 et 400 µmol.mmol^{-1} de monomère respectivement. Ici encore, ceci semble indiquer une saturation des sites si on admet la formation de complexes de stœchiométrie 1 : 3 Eu^{3+} : monomère.

Les différences observées dans chaque série pourraient s'expliquer par une réticulation différente selon l' « agent de réticulation » utilisé.

Outre la stœchiométrie, le degré de réticulation est également influencé par la nature de l'agent réticulant lui-même (nombre de fonctions réticulantes, flexibilité des chaînes, ...). Le degré de réticulation a une influence directe sur la rigidité du polymère. Celle-ci doit être relativement importante pour assurer une bonne stabilité mécanique du polymère. Cependant un compromis entre rigidité et flexibilité doit être trouvé afin d'assurer un maintien des sites de reconnaissance en position adéquate. Enfin, l'agent de réticulation a également une influence sur la morphologie du polymère (taille des pores en particulier qu'il serait intéressant d'étudier par méthode BET d'adsorption d'azote par exemple).

Compte-tenu de ces multiples paramètres, il n'est pas possible de dégager des conclusions sur ces polymères à ce stade de l'étude.

6.4.4. Influence du monomère

Afin d'évaluer l'influence de la nature du monomère, la comparaison des polymères 3 F, 3 G et 3 H a été envisagée dans la mesure où leur stœchiométrie monomère/agent de réticulation est analogue (environ 1/4).
Les constantes de Langmuir (q_m et K) sont récapitulées dans le tableau III.16.

Tableau III.16 : Constantes de Langmuir (q_m et K) déterminées par régression non linéaire pour les polymères 3 F, 3 G et 3 H.

Polymère	q_m (µmol.mmol^{-1})	K (mM^{-1})
3 F	70 ± 6	36 ± 17
3 G	310 ± 10	> 200
3 H	420 ± 30	16 ± 4

Ce tableau montre l'influence du monomère sur la capacité d'extraction maximale du polymère. Celle-ci ne semble pas directement liée au pKa des fonctions acides des différents monomères. En effet, les pKa de ces différentes fonctions sont de 3,0, inférieur à 2 et 2,6 pour les monomères F, G et H respectivement.
L'utilisation du monomère acide 2-trifluorométhylpropénoïque conduit à une capacité d'extraction maximale d'environ 20 % de la capacité théorique, si l'on considère une stœchiométrie 1 : 3 Eu^{3+} : monomère. En revanche, l'utilisation du monomère acide acrylamido-2-méthyl-2-propane sulfonique permet d'atteindre une capacité maximale d'extraction d'environ 90 % de la capacité théorique. La capacité d'extraction maximale du polymère synthétisé à partir de l'acide vinylphosphonique représente 100 % de sa capacité théorique, en considérant également une stœchiométrie 1 : 3 Eu^{3+} : monomère.
La capacité maximale du polymère est donc limitée par le choix du monomère.

En conclusion, la capacité d'extraction est fonction du choix du monomère fonctionnel, de l'agent de réticulation ainsi que de la stœchiométrie monomère/agent de réticulation.
Les performances des polymères à base d'acide 2-trifluorométhylpropénoïque, en termes de capacité d'extraction, restent faibles par rapport aux polymères à base d'acide acrylamido-2-méthyl-2-propane sulfonique ou d'acide vinylphosphonique.

S'il fallait faire un choix entre les deux monomères, il serait préférable de s'orienter vers l'acide acrylamido-2-méthyl-2-propane sulfonique compte tenu de la bonne reproductibilité de synthèse des polymères à base de ce dernier, contrairement à la synthèse des polymères à base d'acide vinylphosphonique.

7. ETUDE DE LA SELECTIVITE

7.1. Procédure expérimentale

Cette étude s'est déroulée en deux parties : l'extraction individuelle du La^{3+}, de l'Eu^{3+} et du Lu^{3+} et l'extraction de ces derniers en mélange 1/1/1.

Des sels de chlorure de lanthane ($LaCl_3.7H_2O$, Aldrich, 99,9 %), d'europium ($EuCl_3.6H_2O$, Aldrich, 99,99 %) et de lutécium ($LuCl_3.6H_2O$, Aldrich, 99,99 %) ont été utilisés pour cette étude.
Pour l'extraction individuelle des différents lanthanides, chaque sel de lanthanide a été dissous dans une solution aqueuse de (Na^+, H^+) Cl^- 0,01 M, pH 3,8. Les différentes solutions ainsi obtenues ont été diluées par deux avec du méthanol.
Pour l'extraction des trois lanthanides en mélange 1/1/1, les trois sels de lanthanide ont été dissous dans une solution aqueuse de (Na^+, H^+) Cl^- 0,01 M, pH 3,8. La solution a également été diluée par deux avec du méthanol.
La procédure expérimentale est identique à celle décrite dans le paragraphe 4.1.

L'analyse ICP/MS du surnageant dilué permet de déterminer la concentration en lanthanide à l'équilibre en solution. Il est alors possible de déterminer la sélectivité du polymère pour un lanthanide donné vis-à-vis des autres lanthanides testés.
La sélectivité est liée à la reconnaissance préférentielle d'un ion lanthanide Ln_1 par rapport à un autre ion lanthanide, Ln_2 et est donnée par le rapport des coefficients de distribution des deux ions considérés.

Dans des conditions expérimentales données, le coefficient de sélectivité est défini par :

$$\alpha_{Ln_1/Ln_2} = \frac{D_{Ln_1}}{D_{Ln_2}} \qquad \text{(Eq. 14)}$$

Avec α_{Ln_1/Ln_2} : Coefficient de sélectivité

D_{Ln_1} : Coefficient de distribution de l'ion lanthanide Ln_1 ($L.kg^{-1}$)

D_{Ln_2} : Coefficient de distribution de l'ion lanthanide Ln_2 ($L.kg^{-1}$)

Le coefficient de distribution *D*, mesuré à l'équilibre, caractérise le partage de l'ion lanthanide entre la phase liquide et la phase solide et est défini par :

$$D_{Ln} = \frac{q_{ads}}{[Ln]_{éq}} \qquad \text{(Eq. 15)}$$

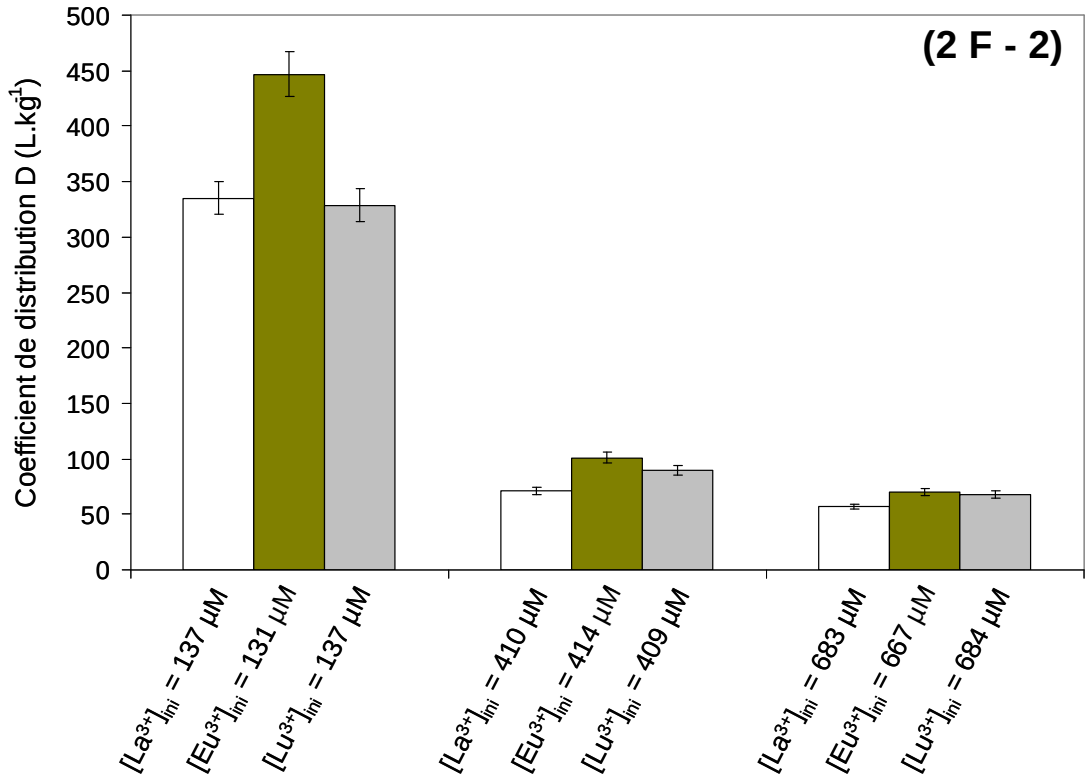
Avec q_{ads} : Quantité de lanthanide adsorbé par unité de masse de solide ($mol.kg^{-1}$)

$[M]_{éq}$: Concentration du lanthanide en solution à l'équilibre (M)

7.2. Résultats

Cette étude a été réalisée pour les polymères à base d'acide 2-trifluorométhylpropénoïque ou d'acide acrylamido-2-méthyl-2-propane sulfonique et de *tetra*acrylate pentaérythritol comme agent de réticulation, la stœchiométrie monomère/agent de réticulation étant de 1/6,4 (± 0,2) et 1/4,1(± 0,1) respectivement.

Les coefficients de distribution des trois lanthanides obtenus pour l'extraction individuelle de chacun et pour différentes concentrations initiales en lanthanides sont présentés dans la figure III.13.



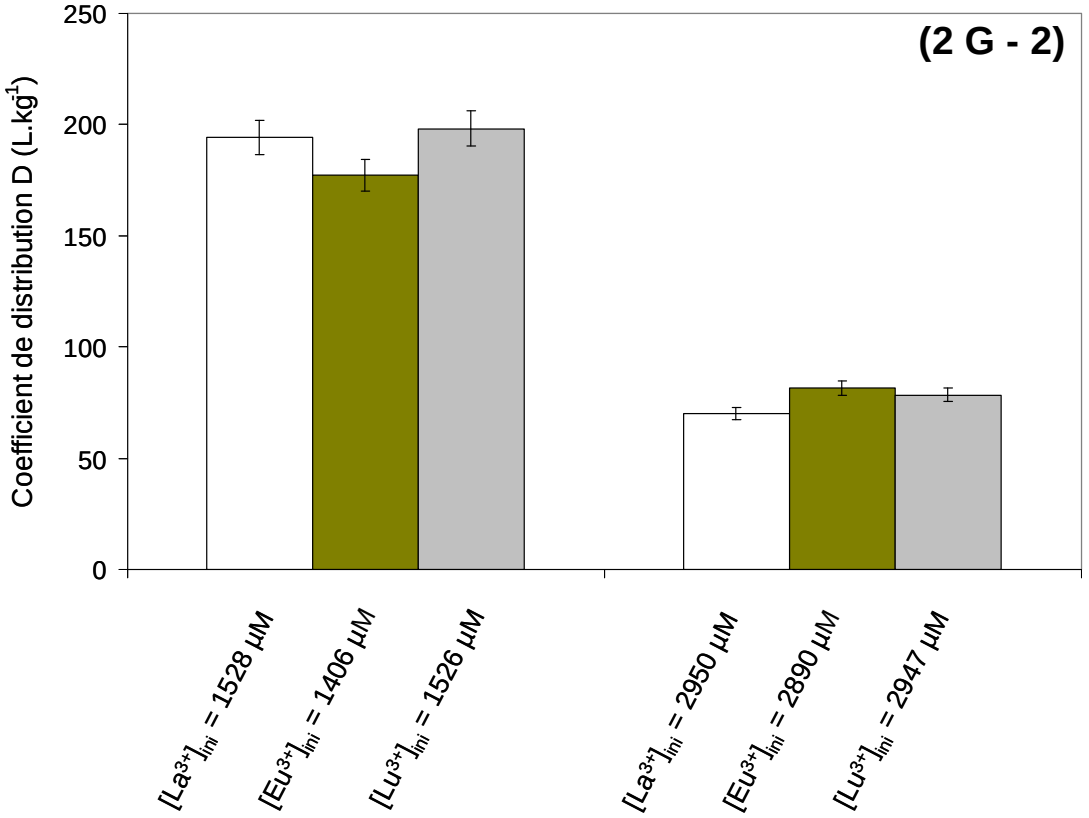


Figure III.13 : Coefficient de distribution du La^{3+}, de l'Eu^{3+} et du Lu^{3+} pour les polymères 2 F - 2 et 2 G - 2 et pour différentes concentrations initiales en lanthanide.

La^{3+} (□), Eu^{3+} (■) et Lu^{3+} (■).

D'après les résultats de la figure III.13, le calcul des sélectivités montre une sélectivité pour l'europium qui, si elle existe, est très faiblement marquée dans le cas du polymère 2 F $\alpha_{Eu^{3+}/Lu^{3+}}$ = 1,3 ± 0,1 et $\alpha_{Eu^{3+}/La^{3+}}$ = 1,2 ± 0,2) et inexistante dans le cas du polymère 2 G $\alpha_{Eu^{3+}/Lu^{3+}}$ = 1,0 ± 0,1 et $\alpha_{Eu^{3+}/La^{3+}}$ = 1,0 ± 0,1).

Afin de vérifier ces valeurs, les coefficients de distribution des trois lanthanides et les coefficients de sélectivité obtenus pour les couples La^{3+}/Lu^{3+} et Eu^{3+}/Lu^{3+} ont été calculés à partir de l'extraction de la solution contenant les trois lanthanides et sont présentés dans le tableau III.17. Il faut cependant noter que les polymères utilisés font partie d'un nouveau lot et ne présentent pas les mêmes stœchiométries monomère/agent de réticulation que précédemment.

Tableau III.17 : Coefficient de distribution (D) et coefficient de sélectivité (α) pour les polymères 2 F et 2 G.

Conditions : Solution d'extraction contenant une concentration initiale en lanthanide $[Ln^{3+}]_{ini}$ = 446 µM pour le polymère 2 F et $[Ln^{3+}]_{ini}$ = 1633 µM pour le polymère 2 G en solution dans un mélange méthanol/solution aqueuse de (Na^+, H^+) Cl^- 0,01 M, pH 3,8 50/50.

Polymère	D (La^{3+}) ($L.kg^{-1}$)	D (Eu^{3+}) ($L.kg^{-1}$)	D (Lu^{3+}) ($L.kg^{-1}$)	$\alpha_{Eu^{3+}/Lu^{3+}}$	$\alpha_{Eu^{3+}/La^{3+}}$
2 F - 2	140 ± 7	190 ± 15	117 ± 3	1,6 ± 0,1	1,3 ± 0,1
2 G - 2	298 ± 6	237 ± 6	132 ± 3	1,8 ± 0,1	0,79 ± 0,03

Les résultats montrent que les polymères à base d'acide acrylamido-2-méthyl-2-propane sulfonique ou d'acide 2-trifluorométhylpropénoïque et de *tetra*acrylate pentaérythritol présentent une faible sélectivité en faveur de l'Eu^{3+}.

La sélectivité observée de ces polymères pourrait être améliorée par effet d'empreinte, c'est-à-dire réaliser la synthèse de ces polymères en présence d'europium pour induire une préorganisation des monomères autour de ce dernier conduisant ainsi à la synthèse de polymères possédant des cavités spécifiques pour la reconnaissance de l'europium.

8. CONCLUSION

Nous avons mis au point un protocole permettant le criblage des polymères en fonction de leur affinité pour l'europium par extraction solide/liquide à un pH initial de 3,8 de 0,165 µmol d'europium. Ce criblage, réalisé en triplicat, ne nécessite que 60 mg de polymère. Dans ces conditions, les polymères synthétisés à partir des monomères acides, dissociés dans les conditions expérimentales (acide 2-trifluorométhylpropénoïque, acide acrylamido-2-méthyl-2-propane sulfonique et acide vinylphosphonique), conduisent à une extraction quasi-quantitative de l'europium. L'ensemble de ces polymères a donc été retenu pour la suite de l'étude.

Pour ces polymères présentant une bonne affinité pour l'europium, une étude visant à déterminer la stœchiométrie monomère/agent de réticulation a été réalisée. Nous avons montré que l'incorporation de l'acide acrylamido-2-méthyl-2-propane sulfonique dans les polymères est totale, ce qui n'est pas le cas de l'acide 2-trifluorométhylpropénoïque et de l'acide vinylphosphonique, atteignant même 30 % dans certains cas.
Par ailleurs, la synthèse des polymères à base d'acide acrylamido-2-méthyl-2-propane sulfonique semble contrôlée du fait de la bonne reproductibilité du taux d'incorporation de ce monomère dans le polymère, contrairement à la synthèse des polymères à base d'acide vinylphosphonique.

Pour ces mêmes polymères, les propriétés de reconnaissance ont été évaluées. Nous avons montré que, globalement, la capacité des polymères dépend du choix du monomère fonctionnel, de la nature de l'agent de réticulation et de la stœchiométrie monomère/agent de réticulation.

Une étude de sélectivité sur des mélanges contenant 3 lanthanides (La^{3+}, Eu^{3+}, Lu^{3+} 1/1/1) a été réalisée par compétition, et ce pour les polymères à base d'acide 2-trifluorométhylpropénoïque ou d'acide acrylamido-2-méthyl-2-propane sulfonique et de *tetra*acrylate pentaérythritol comme agent de réticulation. Nous avons montré que ces polymères présentent une faible sélectivité en faveur de l'europium. La synthèse de polymère imprimé pour la reconnaissance de l'europium pourrait être envisagée pour améliorer la sélectivité observée par effet d'empreinte.

9. REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

[1] C. H. Giles, D. Smith, J. Colloid Int. Sci., 47 (1974) 755-765.

[2] G. Limousin, J.-P. Gaudet, L. Charlet, S. Szenknect, V. Barthès, M. Krimissa, Appl. Geochem., 22 (2007) 249–275.

[3] K. D. Schimizu, In Molecularly Imprinted Materials, Eds: Marcel Dekker, New York, USA (2005) 419-434.

[4] R. J. Umpleby II, S. C. Baxter, A. M. Rampey, G. T. Rushton, Y. Chen, K. D. Schimizu, J. Chromatogr. B, 804 (2004) 141-149.

[5] A. Guyot, Synthesis and Separations Using Functional Polymers. D.C. Sherrington, P. Hodge (Eds.), John Wiley & Sons, New York, (1989) 1-36.

[6] R. H. Schmidt, A.-S. Belmont, K. Haupt, Anal. Chim. Acta, 542 (2005) 118-124.

[7] L. Lloyd, J. Chromatogr., 544 (1991) 201-206.

[8] Q. Z. Feng, L. X. Zha, B. L. Chu, W. Yan, J. M. Lin, Anal. Bioanal. Chem., 392 (2008) 1419-1426.

[9] P. A. G. Cormack, A. Z. Elorza, J. Chromatogr. B, 804 (2004) 173-182.

[10] H. Yan, K. H. Row, Int. J. Mol. Sci., 7 (2006) 115-178.

[11] D. Spivak, M. A.Gilmore, K. J. Shea., J. Am. Chem. Soc., 119 (1997) 4388-4393.

[12] M. T. Muldoon, L. H. Stanker., Anal. Chem., 69 (1997) 803-808.

[13] K. Yoshizako, K. Hosoya, Y. Iwakoshi, K. Kimata, N. Tanaka., Anal. Chem., 70 (1998) 386-389.

[14] D. A. Spivak, Adv. Drug Deliver. Rev., 57 (2005) 1779-1794.

[15] F. Qiao, H. Sun, H. Yan, K. H. Row, Chromatographia, 64 (2006) 625-634.

[16] R. Kala, V. M. Biju, T. Prasado Rao, Anal. Chim. Acta, 549 (2005) 51-58.

[17] R. Garcia, O. Vigneau, C. Pinel, M. Lemaire, Sep. Sci. Technol., 37 (12) (2002) 2839-2857.

[18] M. Draye, M. Lemaire, R. Chevillotte, R. Chomel, P. Doutreluingne, J. Foos, A. Guy, Sep. Sci. Technol., 30 (1995) 1245-1257.

[19] J. Haginaka, C. Kagawa, J. Chromatogr. B, 804 (2004) 19-24.

[20] A. Ziegler, K. Landfester, A. Musyanovych, Colloid Polym. Sci., 287 (2009) 1261-1271.

[21] E. V. Piletska, A. R. Guerreiro M. Romero-Guerra, I. Chianella, A. P. F. Turner, S. A. Piletsky, Anal. Chim. Acta, 607 (2008) 54-60.

Conclusion et perspectives

Le but de ce travail était d'étudier le criblage rapide et peu consommateur de bibliothèques générées par synthèse parallèle pour appréhender la complexation lanthanide/ligand.

Dans une première partie, nous nous sommes intéressés à une bibliothèque composée d'une trentaine de ligands phosphorylés et synthétisés par le Service de Chimie Bioorganique et de Marquage du CEA de Saclay et par le Laboratoire des Systèmes Chimiques Fonctionnels de Strasbourg, à raison de quelques milligrammes chacun.
Notre démarche a donc consisté à développer une méthodologie alternative aux méthodes reconnues dans ce domaine (spectrophotométrie UV-Visible, potentiométrie ou encore fluorescence) et mieux adaptée au criblage en termes de sensibilité et de quantités requises, pour sélectionner les ligands les plus affins. Nous avons donc étudié les possibilités de l'électrophorèse capillaire couplée à la spectrométrie de masse ICP/MS pour évaluer l'affinité des ligands pour l'europium et déterminer les constantes de complexation si possible.
Nous avons pu montrer qu'il est possible d'évaluer l'affinité des ligands par l'étude des variations de mobilité électrophorétique des ligands en présence ou non d'europium dans l'électrolyte. Cette évaluation de l'affinité d'un ligand nécessite environ deux heures d'analyse, étapes de conditionnement comprises. Toutefois, pour un criblage encore plus rapide, ce temps d'analyse et plus particulièrement le temps consacré au conditionnement du capillaire pourrait être réduit par l'utilisation de capillaires greffés de manière permanente ou de greffons de type « scorpions ». Ce criblage ne nécessite que 2 à 15 nanogrammes de ligand.

Nous avons montré qu'en milieu majoritairement aqueux, les oxydes de phosphines et les esters de phosphonate ne complexent pas ou très faiblement l'europium. Pour les ligands présentant une affinité pour l'europium, nous avons réalisé une étude plus approfondie pour caractériser les équilibres et déterminer les constantes de complexation. Les ligands présentant une fonction acide phosphonique forment des complexes de stœchiométrie 1 : 1. Pour les ligands présentant plusieurs fonctions complexantes, nous avons montré que ces derniers semblent former des complexes successifs de type ML et M_2L en présence d'un excès de métal. Toutefois, seul le cas du ligand diphosphonate a pu être décrit sans ambiguïté grâce à la formation de ces deux espèces. Pour les autres ligands, nous ne pouvons pas exclure l'existence d'une seconde espèce de type M_2L.
Afin de valider les résultats obtenus par cette approche, l'étude spectrophotométrique de deux ligands a été réalisée. Notre choix s'est porté sur un ligand ne présentant pas ou peu d'affinité

pour l'europium et un autre formant un complexe de stœchiométrie 1 : 1. Les résultats obtenus ont ainsi montré un excellent accord entre les deux méthodes.

La méthode mise au point apparaît donc comme une méthode alternative aux méthodes classiques pour l'étude de systèmes dont l'un des partenaires n'est disponible qu'en faible quantité. Il faut également souligner que cette méthode peut être étendue à d'autres classes de ligands portant des hétéroatomes (composés iodés, composés du bore…), et ce grâce au caractère multi-élémentaire de la détection par spectrométrie de masse à ionisation par plasma.

Dans une seconde partie, nous nous sommes intéressés à l'emploi de polymères en tant que supports pour l'extraction solide/liquide des lanthanides. Une bibliothèque composée d'une cinquantaine de polymères a été synthétisée par le Laboratoire des Systèmes Chimiques Fonctionnels de Strasbourg, à raison de 500 milligrammes chacun. Le but de l'étude était d'évaluer l'influence des différents composants d'un polymère.
Des test d'extraction solide/liquide de 0,165 µmol d'europium à un pH initial de 3,8 nous ont permis de classer les polymères en fonction de leur affinité pour l'europium. Cette sélection ne nécessite que 60 mg de polymère. Les polymères synthétisés à partir des monomères acides dissociés dans les conditions expérimentales (acide 2-trifluorométhylpropénoïque, acide acrylamido-2-méthyl-2-propane sulfonique et acide vinylphosphonique), conduisent à une extraction quasi-totale de l'europium.

Pour ces polymères, la stœchiométrie expérimentale monomère/agent de réticulation a été déterminée et comparée à la stœchiométrie monomère/agent de réticulation déterminée à partir des équivalents engagés dans la synthèse et pour apprécier la reproductibilité de synthèse. Nous avons pu montrer que l'incorporation de l'acide acrylamido-2-méthyl-2-propane sulfonique dans le polymère est totale. Compte tenu de la bonne reproductibilité du taux d'incorporation de ce dernier d'une synthèse à l'autre, la synthèse des polymères impliquant cet acide semble contrôlée. En revanche, le taux d'incorporation des deux autres acides est inférieur, ce qui semble montrer une meilleure réactivité des agents de réticulation sur eux-mêmes qu’avec ces deux monomères.
Pour ces mêmes polymères, les propriétés de reconnaissance ont été évaluées. L'affinité ainsi que la capacité des différents polymères ont été évaluées par le traitement des isothermes

d'adsorption des polymères. La capacité des polymères est fonction de la stœchiométrie monomère/agent de réticulation, du choix du monomère fonctionnel et de l'agent de réticulation. Nous avons pu montrer que les polymères à base d'acide 2-trifluorométhylpropénoïque ou d'acide vinylphosphonique présentent des capacités d'extraction inférieures à celles des polymères à base d'acide acrylamido-2-méthyl-2-propane sulfonique.

Une étude de sélectivité a été réalisée pour les polymères à base d'acide 2-trifluorométhylpropénoïque ou d'acide acrylamido-2-méthyl-2-propane sulfonique et de *tetra*acrylate pentaérythritol comme agent de réticulation. Cette étude a été réalisée par compétition et sur des mélanges de trois lanthanides (La^{3+}, Eu^{3+} et Lu^{3+}). Les données obtenues montrent que ces polymères présentent une faible sélectivité en faveur de l'europium.

Les perspectives de ces travaux s'orientent principalement vers la synthèse de polymères imprimés d'europium. Il s'agira de réaliser la synthèse en présence d'europium pour induire une préorganisation des monomères fonctionnels autour de l'europium et la formation de cavités spécifiques pour la reconnaissance de l'europium, et ce pour essayer d'améliorer la sélectivité observée lors de notre étude.

Publication :

F. Varenne, M. Bourdillon, M. Meyer, Y. Lin, M. Brellier, R. Baati, L. J. Charbonnière, A. Wagner, E. Doris, F. Taran, A. Hagège, J. Chromatogr. A, 1229 (2012) 280-287.

Liste des figures

Figure I.1 : Représentation de la structure d'un calix[4]arène..... 20
Figure I.2 : Exemples de calixarènes. 21
Figure I.3 : Représentation de la structure d'un cavitand. 22
Figure I.4 : Exemples de résorcinarènes 23
Figure I.5 : Diagramme de stabilité des complexes métal-ligand au cours d'une séparation électrophorétique. 32
Figure I.6 : Application de l'électrophorèse capillaire d'affinité au système Np (V) / sulfate et au système Pu (V) / sulfate. 34
Figure I.7 : Exemple d'application de l'électrophorèse capillaire d'affinité et de vacance au système vancomycine / n-acétyl-D-alanyl-D-alanine. 36
Figure I.8 : Etalonnage interne de l'aire du pic de vacance du ligand obtenu. 37
Figure I.9 : Représentation schématique de l'analyse frontale électrocinétique continue (a) et de l'analyse frontale par injection en mode hydrodynamique (b). 39
Figure I.10 : Etalonnage de la hauteur du palier du ligand obtenu. 39
Figure I.11 : Représentation schématique de la synthèse de polymère imprimé à empreinte moléculaire. 48
Figure I.12 : Représentation schématique de la synthèse de polymère à empreinte ionique par l'approche du trapping. 50
Figure II.1 : Représentation schématique de la paroi interne du capillaire et de la double couche formée au voisinage de celle-ci 68
Figure II.2 : Principe de la détermination de la mobilité électrophorétique effective du ligand lors de l'ajout de quantités croissantes de métal dans le cas de système labile 74
Figure II.3 : Représentations linéaires obtenues pour cinq systèmes simulés à deux sites de type coopératif (D, E), non coopératif (C) et anti-coopératif (A, B) 78
Figure II.4 : Différents ligands synthétisés 81
Figure II.5 : Interface utilisée 84
Figure II.6 : Intensité du signal d'une solution de $CoCl_2$ 4,6 $mg.L^{-1}$ à m/z = 59 (signal du ^{59}Co) en fonction de Δh (a), Intensité du courant électrique d'un électrolyte acide formique 25 mM, pH 3,8, NaCl 30 mM en solution dans un mélange méthanol/eau 10/90 (v/v) en fonction de Δh (b) 86
Figure II.7 : Formule du polybrène 87
Figure II.8 : Courbes de percée obtenues par passage d'une solution de chlorure d'europium 1 mM : influence de la nature du capillaire 89

Figure II.9 : Courbes de percée obtenues par passage d'une solution de chlorure d'europium 1 mM dans un capillaire greffé au polybrène : influence de la concentration en sel 91
Figure II.10 : Electrophérogrammes obtenus par injection du ligand 14 dans un électrolyte ne contenant pas d'Eu^{3+} et dans un électrolyte contenant 10 mM d'Eu^{3+} 97
Figure II.11 : Mobilité électrophorétique effective des 15 ligands en fonction de la concentration en europium dans l'électrolyte 98
Figure II.12 : Electrophérogrammes obtenus par injection du ligand 14 en fonction de la concentration en Eu^{3+} dans l'électrolyte 101
Figure II.13 : Transformation linéaire x-réciproque de l'isotherme de complexation des différents ligands en présence de concentrations croissantes en europium dans l'électrolyte. 102
Figure II.14 : Variation de la mobilité électrophorétique effective du ligand 14 en fonction de la concentration en europium dans l'électrolyte 104
Figure II.15 : Variation de la mobilité électrophorétique effective du ligand 16 (—) et du ligand 17 (—) en fonction de la concentration en europium dans l'électrolyte..... 106
Figure II.16 : Transformations linéaires de l'isotherme de complexation du ligand 14 en présence de concentrations croissantes en europium dans l'électrolyte : x-réciproque (a), y-réciproque (b) et xy-réciproques (c) ..... 107 - 108
Figure II.17 : Electrophérogrammes obtenus par injection du ligand 15 pour différents électrolytes 110
Figure II.18 : Variation de la mobilité électrophorétique effective du ligand 15 en fonction de la concentration en europium dans l'électrolyte en posant l'hypothèse de la formation d'un seul complexe de stœchiométrie 1 : 1 (ligne pointillée) ou en posant l'hypothèse de la formation de complexes successifs ML et M_2L (ligne pleine) 111
Figure II.19 : Variation de la mobilité électrophorétique effective du ligand 15 en fonction de la concentration en europium dans l'électrolyte 112
Figure II.20 : Diagramme de distribution relatif au ligand 15 113
Figure II.21 : Transformations linéaires x-réciproques de l'isotherme de complexation théorique en fonction de la constante de complexation K_{21} 114
Figure II.22 : Electrophérogrammes obtenus par injection du ligand 19 pour différents électrolytes 116
Figure II.23 : Titrage spectrophotométrique du ligand 17 121
Figure II.24 : Constantes de complexation des ligands étudiés dans ce travail. 123
Figure III.1 : Allure générale d'une isotherme d'adsorption..... 130

Figure III.2 : Classification des isothermes selon Giles *et al.* [1] adapté de [2] 131
Figure III.3 : Exemple de représentation de Scatchard obtenue pour un solide présentant deux classes de sites d'adsorption. 134
Figure III.4 : Exemple de linéarisation de l'isotherme de Freundlich 136
Figure III.5 : Exemple de courbe de distribution des constantes d'association..... 136
Figure III.6 : Pourcentage d'extraction de l'europium par les différents polymères 146
Figure III.7 : Isothermes d'adsorption des polymères 1 A à 6 A..... 149
Figure III.8 : Procédure expérimentale de détermination du taux d'incorporation de monomère dans le polymère pour les séries F, G et H..... 152
Figure III.9 : Isothermes d'adsorptions des polymères 2 H -1 (◆), 2 H - 2 (◆) et 2 H - 3 (■). 159
Figure III.10 : Isothermes des polymères 1 F à 6 F. Points expérimentaux (◆) et modèle de Langmuir (—). 161
Figure III.11 : Isothermes des polymères 1 G à 6 G. Points expérimentaux (◆) et modèle de Langmuir (—). 163
Figure III.12 : Isothermes des polymères 1 H à 6 H. Points expérimentaux (◆) et modèle de Langmuir (—). 165
Figure III.13 : Coefficient de distribution du La^{3+}, de l'Eu^{3+} et du Lu^{3+} pour les polymères 2 F - 2 et 2 G - 2 et pour différentes concentrations initiales en lanthanide. 170

Liste des tableaux

Tableau I.1 : Configuration électronique des atomes et des ions trivalents de la série des lanthanides à l'état fondamental. 10
Tableau I.2 : Degrés d'oxydation commun des lanthanides. 11
Tableau I.3 : Rayon ionique (Å) des ions lanthanides Ln^{3+} pour différents nombres de coordination (NC) 12
Tableau I.4 : Exemples de ligands O-donneur. 18
Tableau I.5 : Exemples de ligands N-donneur 19
Tableau I.6 : Caractéristiques de chaque technique pour appréhender les interactions lanthanide/ligand 29
Tableau I.7 : Avantages et inconvénients pour chaque méthode électrophorétique de détermination de constante de complexation. 40
Tableau I.8 : Polymères synthétisés pour la reconnaissance des lanthanides. 52
Tableau I.9 : Coefficient de sélectivité (α) pour le polymère imprimé (IIP) (conditions : 0.05 g, pH 7.5) et coefficient de sélectivité pour deux extractants utilisés en extraction liquide/liquide des lanthanides (D2EHPA et EHEHPA). 53
Tableau II.1 : Représentations graphiques des expressions (20) à (23) conduisant à des fonctions linéaires et à la détermination de β et ($\mu_{ep\,AB} - \mu_{ep\,A}$) à partir de la pente et de l'ordonnée à l'origine 77
Tableau II.2 : Concentration de chaque solution de ligand 82
Tableau II.3 : Conditions optimales de fonctionnement pour l'ICP/MS 83
Tableau II.4 : Mobilité électroosmotique et courant pour différentes concentrations en chlorure de sodium 92
Tableau II.5 : Conditions optimales pour la détermination de constantes apparentes de complexation par électrophorèse capillaire 93
Tableau II.6 : Mobilités électroosmotiques et mobilités apparentes du ligand 14 dans différents électrolytes composés d'acide formique 25 mM, pH 3.8, en solution dans un mélange méthanol/eau 10/90 (v/v) ; $[Cl^-]_{tot}$ = 30 mM et contenant $EuCl_3.6H_2O$. 94
Tableau II.7 : Récapitulatif des constantes de complexation apparentes et des mobilités électrophorétiques du ligand seul et du complexe déterminées par régression non linéaire pour les ligands 14, 16 et 17 105
Tableau II.8 : Récapitulatif des constantes de complexation apparentes et des mobilités électrophorétiques du complexe déterminées lors de l'étude de complexation de l'europium par les différentes représentations pour le ligand 14 108

Tableau II.9 : Récapitulatif des constantes de complexation apparentes et des mobilités électrophorétiques du complexe déterminées lors de l'étude de complexation de l'europium par les différentes représentations pour le ligand 16 109
Tableau II.10 : Récapitulatif des constantes de complexation apparentes et des mobilités électrophorétiques du complexe déterminées lors de l'étude de complexation de l'europium par les différentes représentations pour le ligand 17 109
Tableau II.11 : Constantes apparentes de complexation β_{i1} (i = 1 ou i = 2) et mobilités électrophorétiques $\mu_{ep}(M_iL)$ des différentes espèces, calculées pour le ligand 15 112
Tableau II.12 : Récapitulatif des constantes de complexation et des mobilités électrophorétiques du ligand seul et du complexe déterminées par régression non-linéaire 115
Tableau II.13 : Constantes apparentes de complexation et mobilité électrophorétique des différents complexes (Electrolyte: acide formique 25 mM, pH 3.8, en solution dans un mélange méthanol/eau 10/90 (v/v) ; $[Cl^-]_{tot}$ = 30 mM ; T = 298 K) 117
Tableau II.14 : Constantes de complexation de l'europium et mobilités électrophorétiques des différentes espèces, calculées à force ionique nulle 119
Tableau II.15 : Comparaison des constantes de complexation de l'europium par les ligands 14 et 15 en tenant compte ou non des variations de force ionique. 120
Tableau III.1 : Polymères synthétisés 142
Tableau III.2 : Conditions optimales de fonctionnement pour l'ICP/MS 144
Tableau III.3 : Quantité adsorbée (q_{ads}) pour chaque concentration initiale en europium 148
Tableau III.4 : Constantes de Langmuir (q_m et K) et constantes de Freundlich (a et m) déterminées par régression non linéaire pour chaque polymère de la série A. 150
Tableau III.5 : Récapitulatif des différentes conditions de minéralisation testées avec ce protocole. 153
Tableau III.6 : Conditions optimales de fonctionnement pour l'ICP/AES. 155
Tableau III.7 : Stœchiométries monomère/agent de réticulation théorique et expérimentale et taux d'incorporation du monomère dans le polymère pour chaque polymère de la série F. .. 156
Tableau III.8 : Stœchiométries monomère/agent de réticulation théorique et expérimentale et taux d'incorporation du monomère dans le polymère pour chaque polymère de la série G. . 156
Tableau III.9 : Stœchiométries monomère/agent de réticulation théorique et expérimentale et taux d'incorporation du monomère dans le polymère pour chaque polymère de la série H. . 157
Tableau III.10 : Stœchiométries monomère/agent de réticulation théorique et expérimentale et taux d'incorporation du monomère dans le polymère pour chaque polymère 2 G 158

Tableau III.11 : Stœchiométries monomère/agent de réticulation théorique et expérimentale et taux d'incorporation du monomère dans le polymère pour chaque polymère 2 H..... 158
Tableau III.12 : Constantes de Langmuir (q_m et K) déterminées par régression non linéaire pour les polymères 2 H - 1 et 2 H - 3. 159
Tableau III.13 : Constantes de Langmuir (q_m et K) déterminée par régression non linéaire pour chaque polymère de la série F..... 162
Tableau III.14 : Capacités maximales d'extraction déterminées par régression non linéaire à partir du modèle de Langmuir pour chaque polymère de la série G. 164
Tableau III.15 : Constantes de Langmuir (q_m et K) déterminées par régression non linéaire pour chaque polymère de la série H. 166
Tableau III.16 : Constantes de Langmuir (q_m et K) déterminées par régression non linéaire pour les polymères 3 F, 3 G et 3 H..... 167
Tableau III.17 : Coefficient de distribution (D) et coefficient de sélectivité (α) pour les polymères 2 F et 2 G. 171

Abréviations

ACE	Electrophorèse capillaire d'affinité
AF	Analyse frontale
BTP	Bis(triazinyl)pyridines
CE	Electrophorèse capillaire
CMPO	Oxyde de octyl(phényl)-N,N-diisobutyl-carbamoylméthylphosphine
d.e.	Diamètre externe
d.i.	Diamètre interne
DIAMEX	Diamide Extraction
DMDOHEMA	N,N'-diméthyl-N,N'-dioctyl-2-héxyloxyéthylmalonamide
DOTA	Acide 1,4,7,10-tétraazacyclododécane-N,N',N'',N'''-tétraacétique
D2EHPA	Acide di-2-éthylhexyl phosphorique
EHEHPA	2-éthylhexyl-éthylhexylhydrogenophosphate
Eq.	Equation
EXAFS	Spectroscopie d'absorption des rayons X
FS	Facteur de séparation
HD	Hummel-Dreyer
HEH[EHP]	Mono(2-éthylhexyl)2-éthylhexyl phosphonate
ICP/AES	Emission atomique à plasma induit
ICP/MS	Spectrométrie de masse à ionisation par plasma induit
IIP	Polymère à empreinte ionique
Ln	Lanthanide
LD	Limite de détection
NC	Nombre de coordination
n.d.	Non déterminé
NIIP	Polymère non imprimé
TBP	Tributylphosphate
TRLFS	Spectroscopie de fluorescence induite par laser en temps résolu
TODGA	N,N,N',N'-tétraoctyldiglycolamide
UV	Ultraviolet
VACE	Electrophorèse capillaire d'affinité et de vacance
VP	Pic vacant

Symboles

μ_{eo}	Mobilité électroosmotique
μ_{ep}	Mobilité électrophorétique
μ_{app}	Mobilité apparente
μ_{ep}^{L}	Mobilité électrophorétique effective du ligand L
$\mu_{ep\,L}$	Mobilité électrophorétique du ligand
$\mu_{ep\,ML}$	Mobilité électrophorétique du complexe ML
$\mu_{ep\,M_2L}$	Mobilité électrophorétique du complexe M_2L
q_{ads}	Quantité de soluté adsorbé par unité de masse de solide
D	Coefficient de distribution
a	Facteur pré-exponentiel (modèle de Freundlich)
m	Index d'hétérogénéité (modèle de Freundlich)
q_m	Capacité maximale d'extraction (modèle de Langmuir)
K	Constante d'extraction (modèle de Langmuir)

Fanny VARENNE

Développements analytiques pour le criblage d'interactions lanthanides/ligands

Résumé

Ce travail étudie le potentiel de l'électrophorèse capillaire couplée à la spectrométrie de masse à ionisation par plasma (ICP/MS) pour le criblage d'une bibliothèque de ligands en fonction de leur affinité pour l'europium en milieu hydro-organique. Cette méthode permet, d'une part, d'évaluer l'affinité des ligands phosphorés en moins de deux heures et en utilisant moins de 15 ng de ligand, et d'autre part, de déterminer les constantes de complexation. Les résultats sont en accord avec ceux obtenus par titrage spectrophotométrique.

Parallèlement, une bibliothèque de copolymères pour l'extraction solide/liquide de l'europium a été étudiée. Le protocole d'extraction mis au point permet de les classer selon leur affinité pour celui-ci en milieu hydro-organique et en utilisant 60 mg de copolymère. Pour les plus prometteurs, les propriétés de reconnaissance et la sélectivité $La^{3+}/Eu^{3+}/Lu^{3+}$ ont été évaluées.

Mots clefs : Criblage, Electrophorèse capillaire, ICP/MS, Spéciation, Polymère, Extraction, Europium.

Abstract

This work investigates the potential of hyphenated capillary electrophoresis and inductively coupled mass spectrometry to classify different ligands according to their europium binding affinity in a hydro-organic medium. On the one hand, this method enables to evaluate the affinity of phosphorus-containing ligands in less than two hours and using less than 15 ng of ligand. On the other hand, complexation constants could be determined. The results are in excellent agreement with the values obtained by spectrophotometric titrations.

Moreover, a library of copolymers for solid/liquid extraction of europium is investigated. The extraction protocol enables to classify copolymers according to their europium affinity in a hydro-organic medium. This screening requires 60 mg of copolymers. For the most promising, recognition properties and selectivity $La^{3+}/Eu^{3+}/Lu^{3+}$ are evaluated.

Keywords : Screening, Capillary electrophoresis, ICP/MS, Speciation, Polymers, Extraction, Europium.