



**HAL**  
open science

# Développement d'une plateforme analytique jetable basée sur l'isochophorèse pour la séparation et la caractérisation isotopique des lanthanides

Laurent Vio

► **To cite this version:**

Laurent Vio. Développement d'une plateforme analytique jetable basée sur l'isochophorèse pour la séparation et la caractérisation isotopique des lanthanides. Autre. Université Claude Bernard - Lyon I, 2010. Français. NNT : 2010LYO10300 . tel-00880233

**HAL Id: tel-00880233**

**<https://theses.hal.science/tel-00880233>**

Submitted on 5 Nov 2013

**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.

THESE

présentée

devant l'UNIVERSITE CLAUDE BERNARD – LYON 1

ECOLE DOCTORALE DE CHIMIE

pour l'obtention

du DIPLOME DE DOCTORAT

(arrêté du 7 août 2006)

**Spécialité : chimie**

présentée et soutenue publiquement le 6 Décembre 2010

par

**Laurent VIO**

**Développement d'une plateforme analytique jetable basée sur l'isotachophorèse pour la  
séparation et la caractérisation isotopique des lanthanides**

Directeurs de thèse : **Gérard CRETIER**  
**Frédéric CHARTIER**

JURY :

Président	Didier LEONARD	(Université de Lyon)
Rapporteur	Pierre GAREIL	(Ecole Nationale Supérieure de Chimie de Paris)
Rapporteur	Olivier F. X. DONARD	(Université de Pau et des Pays de l'Adour)
Directeur de thèse	Gérard CRETIER	(Université de Lyon)
Co-directeur de thèse	Frédéric CHARTIER	(CEA Saclay)
Examineur	Valérie GEERTSEN	(CEA Saclay)
Examineur	Pierre MORIN	(Université de Lyon)

# UNIVERSITE CLAUDE BERNARD - LYON 1

## **Président de l'Université**

Vice-président du Conseil Scientifique

Vice-président du Conseil d'Administration

Vice-président du Conseil des Etudes et de la Vie Universitaire

Secrétaire Général

**M. le Professeur L. Collet**

M. le Professeur J-F. Mornex

M. le Professeur G. Annat

M. le Professeur D. Simon

M. G. Gay

## **COMPOSANTES SANTE**

Faculté de Médecine Lyon Est – Claude Bernard

Faculté de Médecine Lyon Sud – Charles Mérieux

UFR d'Odontologie

Institut des Sciences Pharmaceutiques et Biologiques

Institut des Sciences et Techniques de Réadaptation

Département de Biologie Humaine

Directeur : M. le Professeur J. Etienne

Directeur : M. le Professeur F-N. Gilly

Directeur : M. le Professeur D. Bourgeois

Directeur : M. le Professeur F. Locher

Directeur : M. le Professeur Y. Matillon

Directeur : M. le Professeur P. Farge

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

Faculté des Sciences et Technologies

Département Biologie

Département Chimie Biochimie

Département GEP

Département Informatique

Département Mathématiques

Département Mécanique

Département Physique

Département Sciences de la Terre

UFR Sciences et Techniques des Activités Physiques et Sportives

Observatoire de Lyon

Ecole Polytechnique Universitaire de Lyon 1

Institut Universitaire de Technologie de Lyon 1

Institut de Science Financière et d'Assurance

Institut Universitaire de Formation des Maîtres

Directeur : M. le Professeur F. Gieres

Directeur : M. le Professeur C. Gautier

Directeur : Mme le Professeur H. Parrot

Directeur : M. N. Siauve

Directeur : M. le Professeur S. Akkouche

Directeur : M. le Professeur A. Goldman

Directeur : M. le Professeur H. Ben Hadid

Directeur : Mme S. Fleck

Directeur : M. le Professeur P. Hantzpergue

Directeur : M. C. Collignon

Directeur : M. B. Guiderdoni

Directeur : M. le Professeur J. Lieto

Directeur : M. le Professeur C. Coulet

Directeur : M. le Professeur J-C. Augros

Directeur : M R. Bernard

*"La simplicité est la sophistication suprême"*

Leonardo da Vinci

# Remerciements

Ce travail a été réalisé en étroite collaboration entre le Laboratoire des Sciences Analytiques (LSA), l'Institut des Nanotechnologies de Lyon (INL) : deux laboratoires appartenant à l'Université de Lyon et le Laboratoire d'Analyses Nucléaires Isotopiques et Élémentaires (LANIE) du CEA Saclay. A ce titre je tiens à remercier Jérôme Randon et Florence Goutelard respectivement directeur du LSA et du LANIE pour m'avoir accueilli au sein de leur équipe et donné les moyens de réaliser ce travail dans les meilleures conditions.

J'adresse une pensée toute particulière à Monsieur Jean-Louis Rocca anciennement directeur de recherche au CNRS et directeur du LSA pour l'homme qu'il était et qui nous a quitté le 19 septembre 2009.

J'exprime également toute ma reconnaissance à Messieurs Pierre Gareil (ENSCP) et Olivier F. X. Donard (Université de Pau et des Pays de l'Adour) pour avoir accepté d'évaluer ce travail en tant que rapporteurs. Je remercie également Monsieur Didier Léonard, Professeur à l'Université de Lyon, d'avoir accepté de présider ce jury.

Mes plus sincères remerciements s'adressent à Monsieur Gérard Crétier, qui a dirigé cette thèse, pour sa présence permanente, ses conseils, son soutien mais également son implication sans faille durant ces trois années. Je tiens également à remercier Monsieur Frédéric Chartier pour m'avoir fait confiance quant à la conduite de ce projet mais également pour sa présence et son soutien. Enfin j'adresse mes remerciements à Madame Valérie Geertsen pour son suivi régulier des travaux et des évolutions apportées au projet et ce en toutes circonstances.

D'autres personnes ayant participé à ce travail doivent également être remerciées, je pense dans un premier temps au Monsieur Pierre Morin de l'INL pour avoir accepté de concevoir les microsystèmes et de me faire profiter de ses connaissances dans les techniques de photolithographie. Mais également au duo d'isotopistes Hélène I. et Alkis G. que je remercie chaleureusement pour toutes ces explications sur le fonctionnement de l'Iso et de leurs semblables. Alkis, j'espère vraiment que l'on aura l'occasion de retravailler ensemble.

Dans un registre moins formel je tiens également à remercier tous mes camarades, collègues et amis du LSA et du LANIE. Dans un ordre totalement aléatoire : Yoann L., Thuy N., Maguy A., Claire D., Vincent D., Florence L., Nazim M., Alain B., Joseph C., Karine F., Michel A., Carole B., Céline C., Anthony N., Guillaume S., Vivi et j'en oublis sûrement beaucoup, un grand merci à vous.

Enfin, des remerciements à part pour Anthony Bruchet pour tous ces instants mémorables aux LSA et en dehors, sans oublier Richard Roux pour ces trois années hautes en couleurs. Merci enfin à tout ceux que j'ai oublié mais qui font partis intégrante de ces lignes.

# Principales notations

## Notations et acronymes

HMBA	acide 2-hydroxy-2-méthylbutyrique	
HIBA	acide hydroxyisobutyrique	
MS	spectromètre de masse	
ICP	inductively coupled plasma	
K	constante	
CZE	électrophorèse capillaire de zone	
$k_i$	constante de formation de l'espèce i	
CEC	électrochromatographie capillaire	
ITP	isotachophorèse	
TIMS	spectrométrie de masse à thermo-ionisation	
KRF(x)	constante de Kohlrausch	
$R_s$	résolution	
$\alpha$	sélectivité	
amin	sélectivité minimale	
HEC	hydroxyéthylcellulose	
PEG	poly éthylène glycol	
COC	copolymère de cyclo-oléfine	
PMMA	poly méthacrylate de méthyle	
PC	poly carbonate	
PDMS	poly dimethylsiloxane	
u.m.a	unité de masse atomique	
LIF	fluorescence induite par laser	
ECD	détection électrocinétique	
LED	diode électroluminescente	
C4D	capacitively coupled contactless conductivity détection	
BAG	boîte à gant	
REP	réacteur à eau pressurisée	
RSD%	déviati on standard relative : écart-type relatif	%

## Constantes physiques

e	charge élémentaire d'un électron	$1,6 \cdot 10^{-19}$ C
R	constante des gaz parfaits	$8,314 \text{ J} \cdot \text{mol}^{-1} \cdot \text{K}^{-1}$
F	constante de Faraday	96500 C

## Quantités

k	conductivité spécifique du système	$\mu\text{S} \cdot \text{cm}^{-1} \cdot \text{mg}^{-1} \cdot \text{L}$
$\chi$	abondance en solution de l'espèce (i)	%
J	densité de courant	$\text{A} \cdot \text{m}^{-2}$
q(i)	charge globale d'un ion (i)	C
$\sigma$	densité de charge	$\text{C} \cdot \text{m}^{-2}$
L	longueur du système de séparation	Cm

$L_i$	longueur totale des bandes après séparation ITP	cm
$L^*_i$	longueur des bandes purifiée à plus de 99% après séparation ITP	cm
$L_{sep}$	critère de séparation	cm
$\mu_{ep}(i)$	mobilité électrophorétique de l'espèce (i)	$cm^2.V^{-1}.s^{-1}$
$\mu_{eo}$	mobilité électroosmotique	$cm^2.V^{-1}.s^{-1}$
$T$	température absolue	$^{\circ}K$
$T_g$	transition vitreuse	$^{\circ}K$
$r$	rayon d'exclusion de Stokes	m
$\delta$	épaisseur de la double couche	m
$D$	diamètre interne du système de séparation	m
$W_{AB}$	largeur de dispersion	m
$v_{ep}$	vitesse électrophorétique de migration	$m.s^{-1}$
$v_{eo}$	vitesse électroosmotique de migration	$m.s^{-1}$
$S$	section interne du système de séparation	$m^2$
$D_i$	coefficient de diffusion de l'espèce (i)	$m^2.s^{-1}$
$V_{inj}$	volume d'injection	$m^3$
$Q$	quantité unitaire de dispersion	mol
$C_i$	concentration de l'ion (i)	$mol.L^{-1}$
$f_i$	flux de matière dus à la migration	$mol.m^{-2}.s^{-1}$
$Q_i$	quantité massique introduite dans le système	ng
$Q^*_i$	quantité purifiée à plus de 99% après séparation ITP	ng
$\Delta P$	différence de pression à l'injection	Pa
$\eta$	viscosité	Pa.s
$t_i$	temps d'élution total des bandes après séparation ITP	s
$t^*_i$	temps d'élution des bandes purifiée à plus de 99% après séparation ITP	s
$t_{inj}$	temps d'injection	S
$U$	différence de potentiel	V
$E$	champ électrique	$V.m^{-1}$

# Sommaire

<b>Introduction générale : problématique.....</b>	<b>7</b>
<b>chapitre 1 Bibliographie .....</b>	<b>11</b>
<b>1.1. Propriétés physico-chimiques des lanthanides.....</b>	<b>11</b>
1.1.1 Degré d'oxydation .....	11
1.1.2 Rayon ionique.....	13
1.1.3 Coordination des lanthanides .....	13
<b>1.2. Séparation des lanthanides .....</b>	<b>15</b>
1.2.1 Les techniques chromatographiques pour l'analyse des lanthanides .....	15
1.2.1.1 Chromatographie ionique et premiers développements.....	15
1.2.1.2 Chromatographie liquide haute performance .....	17
1.2.1.3 Nouvelles phases stationnaire chélatantes.....	18
1.2.1.4 Développement future en lien avec la problématique .....	18
1.2.2 Les techniques électroséparatives pour l'analyse des lanthanides .....	19
1.2.2.1 Généralités sur les méthodes électrocinétiques de séparation.....	19
1.2.2.2 Séparation des lanthanides par électrophorèse de zone.....	22
1.2.2.3 Séparation des lanthanides par électrochromatographie sur résine échangeuse d'ions .....	24
1.2.2.4 Inconvénients de l'électrophorèse et de l'électrochromatographie vis à vis de la problématique.....	25
<b>1.3. Isotachophorèse .....</b>	<b>26</b>
1.3.1 Principe de séparation.....	26
1.3.2 Modèle de migration en isotachophorèse .....	27
1.3.3 Modèle de migration simplifié en isotachophorèse .....	29
1.3.4 Modèle simplifié et principe de migration pour des solutés monovalents .....	29
1.3.5 Résolution en ITP et grandeurs caractéristique de séparation .....	31
1.3.6 Les sources de dispersion en ITP .....	33
1.3.7 Electrolytes de séparation des lanthanides : rôle et composition .....	36
1.3.7.1 Electrolyte leader .....	36
1.3.7.2 Electrolyte terminal.....	37
<b>1.4. Les microsystemes séparatifs .....</b>	<b>38</b>
1.4.1 Généralités .....	38
1.4.2 Microsystemes en verre .....	38
1.4.3 Microsystemes en plastique.....	39
1.4.3.1 Propriétés physiques des substrats polymériques.....	39
1.4.3.2 Fabrication des microsystemes polymériques .....	40

1.4.3.3	Sources de dispersion en ITP sur microsysteme .....	42
1.4.3.4	Détection sur microsysteme.....	45
1.4.4	Protocoles de mesure isotopique post séparation .....	49
1.4.4.1	Méthode hors ligne : collection sur microsysteme pour analyse par TIMS .....	49
1.4.4.2	Méthode en ligne : mesures isotopiques sur signaux transitoires par couplage ITP/ICP-MS.....	51
<b>1.5.</b>	<b>Conclusion .....</b>	<b>52</b>
	<b>Références bibliographiques.....</b>	<b>54</b>
<b>chapitre 2</b>	<b>Conception et application d'un système d'électrolytes pour la séparation isotachophorétique des produits de fission .....</b>	<b>60</b>
<b>2.1</b>	<b>Contraintes à prendre en compte dans la définition du système d'électrolytes de séparation.....</b>	<b>60</b>
<b>2.2</b>	<b>Matériels et méthodes .....</b>	<b>61</b>
2.2.1	Dispositif de séparation.....	61
2.2.2	La détection .....	61
2.2.3	Préparation des standards en lanthanides et produits chimiques .....	62
<b>2.3</b>	<b>Définition des conditions expérimentales .....</b>	<b>63</b>
2.3.1	Principe de mesure des mobilités électrophorétiques par électrophorèse.....	63
2.3.2	La valeur du champ électrique .....	63
2.3.3	Conditions d'injection.....	64
2.3.4	Conditionnement du capillaire .....	64
2.3.5	Conditions expérimentales de séparation.....	64
<b>2.4</b>	<b>Formulation de l'électrolyte leader.....</b>	<b>65</b>
2.4.1	Définition du domaine d'étude .....	65
2.4.2	Comparaison des agents complexants et définition des conditions optimales de complexation par CZE.....	68
2.4.3	Comparaison des agents complexants pour la séparation des lanthanides par ITP .....	70
<b>2.5</b>	<b>Définition de l'électrolyte terminal : .....</b>	<b>71</b>
2.5.1	Electrolyte terminal et dépendance au pH .....	71
2.5.2	L'acide acétique.....	72
<b>2.6</b>	<b>Influence des autres produits de fission sur la séparation .....</b>	<b>73</b>
2.6.1	Uranium (U).....	73
2.6.2	Américium (Am) et Curium (Cm).....	75
2.6.3	Césium (Cs) et Yttrium (Y).....	75

2.7	Conclusion .....	77
	Références bibliographiques.....	79
chapitre 3	Optimisation des conditions de séparation des lanthanides par ITP.....	80
3.1	Définition et calcul de la résolution .....	80
3.2	Identification des paramètres d'influence.....	82
3.3	Choix des échantillons.....	84
3.4	Conditions d'injection .....	84
3.4.1	Paramétrage de l'injection .....	84
3.4.2	Quantité injectée.....	85
3.5	Conditions de séparation.....	85
3.5.1	Composition des électrolytes .....	85
3.5.2	Système de séparation .....	86
3.6	Etude des paramètres de séparation .....	86
3.6.1	Influence de la section du système de séparation .....	86
3.6.2	Influence de l'intensité du courant .....	88
3.6.3	Influence de la concentration en ion leader .....	90
3.6.4	Influence de la longueur de séparation.....	93
3.6.5	Importance de la mobilité électroosmotique .....	94
3.6.6	Réduction de la concentration des échantillons .....	96
3.7	Séparation des lanthanides dans les conditions optimisées.....	99
3.8	Conclusion .....	101
	Références bibliographiques.....	103
chapitre 4	Séparations sur microsystème .....	104
4.1	Matériel.....	104
4.1.1	Nature du substrat .....	104
4.1.2	Procédé de fabrication .....	105
4.1.1.1	Fabrication du moule de réplique .....	105
4.1.1.2	Hot embossing.....	107
4.1.1.3	Usinage .....	108

4.1.1.4	Collage .....	109
<b>4.2</b>	<b>Microsystème de première génération : transposition de la séparation des lanthanides par ITP sur système miniaturisé fermé .....</b>	<b>110</b>
4.2.1	Présentation générale du dispositif .....	110
4.2.2	Fonctionnement du dispositif .....	111
4.2.3	Conception d'une électrode en ligne pour la séparation des lanthanides .....	112
4.2.4	Application à la séparation des lanthanides sur microsystème de première génération. .....	113
<b>4.3</b>	<b>Microsystème de seconde génération .....</b>	<b>114</b>
4.3.1	Présentation générale .....	114
4.3.2	Fonctionnement du dispositif .....	116
4.3.3	Séparation d'un mélange de lanthanides.....	116
<b>4.4</b>	<b>Conclusion .....</b>	<b>118</b>
	<b>Références bibliographiques.....</b>	<b>119</b>
<b>chapitre 5</b>	<b>Couplage ITP/ICP-MS.....</b>	<b>120</b>
<b>5.1</b>	<b>Instrumentation .....</b>	<b>121</b>
5.1.1	Séparation par ITP .....	121
5.1.2	Interface ITP/ICP-MS .....	122
5.1.1.1	Système de nébulisation .....	122
5.1.1.2	Positionnement du capillaire.....	123
5.1.3	Spectromètre de masse ICP-MS .....	124
5.1.1.3	Principe de fonctionnement d'un ICP .....	124
5.1.1.4	Les analyseurs.....	126
5.1.4	Dispositif expérimental d'injection .....	130
5.1.5	Choix des échantillons .....	131
<b>5.2</b>	<b>Couplage ITP/ICP-QMS .....</b>	<b>132</b>
5.2.1	Couplage avec le système double capillaire.....	133
5.2.2	Analyse de combustibles reconstitués UOX et MOX.....	135
5.2.3	Couplage avec le microsystème de seconde génération .....	137
<b>5.3</b>	<b>Nucléarisation du microsystème et couplage ITP/MC-ICP-MS .....</b>	<b>138</b>
5.3.1	Adaptation du protocole à l'environnement en BAG.....	138
5.3.2	Séparation en BAG.....	140
5.3.3	Mesure de rapports isotopiques sur signaux transitoires.....	141
<b>5.4</b>	<b>Mesure isotopique en flux continu d'échantillon .....</b>	<b>145</b>

<b>5.5 Conclusion .....</b>	<b>147</b>
<b>Références bibliographiques.....</b>	<b>149</b>
<b>Conclusion générale.....</b>	<b>150</b>
<i>Annexe I : Construction des diagrammes d'abondances des formes complexées.....</i>	<i>153</i>
<i>Annexe II : Suppression de l'écoulement électroosmotique : optimisation du traitement au PVA .....</i>	<i>156</i>
<i>Annexe III : Conditions électrolytiques et expérimentales d'électrodéposition pour la fabrication de canaux d'approximativement 150 µm d'épaisseur.....</i>	<i>159</i>
<i>Annexe IV : Composition massique des combustibles MOX et UOX reconstitués.....</i>	<i>160</i>

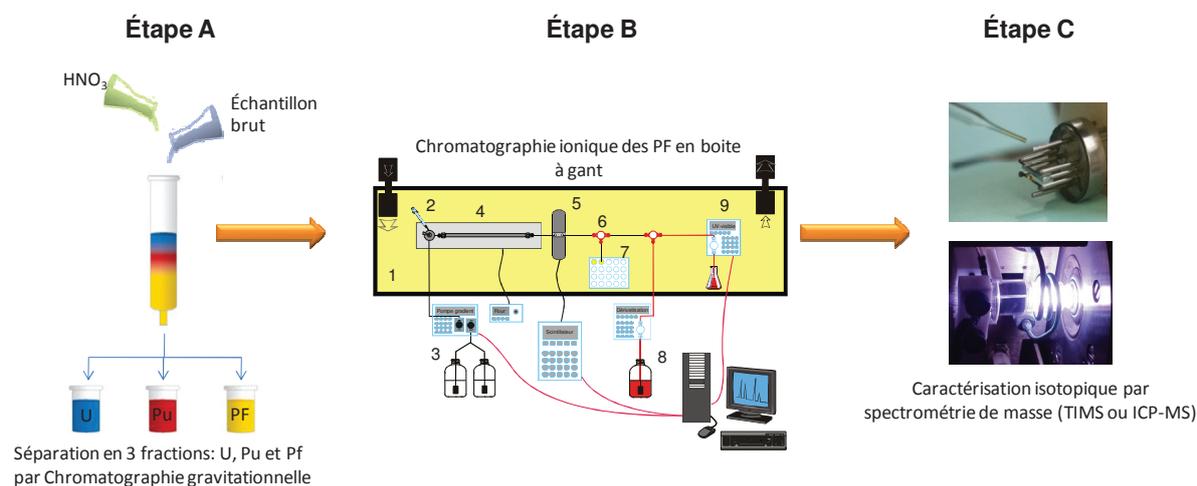
# Introduction générale : problématique

Face à l'évolution croissante de la demande en énergie dans le monde et à la lutte contre le réchauffement climatique, l'énergie nucléaire connaît actuellement un renouveau. Dans ce contexte, de nombreux et importants programmes du nucléaire nécessitent des analyses isotopiques et élémentaires précises. Ces programmes portent sur différents domaines du développement et de l'innovation nucléaire ainsi que du soutien au nucléaire industriel. On peut citer, par exemple, les études liées à l'amélioration de la sûreté des Réacteurs Eau Pressurisée (REP), à la transmutation des éléments radioactifs à vie longue, au retraitement, à l'entreposage et au stockage des déchets etc...

La caractérisation fine des combustibles nucléaires irradiés est indispensable pour valider les codes de calculs neutroniques, en particulier pour les études relatives au retraitement des combustibles usés et à la gestion des déchets nucléaires. Ces études sont soumises à une réglementation en matière de radioprotection qui reprend le principe d'optimisation ALARA (As Low As Reasonably Achievable). C'est ainsi que la mise en œuvre de techniques analytiques novatrices se doit d'être proposée dans le but de réduire l'impact sanitaire et environnemental de ces activités. Aux aspects réglementaires, s'ajoutent des considérations économiques. En effet le retraitement des effluents analytiques radioactifs représente un coût très important pour les laboratoires. Ceci est particulièrement dû à la composition des effluents analytiques qui ne répondent que très rarement aux critères d'acceptabilité des stations de traitement des effluents liquides. Pour palier à cela, les effluents sont le plus souvent dilués, multipliant d'autant le coût du retraitement.

Après utilisation dans les réacteurs de recherche ou de production d'électricité, des crayons de combustible usé judicieusement choisis sont tronçonnés en enceinte blindée, puis mis en solution et transmis au laboratoire d'analyse de Saclay en charge de déterminer leur contenu isotopique avec des précisions de l'ordre de quelques pour mille. L'accès à ces informations impose le recours à des techniques de haute sensibilité et justesse comme la spectrométrie de masse associée à des sources d'ionisation élémentaire comme l'ionisation thermique (TIMS pour spectrométrie de masse à thermo-ionisation) ou bien plus récemment l'ionisation par plasma (ICP-MS pour spectrométrie de masse à source plasma à couplage inductif). Précises et sensibles, ces méthodes ne permettent pas de s'affranchir des interférences isobariques contenues dans le spectre des actinides (U, Pu, Am, Cm) et des produits de fission (PF) comprenant, entre autres éléments, les lanthanides (Ln). Afin de s'affranchir de toute interférence en masse, un protocole analytique incluant deux étapes de séparation chimique et une étape de collection de chaque élément d'intérêt précède ainsi la caractérisation du contenu isotopique des combustibles usés par spectrométrie de masse.

Qu'ils soient à base d'oxydes d'uranium (UOX) ou d'oxydes mixtes uranium-plutonium (MOX), les combustibles contiennent très majoritairement de l'uranium et du plutonium. La fraction des PF d'intérêt qu'il est nécessaire d'isoler pour une caractérisation isotopique, ne représente qu'une faible proportion de la solution. Une première étape de chromatographie gravitationnelle sur résine échangeuse d'anions en milieu nitrique concentré sépare ainsi le combustible en trois fractions : U, Pu et PF (Figure i étape A). La fraction contenant les PF est ensuite séparée par chromatographie en phase liquide par échange de cations auquel est superposée une réaction de complexation, vecteur de sélectivité entre les lanthanides et les actinides trivalents. Cette étape a pour objectif de séparer et de collecter individuellement chaque élément d'intérêt. La collecte est ici opérée en parallèle de la détection (UV visible après ajout d'un chromophore suivi d'une détection à scintillation) en raison de l'incompatibilité du chromophore avec les méthodes d'ionisation post-séparation (TIMS). (Figure i étape B).



**Figure i : schéma du processus de caractérisation isotopique des combustibles nucléaires utilisés en trois étapes. 1 enceinte de la boîte à gants, 2 vanne d'injection, 3 pompe à gradient, 4 colonne chromatographique thermostatée, 5) détecteur à scintillation, 6 dérivation, 7 collecteur de fraction, 8 complexant chromophore, 9 détection UV-Vis.**

La précision de la collecte et donc la pureté des fractions mono-élémentaires repose alors sur le dimensionnement du système et sur la synchronisation des écoulements dans les deux voies (détection, et collecte). Les fractions monélémentaires collectées sont ensuite portées à sec et reprises dans un volume convenable d'acide nitrique afin de neutraliser le complexant organique et permettre les mesures isotopiques par TIMS ou ICP-MS à multi-collection selon la nature de l'élément (Figure i étape C).

Bien que satisfaisant du point de vue analytique, ce protocole à étapes s'accompagne de contraintes importantes. En effet, afin de satisfaire aux impératifs de précision et de justesse de

l'ordre de quelques pour mille, nécessaires pour la validation des codes de calculs neutronique : l'attention doit être portée sur les risques de contaminations croisées entre analyses. Si la première étape de chromatographie gravitationnelle à base de matériel jetable ne génère aucun risque, ce n'est pas le cas pour l'instrument de chromatographie en phase liquide. De plus les étapes de rinçage de l'injecteur et de la colonne génèrent des temps d'exposition supplémentaires des personnels aux radiations (même si toutes les opérations sont effectuées en Boite à Gants (BAG)) et des volumes importants de déchets liquides. La solution pour faire face à ces contraintes d'exposition et de déchets consiste à développer un dispositif de séparation miniaturisé, automatisé et jetable, à l'image des microsystemes capables de satisfaire à plusieurs étapes d'un processus analytique. L'essor de ces systèmes annoncés comme de véritables laboratoires sur puce, bénéficie des développements technologiques de la micro-électronique. Après une intégration réussie dans le secteur de la biochimie avec les puces à ADN, ces systèmes semblent être en mesure de répondre aux exigences d'un secteur comme l'industrie du nucléaire. Toutefois, la réalisation d'un tel dispositif miniaturisé implique de devoir repenser les protocoles de séparation actuellement utilisés.

Les méthodes chromatographiques semblant difficilement transposables sur ces microsystemes, il convient donc de se tourner vers les techniques d'électromigration et, plus particulièrement, vers l'isotachophorèse (ITP) qui semble être la seule technique capable de répondre simultanément aux exigences de séparation et de volume minimal d'échantillon à traiter : en effet, compte tenu de la concentration des PF dans les échantillons de combustibles usés, une mesure précise des rapports isotopiques impose l'injection de quelques microlitres d'échantillon.

Initiée par une étude de la littérature scientifique, la première partie de ce manuscrit est d'abord consacrée à la chimie des éléments du block f, afin d'identifier et de comprendre les phénomènes conduisant à la séparation de ces éléments ainsi que les différentes techniques de séparation envisageables. Ensuite, au regard de la théorie et des applications, sont explicitées les principales caractéristiques de l'ITP ainsi que ses apports dans la séparation et la miniaturisation de l'analyse des lanthanides. Enfin, ce premier chapitre bibliographique s'achève par une présentation générale des microsystemes séparatifs, des technologies de fabrication actuellement développées en lien avec les substrats utilisés et des solutions envisageables pour la mesure des rapports isotopiques en aval de la séparation sur microsysteme. Le deuxième chapitre présente une succession d'études menées en électrophorèse capillaire de zone (CZE) sur la complexation des lanthanides dans le but de déterminer la composition optimale des électrolytes nécessaires à la séparation isotachophorétique de ces éléments sur capillaire, ceci dans le respect des contraintes de fonctionnement imposées par la spectrométrie de masse susceptible d'être utilisée en aval. Le troisième chapitre est consacré à l'étude de l'influence des paramètres méthodologiques et expérimentaux sur la qualité de la séparation par ITP, le but étant d'optimiser les conditions pour répondre à la problématique posée :

minimiser la quantité de combustible usé nécessaire et des déchets liquides produits et faciliter la mesure des rapports isotopiques des PF. Les conditions de séparation ayant été optimisées et le volume nécessaire à la séparation ayant été dimensionné, la séparation des lanthanides a pu être transposée sur un microsysteme adapté et ceci fait l'objet du chapitre 4. Enfin, le cinquième et dernier chapitre s'attache à présenter les développements et résultats obtenus dans l'application de l'ITP à la mesure isotopique et en particulier à la réalisation du couplage ITP/ICP-MS.

# chapitre 1 Bibliographie

De tout temps, la séparation des lanthanides, éléments de la 6<sup>ème</sup> période, s'est avérée délicate. Ce n'est qu'au début du XVIII<sup>ème</sup> siècle que Jöns Jacob Berzelius parvient à isoler et identifier le premier lanthanide à savoir le cérium. Ces travaux succèdent chronologiquement à l'identification par Gadolin en 1794 de l'yttrium contenu dans un minerai noir provenant du village d'Ytterby en Suède. Ce minerai se révélera quelques années plus tard contenir la grande majorité des lanthanides sous formes d'oxydes [1]. Cette mise en évidence tardive leur a ainsi valu l'appellation de terres rares, bien que leur abondance naturelle sous forme d'oxydes, carbonates et phosphates dépasse celle de métaux comme l'argent ou l'or. Comprenant quinze éléments depuis le lanthane jusqu'au lutécium, les lanthanides sont présents à faible concentration dans le minerai et leurs applications commerciales se sont révélées au départ limitées. Ce n'est que dans les années 50 avec le développement des activités liées au nucléaire que l'intérêt scientifique pour ces éléments a connu un profond essor. En effet, produits en importantes quantités lors des réactions de fission, le retraitement, le stockage et plus récemment le recyclage de ces éléments ont demandé des connaissances approfondies. Dès lors, le besoin de séparer et d'isoler individuellement les lanthanides a entraîné une utilisation importante des techniques séparatives. De nos jours, les techniques existantes s'avèrent insuffisamment efficaces et/ou sélectives pour permettre une séparation directe des lanthanides et cela en raison de propriétés physico-chimiques semblables en termes de degré d'oxydation et de rayon ionique. Ces particularités ont abouti à l'utilisation de réactions de complexation visant à accroître la sélectivité intra période des lanthanides.

## 1.1. Propriétés physico-chimiques des lanthanides

### 1.1.1 Degré d'oxydation

Éléments de la 6<sup>ème</sup> période, les lanthanides se caractérisent par la présence d'une couche 4f incomplète dont le remplissage progressif le long de la période joue un rôle prédominant sur leurs propriétés physico-chimiques. Si à l'état solide, des degrés d'oxydation +4 et +2 existent, ces derniers ne sont que la conséquence de configurations électroniques particulières de plus grande stabilité. Seule espèce tétravalente stable, la formation de Ce<sup>4+</sup> fait suite à l'adoption de la structure interne du gaz rare Xe après arrachement du premier électron peuplant la couche 4f. Les éléments bivalents proviennent quant à eux de l'hybridation de l'électron de la couche externe 5d afin de partiellement

compléter la couche interne 4f et ainsi accroître sa stabilité selon la configuration [Xe]4f7 pour l'Eu et [Xe]4f14 pour le Lu. Malgré ces quelques cas particuliers, la chimie des lanthanides à l'état solide est dominée par l'état trivalent.

**Tableau 1-1 : potentiels d'ionisation des lanthanides en KJ.mol<sup>-1</sup> [2].**

élément	I <sub>1</sub>	I <sub>2</sub>	I <sub>3</sub>	I <sub>1+I<sub>2</sub>+I<sub>3</sub></sub>	I <sub>4</sub>
Ce	527	1047	1949	3523	3547
Pr	523	1018	2086	3627	3761
Nd	530	1035	2130	3695	3899
Pm	524	1052	2150	3726	3970
Sm	543	1068	2260	3871	3990
Eu	547	1085	2404	4036	4110
Gd	593	1167	1990	3750	4250
Tb	565	1112	2114	3791	3839
Dy	572	1126	2200	3898	4501
Ho	581	1139	2204	3924	4150
Er	589	1151	2194	3934	4115
Tm	597	1163	2285	4045	4119
Yb	603	1176	2415	4194	4220
Lu	524	1340	2022	3886	4360

Comme le montre le Tableau 1-1, l'évolution des potentiels d'ionisation présente une forte inhomogénéité entre les énergies de troisième et de quatrième ionisation, à tel point que le potentiel de quatrième ionisation surpasse la somme de trois précédentes valeurs. Cette variation s'explique par la proximité de la couche 4f et du noyau. Le Tableau 1-2 regroupe les différents niveaux d'oxydation des lanthanides, les espèces stables formées et la configuration électronique du lanthanide correspondant [3]

**Tableau 1-2 : résumé des états d'oxydation majoritaires des lanthanides et les configurations électroniques correspondantes [4].**

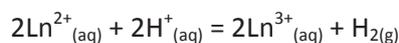
élément	Configuration électroniques supposées			
	0	+2	+3	+4
La	5d <sup>1</sup> 6s <sup>2</sup>		4f <sup>0</sup> (La <sup>3+</sup> )	
Ce	4f <sup>1</sup> 5d <sup>1</sup> 6s <sup>2</sup>	4f <sup>2</sup> (CeCl <sub>2</sub> )	4f <sup>1</sup> (Ce <sup>3+</sup> )	4f <sup>0</sup> (CeO <sub>2</sub> , CeF <sub>4</sub> , Ce <sup>4+</sup> )
Pr	4f <sup>3</sup> 6s <sup>2</sup>		4f <sup>2</sup> (Pr <sup>3+</sup> )	4f <sup>1</sup> (PrO <sub>2</sub> , PrF <sub>4</sub> , K <sub>2</sub> PrF <sub>6</sub> )
Nd	4f <sup>4</sup> 6s <sup>2</sup>	4f <sup>4</sup> (NdI <sub>2</sub> )	4f <sup>3</sup> (Nd <sup>3+</sup> )	4f <sup>2</sup> (Cs <sub>3</sub> NdF <sub>7</sub> )
Pm	4f <sup>5</sup> 6s <sup>2</sup>		4f <sup>4</sup> (Pm <sup>3+</sup> )	
Sm	4f <sup>6</sup> 6s <sup>2</sup>	4f <sup>6</sup> (SmX <sub>2</sub> , SmO)	4f <sup>5</sup> (Sm <sup>3+</sup> )	
Eu	4f <sup>7</sup> 6s <sup>2</sup>	4f <sup>7</sup> (Eu <sup>2+</sup> )	4f <sup>6</sup> (Eu <sup>3+</sup> )	
Gd	4f <sup>7</sup> 5d <sup>1</sup> 6s <sup>2</sup>		4f <sup>7</sup> (Gd <sup>3+</sup> )	
Tb	4f <sup>9</sup> 6s <sup>2</sup>		4f <sup>8</sup> (Tb <sup>3+</sup> )	4f <sup>7</sup> (TbO <sub>2</sub> , TbF <sub>4</sub> , Cs <sub>3</sub> TbF <sub>7</sub> )
Dy	4f <sup>10</sup> 6s <sup>2</sup>		4f <sup>9</sup> (Dy <sup>3+</sup> )	4f <sup>8</sup> (Cs <sub>3</sub> DyF <sub>7</sub> )
Ho	4f <sup>11</sup> 6s <sup>2</sup>		4f <sup>10</sup> (Ho <sup>3+</sup> )	
Er	4f <sup>12</sup> 6s <sup>2</sup>		4f <sup>11</sup> (Er <sup>3+</sup> )	
Tm	4f <sup>13</sup> 6s <sup>2</sup>	4f <sup>13</sup> (TmI <sub>2</sub> )	4f <sup>12</sup> (Tm <sup>3+</sup> )	
Yb	4f <sup>14</sup> 6s <sup>2</sup>	4f <sup>4</sup> (YbX <sub>2</sub> , Yb <sub>2</sub> <sup>+</sup> )	4f <sup>13</sup> (Yb <sup>3+</sup> )	
Lu	4f <sup>14</sup> 5d <sup>1</sup> 6s <sup>2</sup>		4f <sup>14</sup> (Lu <sup>3+</sup> )	

En solution dans l'eau, l'état d'oxydation des lanthanides s'harmonise à l'état +3 pour l'ensemble des éléments de la période au travers de réactions d'oxydo-réduction. Les éléments de valence supérieure comme le Ce oxyde l'eau en oxygène tandis que les éléments de valence inférieure

réduisent l'eau en hydrogène. Les équations des réactions mises en jeu sont décrites ci-dessous pour chacun de deux cas.



et



### 1.1.2 Rayon ionique

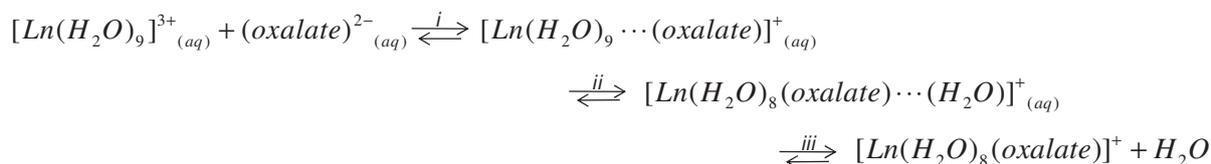
La réduction progressive du rayon ionique des lanthanides en fonction de l'augmentation du numéro atomique est connue sous le nom de contraction lanthanidique. Typique des éléments du groupe f (lanthanides et actinides), cette diminution provient de la faible capacité de blindage des électrons de la couche f envers les électrons de valence des couches externes. Bien qu'immédiatement compensée par l'addition d'électrons, l'augmentation de la charge du noyau provoque une contraction de l'atome ou de l'ion, passant de 117 pm pour La à 100 pm pour Lu, soit plus de 15% de réduction [5]. Cette contraction impacte également la nature des liaisons avec les lanthanides. La couche 4f étant fortement attirée par la densité de charge du noyau, les interactions avec d'autres molécules impliquent la réalisation de liaisons ioniques à longue distance avec la formation d'espèces lanthanides complexées en solution.

### 1.1.3 Coordination des lanthanides

Les liaisons ioniques n'étant pas fixes et dirigées dans l'espace, la notion de nombre de coordination traduit le nombre de site à la surface du métal susceptible d'accueillir un groupement donneur d'un ligand. En tant qu'acide dur au sens de Lewis, les lanthanides se lient préférentiellement avec les bases dures que sont les composés fluorés, oxygénés, azotés ou soufrés.

En raison de leur taille et de leur charge nucléaire, les lanthanides présentent des nombres de coordination d'ordre 9 pour les premiers éléments avec un passage à 8 en milieu de période. En solution, ces nombres de coordination ne sont que des suppositions s'inspirant de mesures faites en diffraction X sur des cristaux de lanthanides hydratés [6]. En effet, en solution, la rapidité d'échange des molécules d'eau à la surface des lanthanides empêche une mesure précise. Pour des composés métalliques trivalents stables en solution comme  $\text{Cr}^{3+}$ , la durée de vie moyenne d'une liaison métal :  $\text{H}_2\text{O}$  est de  $10^{-5}$  s. Elle atteint  $10^{-3}$  s pour des complexes instables ou labiles ( $\text{Fe}^{3+}$ ) et chute à  $10^{-9}$  s pour les lanthanides. Cette rapidité d'échange correspond essentiellement à la vitesse de diffusion

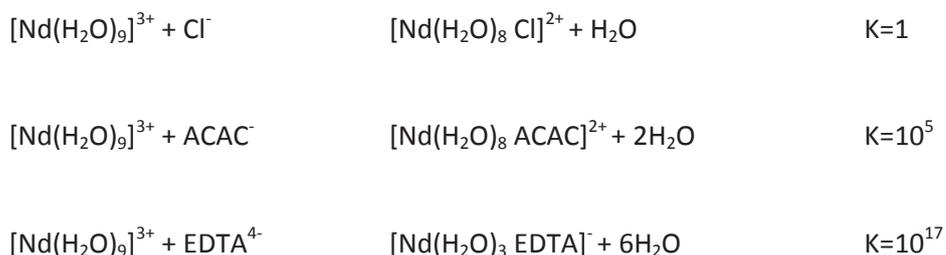
des molécules d'eau autour de la sphère d'hydratation des lanthanides. Les complexes entre éléments du groupe f et ligand sont donc par définition des composés extrêmement labiles. Leur formation est soumise à un équilibre de complexation constamment renouvelé entre ligands de même nature ou de natures différentes. Le mécanisme d'échange d'un ligand H<sub>2</sub>O par un ligand bidentate simple (oxalate<sup>2-</sup>) proposé par Nikolas Kaltsoyannis et al. [3] comprend trois étapes symbolisées dans la figure ci-dessous :



**Figure 1-1 : mécanisme d'échange de ligands autour de la sphère d'hydratation des lanthanides [3]**

- i. association du ligand dans la sphère d'hydratation du complexe lanthanide par liaison hydrogène avec les molécules d'eau.
- ii. dissociation d'une molécule d'eau sous influence du ligand entrant
- iii. rupture de la liaison Ln-O avec finalement perte d'une molécule d'eau

Il en résulte un équilibre en solution entre les différentes formes complexées dont les proportions peuvent être déterminées connaissant les constantes de formation de chaque complexe. Ces constantes reflètent la stabilité des complexes formés et sont par conséquent très fortement influencées par la denticité des complexants, comme le montrent les valeurs des constantes de formation pour des ligands monodentatés (Cl<sup>-</sup>), bidentatés (acétylacétate : ACAC<sup>-</sup>) et polydentatés (acide éthylène diamine tetra acétique : EDTA<sup>4-</sup>) ci dessous.



Les réactions de complexation peuvent également être d'ordre multiple avec la liaison de plusieurs ligands sur un même lanthanide dans le respect du nombre de coordination maximal de ce dernier. Ainsi, un lanthanide de nombre de coordination 9 pourra former des complexes d'ordre 4 et 3 avec des ligands bi et tridentatés dont les valeurs des constantes dépendent de l'encombrement stérique des complexants autour du noyau métallique.

La chimie de coordination des lanthanides en solution se complique rapidement à mesure que les ligands utilisés présentent des ordres de complexation multiple et/ou des réactivités différentes, toutes les formes complexées cohabitent en solution sous forme de complexes labiles. Chaque forme complexée possède ses propres propriétés physico-chimiques susceptibles d'aider à la distinction entre les éléments. Par conséquent, l'utilisation raisonnée de ces équilibres permet de réduire les similitudes entre les lanthanides et fournir la sélectivité minimale nécessaire à leur séparation.

## 1.2. Séparation des lanthanides

Quel que soit le phénomène mis en jeu (adsorption, échange d'ions ou différence de mobilité ionique), les différences physico-chimiques entre les lanthanides sont insuffisantes pour parvenir à leur séparation sous leur état libre en solution. Leur analyse est cependant considérée comme un challenge analytique ayant conduit à des avancées significatives pour l'analyse des ions en solution. La discussion qui suit présente un état de l'art des méthodes séparatives et des protocoles de séparation associés en lien avec la problématique de miniaturisation sur microsysteme analytique.

### 1.2.1 Les techniques chromatographiques pour l'analyse des lanthanides

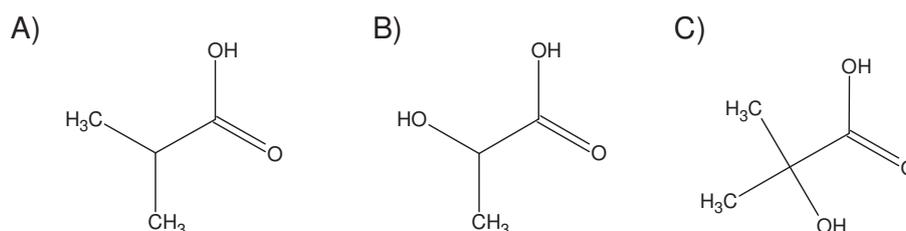
#### 1.2.1.1 Chromatographie ionique et premiers développements

Les premières séparations de lanthanides par chromatographie ionique sont apparues dans les années 50 avec le développement des premières résines inorganiques échangeuses d'ions de type Zéolyte et par la suite des phases polymériques. Les premières applications n'étant basées que sur les différences de rayon ionique entre les lanthanides, les sélectivités entre les éléments restaient faibles et la qualité des séparations limitée. C'est en 1954 que Thompson et al. eurent l'idée d'ajouter du citrate d'ammonium puis du lactate d'ammonium à la phase mobile pour une séparation sur colonne ouverte échangeuse de cations forte (Dowex 50) [7]. La découverte de Thompson confortée entre temps par les études de Choppin connut en 1956 une avancée importante avec, pour la première fois, l'utilisation de l'acide  $\alpha$ -hydroxyisobutyrique (HIBA) comme agent complexant [8]. La formation in situ d'équilibres de complexation permet en effet d'accroître la sélectivité du support de séparation en déplaçant le mécanisme de rétention non plus sur les seuls cations en solution mais sur l'ensemble de leurs formes complexées plus facilement discernables. Pour la première fois, une séparation de 5 lanthanides en présence de 3 actinides est ainsi réalisée.

Afin de comprendre pourquoi l'HIBA procure des sélectivités bien supérieures aux autres

complexants principalement de la famille des acides carboxyliques (lactique, malonique, tartrique, et autres...), Choppin et al. ont publié entre 1961 et 1973 une série d'articles qui établissent des corrélations entre les grandeurs thermodynamiques de différents homologues de l'HIBA et les performances de séparation entre les terres rares [9-13]. Les formules semi développées des acides étudiés par Choppin sont présentées sur la Figure 1-2. Il en ressort que la saturation du carbone portant le groupement hydroxyle par un méthyle augmente l'enthalpie de formation des complexes, ce qui limite la formation des complexes d'ordre supérieur 1 : 3 et 1 : 4 [9].

Parallèlement, la comparaison des grandeurs thermodynamiques des complexes 1 :1 et 1 :2, Ln-HIBA et Ln-acide isobutyrique, montre une évolution différente des enthalpies libre de formation. Si les enthalpies libre de formation Ln-HIBA diminuent progressivement avec le numéro atomique des éléments, dans le cas de l'acide isobutyrique un changement de pente est observé à partir du Gd en lien avec la réduction du nombre de coordination. Seule différence entre ces complexants, le groupement hydroxyle en alpha de la fonction acide carboxylique stabilise le complexe formé par l'intermédiaire d'une structure chélate [13].



**Figure 1-2 : formule semi développée de quelques acides organiques étudiés par Choppin et al. entre 1961 et 1973. A) acide isobutyrique, B) acide lactique, C) acide  $\alpha$ -hydroxyisobutyrique.**

Depuis, de nombreux travaux ont été réalisés afin de trouver un complexant organique offrant des sélectivités intra période supérieures à celles de l'HIBA. C'est ainsi qu'en 1973, Karol proposa un nouvel agent complexant qui est l'acide 2-hydroxy-2-méthylbutyrique (HMBA). S'appuyant sur les travaux de Choppin en chromatographie ionique, il démontra la supériorité de l'HMBA par rapport à l'HIBA pour certaines paires d'éléments [14]. Toutefois ces travaux n'ont pas eu un écho très favorable et l'HIBA s'est depuis imposé comme le complexant incontestable dans la quasi-totalité des protocoles de séparation des lanthanides.

De nos jours, l'intérêt des complexants en chromatographie ionique n'est plus à démontrer et les protocoles de séparations par chromatographie en phase liquide se succèdent [15, 16]. Des solutions commerciales combinent l'utilisation de support échangeur d'ions avec des systèmes de pompage multi-voies permettant de moduler la composition des phases mobiles en complexants à la fois dans leur nature et leur proportion (Figure 1-3) [14, 17-19].

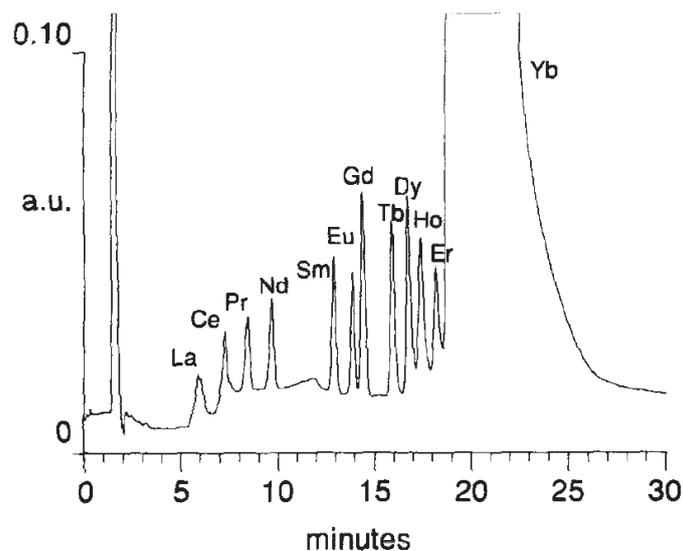
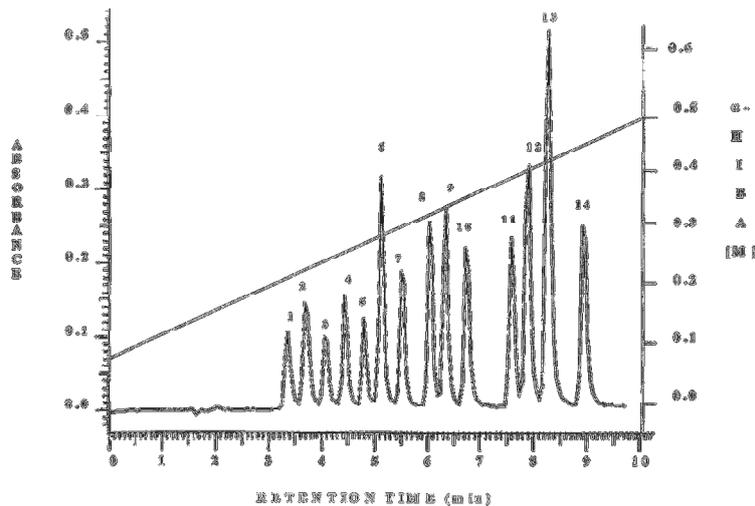


Figure 1-3 : analyse par chromatographie ionique d'un cristal d'YbF<sub>3</sub> dopé en lanthanides à hauteur de 5 mg/L. phase stationnaire IonPac CS5 échangeuse mixte. Elution à pH 5. Programmation du gradient : t = 0 min 80.10<sup>-3</sup> mol/L d'acide oxalique, t = 15 min acide oxalique 26.10<sup>-3</sup> mol/L et 23.10<sup>-3</sup> mol/L acide diglycolique, t = 22 min acide oxalique 80.10<sup>-3</sup> mol/L. Boucle d'injection 100 µL. Dérivation pour détection à 520 nm en présence de PAR [19].

#### 1.2.1.2 Chromatographie liquide haute performance

Dans le nucléaire, la réduction des temps d'exposition et des volumes de déchets produits impose de développer de nouveaux protocoles plus efficaces. Utilisant un support apolaire de type C18, Aggarwal et al. [20] a aussi obtenu la séparation de l'ensemble des lanthanides par chromatographie d'appariement d'ions dans des conditions de gradient en agent complexant, en ajoutant dans la phase mobile un tensio-actif tel que le sodium n-octane sulfonates (Figure 1-4). La longue chaîne carbonée hydrophobe du tensio-actif s'adsorbe sur le support carboné pour finalement présenter en son autre extrémité un groupement échangeur de cations fort. En plus de ses nouvelles capacités d'échange de cations, la colonne présente également un caractère rétentif envers les composés apolaires hérité de ses chaînes alkyles non liées au tensio-actif. L'auteur avance ainsi un double mécanisme d'interactions, à la fois ioniques avec le noyau métallique du complexe et des interactions de type Van der Waals avec les molécules de complexants en solution dans la phase mobile se liant aux lanthanides.



**Figure 1-4 : séparation d'un mélange de lanthanides par chromatographie d'appariement d'ions avec gradient HIBA [20]. Phase mobile : 0.07 à 0.5 mol/L en HIBA, pH 4.0, 0.003 mol/L sodium n-octanesulfonate. Phase stationnaire : 5 µm, C18. Colonne : 150 x 4,6 mm d. i. Détection : UV à 645 nm par dérivation post colonne avec de l'Arsenazo (III). (1) Lu, (2) Yb, (3) Tm, (4) Er, (5) Ho, (6) Dy, (7) Tb, (8) Gd, (9) Eu, (10) Sm, (11) Nd, (12) Pr, (13) Ce, (14) La.**

### 1.2.1.3 Nouvelles phases stationnaire chélatantes

Pour pallier le manque de spécificité des colonnes commerciales échangeuse d'ions, des groupes de chercheurs ont entrepris la synthèse de nouvelles phases stationnaires sélectives portant des greffons chélatants [21-26]. On peut citer Kumagai et al. qui a ainsi reporté la séparation de lanthanides sur support chélatant polypropylène diamine tétraacétate. Utilisant un gradient en acide nitrique, les lanthanides sont successivement élués selon leur affinité avec la phase stationnaire, avec cependant des performances limitées pour les couples d'éléments Eu/Gd et Yb/Lu.

Comme le montre ces différents exemples des solutions commerciales et/ou individuelles permettent une séparation performante des lanthanides par chromatographie en phase liquide. Dans le cadre d'une mesure isotopique, il existe deux solutions, soit la collection post séparation de fraction individuelle des lanthanides (protocole hors ligne), soit une mesure directe par couplage (protocole en ligne).

### 1.2.1.4 Développement futur en lien avec la problématique

Dans un souci de réduire l'impact sanitaire et environnemental des activités liées au nucléaire, les protocoles hors-ligne [27, 28] tendent à être remplacés par des méthodes couplées. Le couplage en-ligne de la chromatographie ionique et de l'ICP-MS permet déjà la réalisation de l'inventaire isotopique de combustibles actifs en zone réglementée [29]. Au delà de la difficulté de mesurer des rapports isotopiques sur des signaux transitoires qui sera abordée en détails dans le chapitre 5, le couplage permet de réduire les temps d'exposition liés à la manipulation des fractions collectées.

Néanmoins, la chromatographie en phase liquide à des débits classiques (1 mL/min) génère de larges volumes de solvants contaminés car la majorité de la phase mobile n'est pas introduite dans le plasma mais évacuée sous forme de déchets.

La réduction du diamètre de colonne permet la réduction du volume d'échantillon manipulé et du débit de phase mobile utilisé (et donc du volume de déchets généré) sans perte de sensibilité [30]. Mais le manque d'offres commerciales pour des colonnes échangeuses d'ions de diamètre inférieur à 2 mm limite les développements dans ce domaine [31]. Par ailleurs, quelles que soient les dimensions de la colonne, des étapes de rinçage du chromatographe sont à prévoir entre les analyses afin d'éviter les contaminations croisées entre les échantillons, ce qui augmente forcément les durées d'exposition et les volumes de déchets [32]. Seuls des systèmes jetables permettent donc de s'affranchir de ces volumes de déchets liquides supplémentaires.

En résumé, l'amélioration du processus actuel de séparation et de mesure des rapports isotopiques des lanthanides, doit faire appel à une technique qui soit à la fois miniaturisée, jetable et implantable facilement dans une BAG. La solution semble être la mise en œuvre d'un microsystème séparatif basé sur une technique électroséparative, plus simple de mise en œuvre en BAG par rapport aux techniques purement chromatographiques. Une modification du protocole de séparation actuellement en vigueur s'impose.

## 1.2.2 Les techniques électroséparatives pour l'analyse des lanthanides

### 1.2.2.1 Généralités sur les méthodes électrocinétiques de séparation

Les séparations électrocinétiques résultent de la migration des espèces chargées dans un tube capillaire ou un canal de microsystème de faible section (quelques dizaines de micromètres de diamètre ou de côté) sous l'effet d'une différence de potentiel. En capillaire, les espèces à séparer sont injectées à une extrémité du système puis détectées in situ comme schématisé sur la Figure 1-5.

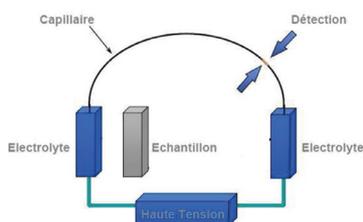


Figure 1-5 : Principe général des systèmes d'électroséparation.

La mobilité apparente des ions ( $\mu_{i,mig}$ ) comprend deux composantes : la mobilité électrophorétique ( $\mu_{iep}$ ) et la mobilité électroosmotique ( $\mu_{eo}$ ) :

$$\mu_{i,mig} = \mu_{iep} + \mu_{eo} \quad \text{Eq. 1-1}$$

Si on considère un système de longueur L rempli d'un électrolyte conducteur auquel on applique une différence de potentiel U, la valeur du champ électrique résultant  $\vec{E}$  est donnée par la relation :

$$\vec{E} = \frac{U}{L} \vec{i} \quad \text{Eq. 1-2}$$

où  $\vec{i}$  représente l'axe du capillaire. La vitesse apparente de migration des ions ( $v_{i,mig}$ ) sera donc définie par la relation

$$v_{i,mig} = \mu_{i,mig} E \quad \text{Eq. 1-3}$$

#### Mobilité électrophorétique :

Toute entité chargée en solution dans le capillaire est soumise à l'influence d'une force de Coulomb  $\vec{F}_{(i)}$  :

$$\vec{F}_{(i)} = q_{(i)} \vec{E} = Z_i e \vec{E} \quad \text{Eq. 1-4}$$

où  $e$  représente la charge élémentaire d'un électron ( $1,6 \cdot 10^{-19}$  C),  $Z_i$  le nombre de charges de l'espèce et  $q_{(i)}$  sa charge globale. Ces espèces sont également soumises à des forces de frottements  $\vec{F}_{f(i)}$  de sens opposé à celui de son déplacement.

$$\vec{F}_{f(i)} = -f_{f(i)} \vec{v}_{ep} = -K\eta r_{(i)} \vec{v}_{ep} \quad \text{Eq. 1-5}$$

avec  $\vec{v}_{ep}$  vecteur de vitesse électrophorétique, K une constante égale à  $6\pi$  dans le cas d'une approximation de particule sphérique,  $\eta$  la viscosité de l'électrolyte et  $r_{(i)}$  le rayon d'exclusion de Stokes de l'espèce considérée. A l'équilibre, ces deux forces se compensent et d'après les équations 1-4 et 1-5, l'expression de la vitesse de migration électrophorétique s'écrit :

$$\vec{v}_{ep} = \frac{Z_i e}{6\pi\eta r_i} \vec{E} = \mu_{iep} \vec{E} \quad \text{Eq. 1-6}$$

Le terme  $\mu_{iep}$  correspond à la mobilité électrophorétique de l'ion dans les conditions de l'analyse. Cette mobilité est fonction de la charge de l'élément. Dans le cas où le soluté existe sous différentes formes j en solution, la valeur de la mobilité électrophorétique globale de l'espèce se traduit par la somme des mobilités absolues  $\mu_{ij}^0$  de chacune des formes j pondérées par leur abondance en

solution  $\chi_{ij}$  telle que :

$$\mu_{i_{ep}} = \sum \chi_{ij} \mu_{ij}^0 \quad \text{Eq. 1-7}$$

Le même genre de traitement s'applique dans le cas de la séparation de complexes labiles comme ceux impliquant la complexation des lanthanides. Ce procédé est largement utilisé en électrophorèse capillaire de zone (CZE) où la sélectivité de la séparation est augmentée en ajoutant à l'électrolyte de séparation un agent complexant anionique  $L^-$ . Au contact des cations lanthanides  $Ln^{3+}$ , des complexes se forment selon l'équation :



Les formes  $Ln^{3+}; LnL_1^{2+}; LnL_2^+; LnL_3^0$  coexistent en solution dans des proportions définies par leurs constantes de formation respectives  $K_1, K_2, K_3$ . La forme  $LnL_3^0$  n'étant pas chargée, seules les formes  $Ln^{3+}, LnL_2^+$  et  $LnL_1^{2+}$  sont à prendre en compte pour le calcul de la mobilité des lanthanides par l'équation 1-7. Typiquement, les complexants utilisés sont des acides faibles. Un équilibre de dissociation du complexant doit être pris en compte dans le calcul des proportions des formes en solution. Au final, la mobilité électrophorétique moyenne des éléments analysés est fonction :

- de la nature du complexant
- des constantes de complexation
- de la concentration du complexant
- du pH

Un choix convenable du ou des complexants permet de fait d'accroître la sélectivité à un niveau suffisamment élevé pour permettre la séparation.

#### Mobilité électroosmotique :

Lorsqu'une surface présentant des charges fixes est mise en contact avec un électrolyte, des charges de signe opposé s'accumulent au voisinage de l'interface solide-liquide et s'arrangent sous la forme d'une double couche. Ce modèle est composé d'une couche statique d'ions adsorbés à la surface, appelée couche de Helmholtz ou de Stern, et d'une couche diffuse d'ions mobiles appelée couche de Gouy-Chapman. (Figure 1-6) [32].

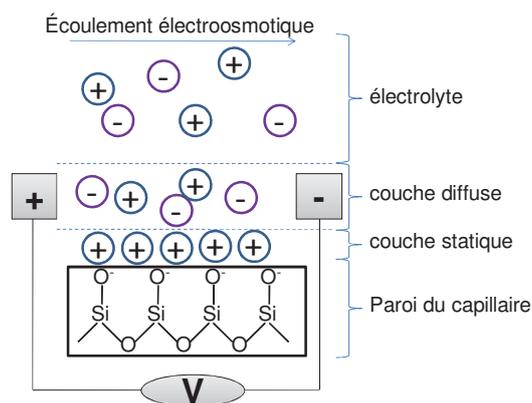


Figure 1-6 : représentation schématique de la double couche en électromigration.

Dans le cas d'un capillaire de silice présentant une charge de surface négative, l'application d'une différence de potentiel entraîne un déplacement de la couche diffuse selon un écoulement cathodique. L'ensemble des molécules de solvant progresse dans le capillaire à la vitesse imposée par la double couche selon l'équation :

$$v_{eo} = \mu_{eo} E \quad \text{Eq. 1-9}$$

où la mobilité électroosmotique est donnée par la relation de Helmholtz-Smoluchowski :

$$\mu_{eo} = \frac{\delta \sigma}{\eta} \quad \text{Eq. 1-10}$$

avec  $\delta$  qui est l'épaisseur de la double couche et  $\sigma$  la densité de charge sur la surface interne du capillaire.

En raison de la faible épaisseur de la double couche (quelques centaines de nanomètres pour des capillaires de 50 à 100  $\mu\text{m}$  de diamètre interne), la dispersion à l'interface solide-liquide est négligeable [33]. En conséquence, un front plat d'écoulement est obtenu contrairement au profil parabolique qui est observé lorsque l'écoulement est généré par une différence de pression. Les efficacités rencontrées en électromigration sont par conséquent supérieures à celles obtenues en chromatographie.

Trois méthodes électrocinétiques ont été utilisées pour la séparation des lanthanides : à savoir, l'électrophorèse de zone (CZE), l'électrochromatographie (CEC) et l'isotachophorèse (ITP).

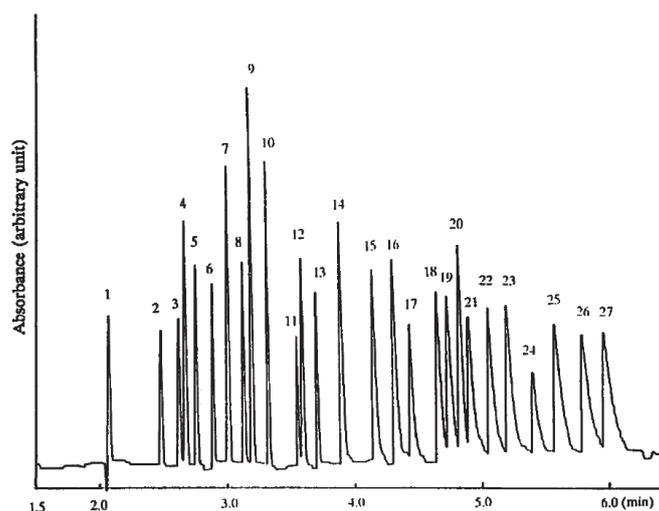
### 1.2.2.2 Séparation des lanthanides par électrophorèse de zone

Initialement plébiscitée pour l'analyse des protéines et le programme mondial de séquençage du génome humain achevé en 2003 [34], l'électrophorèse de zone repose exclusivement sur la différence de mobilité électrophorétique entre les espèces chargées en solution. Sous l'effet du champ électrique, les éléments de mobilités suffisamment distinctes migrent à travers l'électrolyte

de séparation sous forme de zones indépendantes tandis que les ions de mobilités proches (comme les lanthanides en absence d'agent complexant) demeurent coélués et migrent ensemble.

Swaile et Sepaniak, en 1991, ont été les premiers à expliquer le principe de séparation des cations inorganiques par complexation in situ : les trois ions métalliques, Ca(II), Mg(II) et Zn(II) étaient séparés en présence d'acide 8-hydroxy-quinoline-5-sulfonique [35]. La séparation des lanthanides apparut alors comme un véritable challenge analytique, entraînant de fait la publication de nombreuses études sur le développement de systèmes de complexation capables de réaliser la séparation électrophorétique complète des lanthanides [36-45]. Ces recherches ont confirmé les travaux de Choppin et al. sur le rôle de l'HIBA comme vecteur majeur de sélectivité entre les lanthanides. Elles ont aussi permis d'identifier des agents complexants dit « secondaires » capables d'accroître ponctuellement la séparation de certains couples de lanthanides. A titre d'exemple, il apparaît que l'acide formique ajouté en complément de l'HIBA abaisse sensiblement la mobilité des lanthanides de fin de période. L'augmentation du rapport acide formique/ HIBA au delà de 2 permet de réduire graduellement la mobilité des solutés sans apporter de réelles variations de sélectivité. Les conditions optimales de séparation sont obtenues pour un rapport en concentration de 1,5 en milieu tamponné Tris à pH 4,7 [43].

D'autres complexants auxiliaires favorisent la séparation des lanthanides. Ainsi, Fritz et al (Figure 1-7) sont parvenus à séparer un mélange d'alcalins, alcalino-terreux, métaux de transition et terres rares (sans Eu) en une seule opération par complexation en présence d'acide lactique et avec une détection UV indirecte [40, 41]. L'acide citrique procure également un gain de sélectivité pour la famille des lanthanides avec un comportement quasiment semblable à l'HIBA [39, 42].



**Figure 1-7 : Séparation par électrophorèse capillaire de 27 cations inorganiques. Electrolyte :15 mmol/L d'acide lactique, 8 mol/L de 4-méthylbenzylamine, 5% de méthanol, pH = 4.25. Tension : 30 KV. Solutés : 1 = K<sup>+</sup>; 2 = Ba<sup>2+</sup>; 3 = Sr<sup>2+</sup>; 4 = Na<sup>+</sup>; 5 = Ca<sup>2+</sup>; 6 = Mg<sup>2+</sup>; 7 = Mn<sup>2+</sup>; 8 = Cd<sup>2+</sup>; 9 = Li<sup>+</sup>; 10 = Co<sup>2+</sup>; 11 = Pb<sup>2+</sup>; 12 = Ni<sup>2+</sup>; 13 = Zn<sup>2+</sup>; 14 = La<sup>3+</sup>; 15 = Ce<sup>3+</sup>; 16 = Pr<sup>3+</sup>. 17 = Nd<sup>3+</sup>; 18 = Sm<sup>3+</sup>; 19 = Gd<sup>3+</sup>; 20 = Cu<sup>2+</sup>; 21 = Tb<sup>3+</sup>; 22 = Dy<sup>3+</sup>; 23 = Ho<sup>3+</sup>; 24 = Er<sup>3+</sup>; 25 = Tm<sup>3+</sup>; 26 = Yb<sup>3+</sup>; 27 = Lu<sup>3+</sup>. Concentration de chaque lanthanide, Ba<sup>2+</sup>, Sr<sup>2+</sup> et Pb<sup>2+</sup> : 5 µg/mL. Concentration des métaux de transition K<sup>+</sup>, Na<sup>+</sup> et Ca<sup>2+</sup> 3 à 4 µg/mL. Mg<sup>2+</sup> 2 µg/mL et Li<sup>+</sup> 1 µg/mL. [40].**

L'électrophorèse demeure la technique électrocinétique la plus efficace et la plus polyvalente. Les très faibles volumes manipulés (quelques nanolitres à quelques dizaines de nanolitres) permettent d'étudier des éléments à l'état de traces, comme la caractérisation des espèces formées lors des études de spéciation [46, 47]. La qualité de séparation et la finesse des pics obtenus ont déjà contribué à la réalisation d'inventaires isotopiques en présence d'HIBA comme agent complexant et par couplage avec l'ICP-MS [48].

### 1.2.2.3 Séparation des lanthanides par électrochromatographie sur résine échangeuse d'ions

Technique hybride, l'électrochromatographie capillaire combine les caractéristiques de la nanochromatographie en phase liquide et de l'électrophorèse capillaire. Les séparations sont réalisées soit sur phases stationnaires particulières (mode essentiellement réservé aux séparations en capillaires car le remplissage des particules est réalisé par pression [49]), soit sur monolithe organique [50, 51] ou inorganique [52], greffés de composés chargés [53] (souvent synthétisés in-situ dans des microsystemes en verre ou plastique). Le déplacement de la phase mobile est assuré par électroosmose. Le front plat de vitesse d'écoulement caractéristique des méthodes électrocinétiques permet un gain d'efficacité tandis que la séparation est assurée par un double mécanisme : rétention sur la phase stationnaire et différence de mobilité électrophorétique dans la phase mobile [54, 55].

Bien que peu étudiée, la séparation des lanthanides par CEC (10 éléments) a été réalisée en capillaire avec une phase stationnaire particulière échangeuse de cations [56]. Les efficacités et les résolutions de séparation n'égalent pas les valeurs observées en électrophorèse de zone. L'utilisation de la CZE apparaît donc préférable à la CEC, d'autant qu'en CZE l'introduction de la phase stationnaire particulière ou monolithique n'est plus nécessaire, ce qui facilite la conception des microsystemes séparatifs [57].

#### 1.2.2.4 Inconvénients de l'électrophorèse et de l'électrochromatographie vis à vis de la problématique

Dès 2001, l'intérêt des microsystemes pour l'analyse des éléments actifs est soulevé par Collins et al. avec la réalisation d'un microsysteme analytique portable appliqué à la séparation par électrophorèse de l'uranium en présence de quelques lanthanides [58, 59]. Néanmoins, le choix de la méthode séparative reste conditionné par le dispositif de mesure des rapports isotopiques post-séparation. Dans le cas d'une analyse hors-ligne par TIMS, un minimum de 5ng d'élément purifié est en moyenne nécessaire pour réaliser la mesure. Compte tenu des estimations des concentrations en éléments d'intérêt dans les échantillons de combustible fournis par les codes de calculs et les analyses préalables, la collection en une seule analyse de 5 ng d'élément impose l'injection de plusieurs microlitres (2 à 10). En couplage en-ligne avec l'ICP-MS, le temps d'élution d'un élément doit être prolongé sur une dizaine de secondes. Ces conditions sur la masse critique d'échantillon et la durée minimale d'élution sont destinées à garantir la stabilité du signal et améliorer la précision des mesures isotopiques. Elles ont cependant comme conséquence de limiter le champ d'application des méthodes électrocinétiques. En effet, les volumes d'injection standards en électrophorèse et électrochromatographie n'excèdent pas quelques dizaines de nanolitres, pour des largeurs de pic de l'ordre de la seconde. D'autre part, en dépit des niveaux d'efficacité atteints en électrophorèse et en électrochromatographie, il arrive que la concentration des solutés ne soit pas suffisamment élevée pour permettre leur détection. Dans ce cas, l'étape de séparation doit être précédée d'une étape de préconcentration.

Un bon moyen de satisfaire simultanément les contraintes de quantité d'échantillon, largeur de pic et limite de détection, est de faire appel à l'isotachophorèse (ITP) dont le fonctionnement est détaillé ci-après et qui est implantable soit en capillaire [60-65], soit en microsysteme [66].

## 1.3. Isotachophorèse

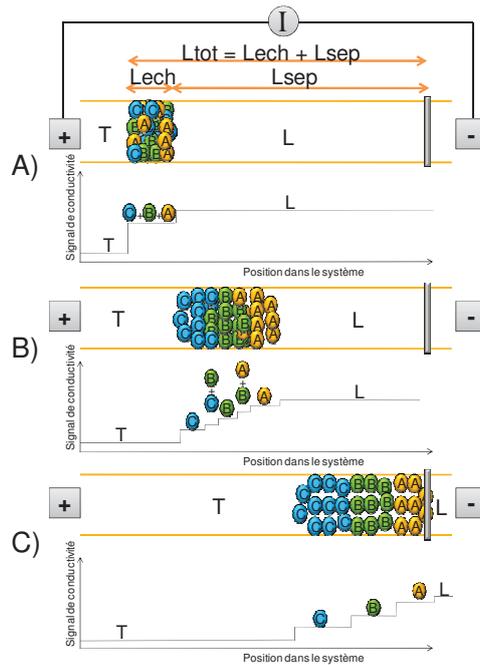
### 1.3.1 Principe de séparation

L'isotachophorèse (ITP) est une méthode électrocinétique préparative capable de séparer des volumes d'injection de plusieurs microlitres. Afin d'illustrer le principe de séparation en ITP, considérons un mélange de 3 solutés A, B et C. La Figure 1-8 montre schématiquement les différentes étapes du processus ITP, ainsi que l'évolution de la conductivité en fonction du contenu du système. Le développement des équations régissant la séparation s'appuie également sur cette représentation.

A l'inverse de l'électrophorèse, le système électrolytique de séparation est inhomogène. L'échantillon à séparer est introduit entre deux électrolytes de natures différentes (Figure 1-8 A). Un électrolyte qualifié de "leader (L)" constitué d'un ion dit meneur de mobilité électrophorétique supérieure à l'ensemble des ions du système (échantillon compris) et un électrolyte dit "terminal (T)" de mobilité électrophorétique la plus faible. L'application d'une intensité électrique constante entre les bornes du système provoque la mise en mouvement des ions en fonction de leur mobilité. Si la contribution de l'écoulement électroosmotique est négligée, les mobilités des espèces présentent dans le système respectent la condition suivante.

$$\mu_{Le_{ep}} > \mu_{A_{ep}} > \mu_{B_{ep}} > \mu_{C_{ep}} > \mu_{Te_{ep}} \quad \text{Eq. 1-11}$$

En début de séparation, le champ électrique est homogène dans tout le système, les ions A migrent par conséquent plus rapidement que les ions B et C, provoquant un début de réorganisation des solutés en bandes selon un gradient de mobilité électrophorétique (Figure 1-8 B). Après une période transitoire de séparation, un état stable quasi stationnaire est atteint dans lequel tous les ions, quelle que soit leur mobilité, migrent à une vitesse identique imposée par l'ion meneur (Figure 1-8 C) [67].



**Figure 1-8 : représentation schématique d’une séparation en isotachophorèse. T : électrolyte terminal, L électrolyte Leader, A, B, C : analytes contenus dans l’échantillon, I : intensité, Ltot : longueur totale du système incluant la longueur de la zone d’échantillon injecté, Lech, et la longueur de système restant libre pour la séparation noté Lsep. Les différentes étapes : A) introduction de l’échantillon entre les électrolytes T et L, B) réorganisation des analytes de l’échantillon en fonction de leur mobilité entre T et L, C) état quasi stationnaire, séparation sous forme de bandes de solutés purs.**

A la différence de l’électrophorèse où les analytes migrent sous forme de pics au travers d’un électrolyte de fond, en ITP, les analytes se regroupent en bandes de solutés purs et migrent accolés les uns aux autres.

### 1.3.2 Modèle de migration en isotachophorèse

En ITP, comme dans toutes les techniques électrocinétiques, la variation de la concentration d’une espèce  $i$  au cours du temps est donnée par la dérivé partielle du flux d’ions  $i$  en solution dans le système [68] :

$$\frac{\partial C_i}{\partial t} = -\frac{\partial}{\partial x} f_i \quad \text{Eq. 1-12}$$

où  $f_i$  représente la somme des flux de matières dus à la migration des ions sous champ électrique ( $f_{i,elec}$ ), à la diffusion ( $f_{i,diff}$ ), à la présence d’électrosmose ( $f_{eo}$ ) et à un éventuel écoulement hydrodynamique ( $f_{i,hydro}$ ) :

$$f_i = f_{i,elec} + f_{i,diff} + f_{i,eo} + f_{i,hydro} \quad \text{Eq. 1-13}$$

La contribution de la diffusion s’exprime par la première loi de Fick [69] :

$$f_{i,diff} = -D_i \frac{dC_i}{dx} \quad \text{Eq. 1-14}$$

où  $\frac{dC_i}{dx}$  est le gradient de concentration de l'espèce  $i$  selon l'axe  $X$  et  $D_i$  le coefficient de diffusion de l'espèce  $i$  défini par l'équation de Nernst-Einstein [70] :

$$D_i = \frac{RT\mu_{i,ep}}{F} \quad \text{Eq. 1-15}$$

$R$  étant la constante des gaz parfaits ( $8,314 \text{ J.mol}^{-1}.\text{K}^{-1}$ ) et  $T$  la température absolue en Kelvin.

Les modèles développés en ITP négligent généralement les contributions de l'écoulement hydrodynamique et de l'écoulement électroosmotique. L'écoulement hydrodynamique naît de la différence de niveau entre les électrolytes aux extrémités du système de séparation. Sa contribution peut facilement être minimisée :

$$f_{i,hydro} = 0 \quad \text{Eq. 1-16}$$

L'écoulement électroosmotique est fonction du matériau utilisé pour confectionner le système. Observé avec la plupart des matériaux natifs, il convient d'inclure sa contribution dans le modèle au risque d'en voir sa validité remise en question [71].  $f_{ieo}$  s'écrit :

$$f_{ieo} = C_i v_{eo} \quad \text{Eq. 1-17}$$

Le flux de migration dû au déplacement des ions sous l'effet du champ électrique est donné par la relation :

$$f_{i,elec} = \text{sgn}(Z_i) C_i \mu_{i,ep} E \quad \text{Eq. 1-18}$$

où  $E$  représente le champ électrique. L'expression de ce champ prend en compte tous les ions  $i$  présents dans le système et s'exprime :

$$E = \frac{I}{Sk} = \frac{J}{k} = \frac{J}{F \sum_{i=1}^n |Z_i| \mu_{i,ep} C_i} \quad \text{Eq. 1-19}$$

où  $I$  est l'intensité,  $J$  la densité de courant,  $S$  la section du système,  $k$  la conductivité spécifique du système,  $F$  la constante de Faraday ( $96500\text{C}$ ),  $C_i$  la concentration de l'espèce  $i$  et  $Z_i$  sa charge. En combinant les équations 1-14 à 1-19, on obtient l'équation qui modélise le transport des ions en ITP [68, 70-73] :

$$\frac{\partial C_i}{\partial t} = D_i \frac{\partial^2 C_i}{\partial x^2} - \text{sign}(Z_i) J \frac{\partial}{\partial x} \left( \frac{C_i \mu_{i,ep}}{k} \right) - v_{eo} \frac{\partial C_i}{\partial x} \quad \text{Eq. 1-20}$$

La résolution de cette équation est obtenue par méthodes numériques [69, 71, 73]

### 1.3.3 Modèle de migration simplifié en isotachophorèse

Les modèles numériques permettent en effet de simuler avec plus ou moins d'exactitude le principe de séparation en ITP. Cependant si l'on néglige la diffusion et l'électroosmose, l'équation 1-20 donne l'expression suivante

$$\frac{\partial C_i}{\partial t} = -\text{sign}(Z_i) J \frac{\partial}{\partial x} \left( \frac{C_i \mu_{i_{ep}}}{k} \right) \quad \text{Eq. 1-21}$$

Une des solutions de cette équation n'est autre que la fonction de régulation de Kohlrausch [74].

$$KRF(x) = \sum_{i=1}^n \frac{C_i |Z_i|}{\mu_{i_{ep}}} = \text{constante} \quad \text{Eq. 1-22}$$

Le domaine d'application de cette loi se restreint aux systèmes électrolytes et/ou échantillon mono ou multi chargés, totalement ionisés et exempt de réactions de complexation. Elle traduit à l'issue de la phase d'injection, le maintien de la conductivité électrique du système, lui procurant un "effet mémoire" préservé tout au long de la séparation.

### 1.3.4 Modèle simplifié et principe de migration pour des solutés monovalents

#### La concentration des zones de migration :

Dans l'approximation de solutés monovalents ( $|Z_i| = 1$ ), l'application de la loi KRF permet de définir à l'état quasi stationnaire la concentration des bandes de solutés. En effet d'après l'équation 1-22, il est possible d'écrire l'égalité suivante :

$$KRF(x) = \frac{C_{L,L}}{\mu_{L_{ep}}} + \frac{C_{X,L}}{\mu_{X_{ep}}} = \frac{C_{A,A}}{\mu_{A_{ep}}} + \frac{C_{X,A}}{\mu_{X_{ep}}} \quad \text{Eq. 1-23}$$

Avec  $C_{L,L}$  et  $C_{X,L}$  la concentration de l'ion leader et du contre ion dans la bande de l'ion leader et  $C_{A,A}$  et  $C_{X,A}$  les concentration de l'ion soluté et du contre ion dans la bande de soluté A. Selon le principe d'électroneutralité, la concentration des solutés au sein de chacune de ces bandes respecte l'égalité suivante :

$$C_{L,L} = C_{X,L} = C_L \quad \text{et} \quad C_{A,A} = C_{X,A} = C_A \quad \text{Eq. 1-24}$$

L'équation 1-23 prend alors la forme suivante :

$$C_L \left( \frac{1}{\mu_{L_{ep}}} + \frac{1}{\mu_{X_{ep}}} \right) = C_A \left( \frac{1}{\mu_{A_{ep}}} + \frac{1}{\mu_{X_{ep}}} \right) \quad \text{Eq. 1-25}$$

D'où

$$C_A = C_L \frac{\mu_{A_{ep}}}{\mu_{L_{ep}}} \left( \frac{\mu_{L_{ep}} + \mu_{X_{ep}}}{\mu_{A_{ep}} + \mu_{X_{ep}}} \right) \quad \text{Eq. 1-26}$$

Il apparaît que la concentration en ion A mais également de toutes les bandes du système sont déterminées par celle de l'ion leader mais également dépendent de la mobilité des ions échantillons. Lorsqu'un échantillon est injecté entre l'électrolyte leader et le terminal et que le courant électrique est appliqué aux bornes du système, les ions de l'échantillon vont adapter leur concentration à celle de l'espèce leader. Pour un même système, les concentrations des bandes échantillons seront donc invariantes.

La longueur des zones de migration :

La relation 1-26 met en avant un lien entre l'ion leader et la longueur des bandes de migration. Pour l'analyte A, le modèle de migration qui implique un déplacement de la bande selon une concentration fixe donne lieu pour une quantité massique ( $Q_A$ ) à la formation d'une zone de volume défini ( $V_A$ ) tel que :

$$L_A = \frac{V_A}{S} = \frac{Q_A}{SC_A} = \frac{Q_A}{SC_L} \frac{\mu_{L_{ep}}}{\mu_{A_{ep}}} \left( \frac{\mu_{A_{ep}} + \mu_{X_{ep}}}{\mu_{L_{ep}} + \mu_{X_{ep}}} \right) \quad \text{Eq. 1-27}$$

Ainsi, si la quantité injectée en échantillon augmente, il se produira un allongement proportionnel de la bande. Par conséquent, en ITP la longueur d'une bande de soluté est directement proportionnelle à la quantité injectée et ce quelle que soit sa concentration initiale dans l'échantillon [75].

La vitesse de migration :

Conformément au principe de migration en ITP il est admis que la vitesse de migration des solutés à l'état quasi stationnaire est constante et égale pour l'ensemble du système. La combinaison des équations 1-3 et 1-19 permet de vérifier cette caractéristique :

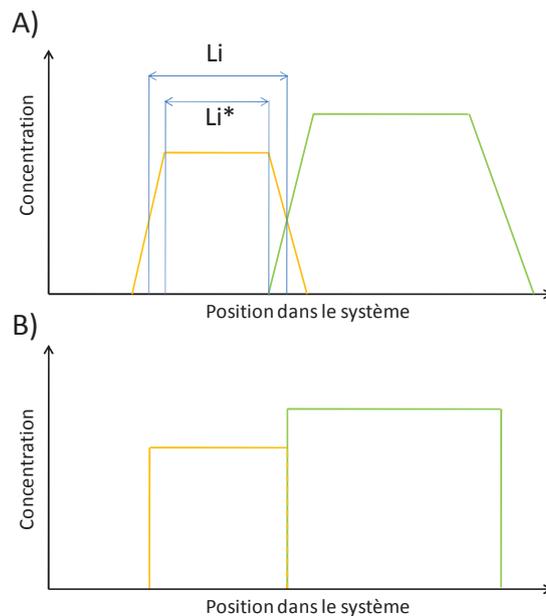
$$v_{A,mig} = \mu_{A_{ep}} E_A = \mu_{A_{ep}} \frac{J}{F(\mu_{A_{ep}} C_{A,A} + \mu_{X_{ep}} C_{X,A})} \quad \text{Eq. 1-28}$$

Après simplification selon le principe de l'électroneutralité (Equation 1-24) et substitution de  $C_A$  conformément à l'équation 1-26, l'expression de la vitesse de migration prend alors la forme suivante :

$$v_{A,mig} = \frac{J \mu_{X_{ep}}}{FC_L (\mu_{L_{ep}} + \mu_{X_{ep}})} \quad \text{Eq. 1-29}$$

Cette équation démontre d'un part la présence d'une vitesse de migration unique et constante pour l'ensemble du système de séparation mais également sa détermination en fonction de la nature et de la concentration de l'ion leader.

### 1.3.5 Résolution en ITP et grandeurs caractéristique de séparation

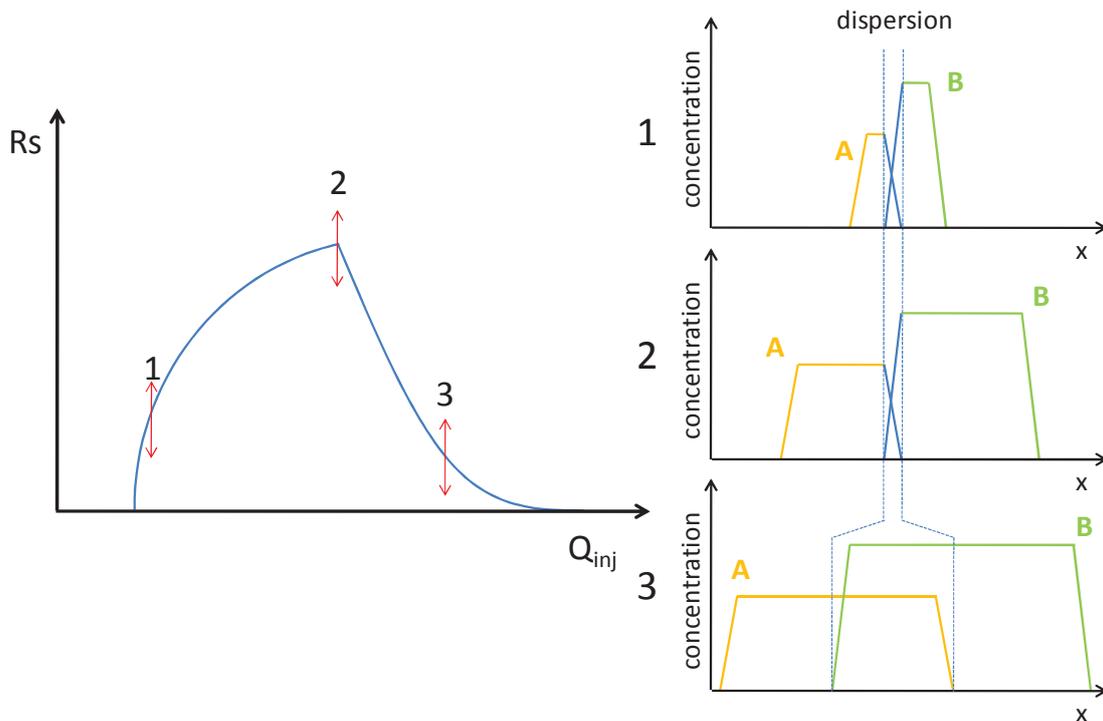


**Figure 1-9 : représentation des différents modèles de migration en isotachophorèse. En A) le modèle réel incluant au sein d'une bande de migration Li une zone totalement pure Li\* entourée des deux zones de diffusion. En B) modèle simplifié ou les zones de diffusion sont négligées.**

La figure 1-9 permet de faire le lien entre le modèle de migration développé (A) en ITP et le modèle simplifié (B). Comme il est démontré dans la figure 1-8 A durant le procédé de séparation, les ions de la zone échantillon se réorganisent en bandes monoélémentaires. Cette réorganisation n'est pas instantanée : au cours de la migration les ions contenus dans les zones de mixité sont accélérés ou ralentis en fonction de leur mobilité et finissent par s'accumuler en début ou en fin de la zone mixte créant ainsi deux nouvelles bandes pures séparées par une zone mixte qui tend à rétrécir. La longueur totale de la bande de soluté définie dans le modèle simplifié se compose en réalité d'une zone pure monoélémentaire (Li\*) entourée de deux zones mixtes aux interfaces d'autres bandes. Ainsi, au cours de la séparation, la résolution augmente de 0 jusqu'à l'unité dans le cas d'un système parfait. Comme défini par Everaerts et al. la résolution représente le rapport entre la quantité séparée ( $Q_i^*$ ) et la quantité introduite dans le système ( $Q_i$ ) [76].

$$R_s = \frac{Q_i^*}{Q_i} = \frac{L_i^*}{L_i} \leq 1 \quad \text{Eq. 1-30}$$

Toutefois, comme défini précédemment, la largeur des bandes en ITP est représentative de la quantité injectée. Pour un système de géométrie donnée incluant deux solutés A et B parfaitement séparables la résolution maximale de séparation évolue en fonction de cette même quantité. Plusieurs cas de figure existent et sont représentés dans la figure 1-10 ci-dessous.



**Figure 1-10 : Variation de la résolution pour un couple de soluté A et B en fonction de la quantité injectée pour un système de géométrie fixe.**

Dans le cas 1 et 2, la séparation des ions se développe jusqu'à l'obtention de l'état quasi stationnaire qui marque un arrêt de la séparation et la migration à vitesse homogène de l'ensemble du système. Dès lors, dans les deux cas la qualité de séparation reste identique et la largeur de la bande de diffusion inchangée. Le gain en résolution observé est tributaire d'une augmentation de la largeur du plateau en lien avec la quantité d'ions introduite. Dans ces conditions, la résolution globale du système augmente jusqu'à une valeur maximale qui correspond à l'obtention de l'état quasi stationnaire au niveau de la zone de détection. Si la quantité en échantillon introduit augmente au delà de cette limite le critère de séparation du système n'est pas respecté et l'état quasi stationnaire ne peut être atteinte avant la zone de détection, une bande diffuse contenant un mélange d'ion A et B persiste entre les bandes monoélémentaires ce qui génère une baisse brutale de la résolution comme constatée dans le cas 3. Introduit par Bocek et al. [77] le critère de séparation traduit la

distance minimale du système nécessaire à la séparation de deux soluté A et B concentrés en bandes de soluté de longueur  $L_A$  et  $L_B$  tel que :

$$L_{sep} \geq \frac{L_A + L_B}{\alpha} \quad \text{Eq. 1-31}$$

Cette relation fait appel à la notion de sélectivité ( $\alpha$ ) précédemment introduite par Bocek et al. et définie comme la différence de mobilité relative des ions présents dans la zone diffuse séparant leurs bandes pures contiguës [78].

$$\alpha = \frac{\mu_{A,ep} - \mu_{B,ep}}{\mu_{B,ep}} \quad \text{Eq. 1-32}$$

### 1.3.6 Les sources de dispersion en ITP

Les sources de dispersion en ITP sont multiples. Il est toutefois possible de les rassembler par catégories :

- Intensité de séparation
- géométrie du système : section et forme des canaux.
- écoulements additionnels : nature (hydrodynamique et électroosmotique) et homogénéité.
- adsorption

#### Intensité :

En ITP, la vitesse de migration des ions dépend de l'intensité du courant électrique imposée au système. Everaerts et al. a démontré que la formation de l'état stationnaire coïncide avec l'apport par le système électrique d'une quantité définie de charge électrique en Coulomb (C) qui est fonction de la nature et de la quantité d'échantillon à analyser. Dans l'hypothèse d'un système sans échauffement thermique, le temps de séparation est inversement proportionnel à l'intensité tandis que la résolution demeure un facteur indépendant de l'intensité [79]. Dans le cas d'un système réel, l'application d'un courant électrique génère un échauffement thermique. Cet échauffement crée la formation d'un gradient parabolique de température dans le capillaire source de dispersion des analytes par des irrégularités de viscosité, mobilité et réactivité vis-à-vis des réactions de complexation [33].

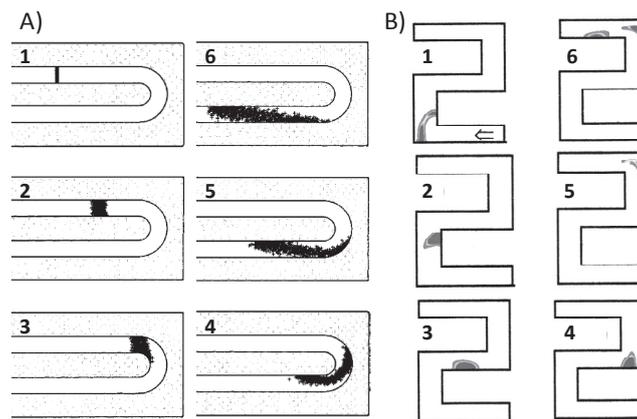
#### Largeur ou section du système de séparation :

Les dimensions du canal de séparation conditionnent directement le gradient de température à l'intérieur du système. Pour une intensité de séparation donnée, la réduction de la section du canal

réduit l'amplitude du gradient thermique ainsi que le coefficient de diffusion des solutés (Eq.1-17), augmentant de fait la résolution [80, 81].

Forme des canaux :

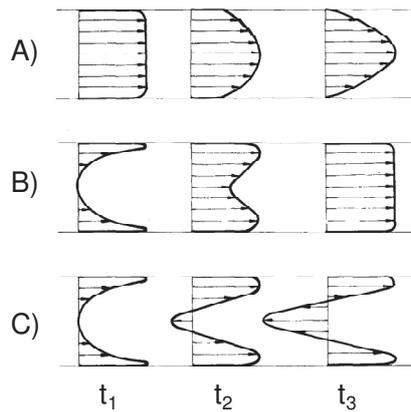
Si dans les capillaires la géométrie de canaux est presque exclusivement circulaire, les microsystèmes séparatifs présentent des sections pouvant être carrés, rectangulaires ou demi-circulaires. La diffusion des solutés par convection est plus homogène dans le cas de section circulaire [82], ce qui se traduit par une perte de résolution moins prononcée que dans les autres cas. Dans le but d'accroître la longueur du canal de séparation sans augmenter les dimensions des systèmes, le design des microsystèmes inclut régulièrement des virages sources de dispersions supplémentaires [83]. Les études de modélisations [84, 85] montrent que selon le rayon ou l'angle de courbure, l'augmentation de la distance de parcours correspondant à son franchissement entraîne un élargissement inhomogène de la bande d'élution allant de la simple déformation pour un canal de section circulaire [84] (Figure 1-11 A) à une destruction de la séparation pour les virages à structure orthogonale de section carrée [85] (Figure 1-11 B).



**Figure 1-11 : modélisation des effets de dispersion pour différentes géométries de canaux. A) section circulaire [84], B) section carrée [85].**

Les écoulements additionnels :

L'écoulement hydrodynamique résulte d'une différence de niveau des fluides entre les entrées et sorties du système de séparation. Le plus souvent négligés en capillaire, leurs effets peuvent être critiques sur la séparation en microsystème [86]. Afin de s'en prémunir, Kaniansky et al. propose de travailler en système fermé à l'aide de membranes insérées aux extrémités des canaux [87, 88]. Toutefois, un tel dispositif ne peut fonctionner qu'en absence de flux électroosmotique. Dans le cas contraire, une surpression se forme au niveau des membranes, ce qui génère un flux hydrodynamique de sens opposé entraînant une déformation du profil d'écoulement et donc un effondrement de la résolution Figure 1-12 C).



**Figure 1-12 : représentation schématique des gradients de vitesses pour : A) un écoulement hydrodynamique, B) un écoulement électroosmotique en système ouvert, C) un écoulement électroosmotique en système fermé. t<sub>1</sub>, t<sub>2</sub> et t<sub>3</sub> : échelle de temps [89].**

En système ouvert, l'écoulement électroosmotique reste problématique. En effet, son intensité dépend de la charge de surface du dispositif de séparation, du champ électrique et de la viscosité.

Ces trois facteurs typiquement constants en électrophorèse à l'exception de la zone échantillon, ne cessent de varier en ITP en raison du système discontinu d'électrolytes [90]. L'augmentation du champ électrique liée à la diminution des mobilités électrophorétiques des zones provoque la formation d'un écoulement axial croissant au fil de la séparation qui abaisse fortement la sélectivité des couples de solutés et conduit à l'allongement de la longueur de séparation pour obtenir la séparation complète [91]. La mobilité de l'écoulement électroosmotique s'additionne à celle des solutés du système augmentant la distance minimale d'obtention de l'état quasi stationnaire [92, 93]. Enfin, l'écoulement électroosmotique génère un gradient axial de pression dont la valeur s'annule à la distance  $r/\sqrt{2}$  depuis le centre du capillaire de rayon interne  $r$ , ce qui provoque la formation de frontières non planes entre les bandes [81].

Il est possible de réduire voire de supprimer l'électroosmose soit par traitement dynamique en ajoutant des polymères organiques type cellulose HEC [94, 95], poly éthylène glycol (PEG) [96, 97], soit par traitement statique de type adsorption ou greffage à la surface du canal de séparation [98-105]. Les deux méthodes, dynamique ou statique, procurent des améliorations efficaces et disposent chacune de leur inconvénients et avantages. Les traitements dynamiques sont simples et rapides mais leur efficacité n'égale pas celle des traitements statiques qui éliminent presque totalement et durablement l'écoulement électroosmotique.

#### Adsorption :

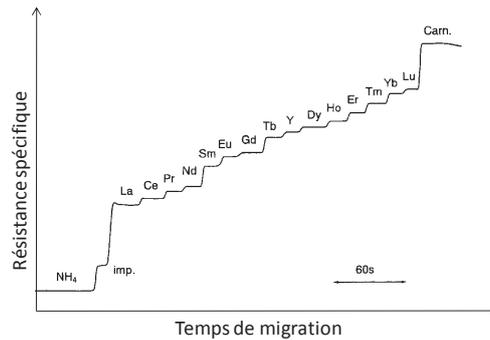
le phénomène d'adsorption correspond à la formation de liaisons ioniques entre les analytes d'intérêt et le système de séparation. La lente cinétique d'échange empêche de réaliser des

séparations efficaces, ce qui impose de limiter les interactions soluté/support, là encore par traitement statique ou dynamique [106-108].

### 1.3.7 Electrolytes de séparation des lanthanides : rôle et composition

#### 1.3.7.1 Electrolyte leader

Dans les années 80, Hirokawa et al. ont publié une série d'articles fondamentaux traitant de la séparation des lanthanides par ITP en capillaire. Sous leur forme native, conditions dans lesquelles la sélectivité est très faible, leur analyse directe impose l'utilisation d'un capillaire de grande longueur pour satisfaire au critère de séparation. Afin de parvenir à des protocoles efficaces dans un laps de temps réduit, Hirokawa et al. ont ainsi proposé d'augmenter la sélectivité intra période des lanthanides par ajout de complexants dans l'électrolyte leader. Afin de garantir une complexation optimale, le pH est également maintenu constant par un agent tampon et l'écoulement électroosmotique réduit par un recouvrement dynamique des parois du capillaire. Tous ces composés sont contenus dans l'électrolyte leader en plus de l'ion leader. En cours d'analyse, le ou les agents complexants vont à la rencontre des éléments lanthanides induisant la formation de complexes labiles et un équilibre d'échange s'entretient tout au long de la migration. La mobilité électrophorétique et l'abondance de chacune des formes libres ou complexées des lanthanides contribuent à accroître la sélectivité intra période et donc à réduire le critère de séparation. Au final, l'optimisation de la séparation repose sur une multitude de paramètres tels que : la nature du ou des agent(s) complexant(s), leur concentration, le pH, la longueur de séparation, l'écoulement électroosmotique [64, 109-113]. Ses recherches sur ce sujet ont fourni d'importantes quantités de données théoriques avec la détermination des constantes de complexation et des mobilités électrophorétiques de nombreux complexes lanthanide-ligand. Parmi les complexants évalués, seul l'HIBA permet une séparation complète de l'ensemble des lanthanides. L'utilisation de complexants secondaires améliore spécifiquement la sélectivité de certains couples d'éléments. Bien que l'yttrium (Y) ne soit pas un lanthanide, sa relative abondance dans les minerais et sa correspondance chimique avec notamment le dysprosium (Dy) occasionnent des difficultés de séparation [111]. Face à cette problématique, les auteurs soulignent l'utilité de l'acide malonique comme vecteur de sélectivité pour le couple Y/Dy sans détérioration de la sélectivité entre les autres couples de solutés notamment celle de la paire critique Eu/Gd.



**Figure 1-13 : Isotachophorèse de 14 lanthanides + Y : capillaire de téflon 25 cm x 0.32 mm, électrolyte leader : HIBA 7.5 mmol/L, acide malonique 2 mmol/L ion leader ammoniacque 20 mmol/L, pH 4,8. électrolyte terminal : chlorohydrate de carnitine 20 mMol/L. Volume d'injection 5  $\mu$ L, 0.33mMol/L par élément. Intensité 40  $\mu$ A [111].**

### 1.3.7.2 Électrolyte terminal

La mobilité de l'électrolyte terminal doit être inférieure à toutes celles des formes (complexées ou non) des analytes [112]. Cet électrolyte doit aussi être libre de toute interaction avec les agents complexants contenus dans l'électrolyte leader. Les composés zwitterioniques offrent la possibilité de moduler leur mobilité électrophorétique en jouant sur le pH du milieu et sont de fait largement employés en ITP [114]. D'un autre côté, cette dépendance s'avère critique si le pH n'est pas parfaitement maîtrisé. Si la condition de mobilité est satisfaite, l'emploi de composés totalement ionisés de faible mobilité est préconisée [115]. En ITP de cations, les protons  $H^+$  peuvent être utilisés comme électrolyte terminal à condition d'utiliser un acide faible dans un milieu tamponné [116]. Dans le cas d'un acide fort, les protons sont intégralement dissociés et migrent au travers du système d'ITP. Leur grande mobilité électrophorétique génère un flux continu de protons qui modifie le processus de séparation en un régime électrophorétique [117]. Le même phénomène est observé avec l'utilisation d'acides faibles en l'absence d'agent tampon. Dans le cas contraire, avec l'utilisation d'un acide faible comme électrolyte terminal dans un système au pH tamponné, la progression des protons est ralentie par la migration en sens opposée de l'agent tampon. A son contact, les protons se recombinaient et leur mobilité s'annule. Comme dans le cas des équilibres de complexation utilisés pour la séparation des lanthanides, un équilibre de dissociation / recombinaison des protons  $H^+$  s'établit. Leur mobilité s'en retrouve fortement abaissée rendant possible leur utilisation comme ion terminal. Les concentrations de l'ion leader et de l'agent tampon doivent cependant être correctement ajustées afin de réguler l'abondance des protons dissociés sans risque de voir le processus de séparation évoluer en électrophorèse [117].

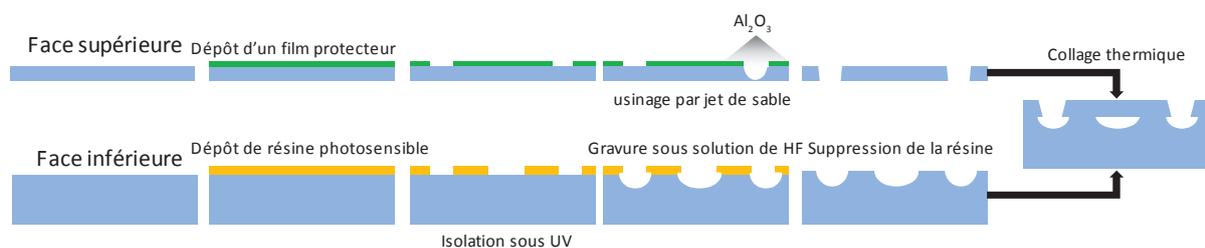
## 1.4. Les microsystemes séparatifs

### 1.4.1 Généralités

Le concept de plateforme analytique miniaturisée ou "micro total analytical system ( $\mu$ TAS)" en anglais a été introduit par Manz et al. en 1990 [118]. Au commencement, la démarche de miniaturisation s'inscrivait dans une volonté d'augmenter les capacités analytiques par la conception de dispositifs capables de satisfaire à des protocoles d'analyses à étapes au sein de systèmes uniques et de dimensions réduites. Il fut rapidement constaté que la faible taille de ces dispositifs offrait dans le même temps des solutions aux problèmes de consommation d'échantillon, de réactifs et de solvants [119]. Depuis, des dispositifs miniaturisés capables de réaliser des séparations par chromatographie liquide [120-122], électrophorèse [123, 124] et isotachophorèse [125-127] ont été développés. Des couplages microsysteme-spectrométrie de masse commencent également à apparaître [128, 129]. Si l'intérêt de ces systèmes n'est plus à démontrer, leur conception reste encore délicate, ce qui limite leur utilisation au niveau industriel.

### 1.4.2 Microsystemes en verre

La fabrication des microsystemes a bénéficié du progrès des procédés de fabrication de la microélectronique. Il n'est donc pas étonnant de découvrir que les premiers microsystemes développés utilisaient des substrats de type quartz ou silice. Depuis, les procédés de fabrication des microsystemes en verre n'ont guère évolué et conservent un protocole séquentiel dont les principales étapes sont résumées sur dans la Figure 1-14.



**Figure 1-14 : protocole de conception d'un microsysteme en verre.**

La première étape consiste à creuser le réseau de canaux sur la plaque inférieure du système. Pour cela, la plaque de verre ou de quartz à graver est recouverte par "spin coating" d'une couche de résine photosensible. Selon la nature de la résine sélectionnée (négative ou positive), un masque respectivement transparent ou occultant la géométrie des canaux est intercalé entre le support traité et un rayonnement UV. La résine est soit dégradée, soit photo polymérisée. La partie

correspondant à la structure est finalement supprimée par rinçage et la plaque de verre plongée dans un milieu d'acide fluorhydrique (HF). La gravure se développe sur les zones non protégées par la résine. Le temps d'exposition, la température et la teneur en acide de la solution déterminent la profondeur des canaux [130]. La gravure terminée, la couche de résine est supprimée et le support lavé. Le même procédé de localisation des zones de gravure est appliqué pour la réalisation des connecteurs d'entrées et de sorties. Les zones non protégées par de la résine sont exposées à un spray abrasif composé de particules de sable sous pression [131]. Les deux faces usinées légèrement hydratées sont finalement mises en contact, puis placées dans une étuve programmée en température pour atteindre progressivement la température de transition vitreuse du verre utilisé. L'appauvrissement du milieu en eau entraîne la formation de liaisons Si-O-Si entre les plaques de verre et la fermeture hermétique du système [132]. Comme le montre le protocole détaillé ci-dessus, la conception d'un microsysteme en verre est longue et nécessite une succession d'étapes avec la consommation de solvants et de réactifs, ce qui augmente leur coût unitaire mais permet une grande liberté dans la géométrie des structures où seul le motif du masque conditionne la forme des canaux. Les techniques d'usinage par ablation laser [133, 134] ou abrasion par jet de sable sous pression [135] permettent de réduire le temps de process des systèmes, mais l'homogénéité des fonds de gravure ( $\pm 1 \mu\text{m}$ ) n'égale pas les performances de la gravure humide (quelques dizaines de nm). Enfin les microsystemes en verre demeurent des systèmes coûteux auxquels s'ajoute la difficulté d'usinage et la fragilité des pièces. Ces paramètres sont autant de facteurs qui ont motivé les recherches sur les microsystemes polymériques et leur développement.

### 1.4.3 Microsystemes en plastique

#### 1.4.3.1 Propriétés physiques des substrats polymériques

Une grande diversité de polymères est disponible pour confectionner des microsystemes. Chaque matériau présente des particularités physico-chimiques et une réactivité de surface qu'il convient de considérer en fonction de l'utilisation future du système. Le Polydiméthysiloxane (PDMS) est un élastomère flexible à température ambiante et facile à mettre en forme. Cependant les possibilités d'usinage de ce matériau sont limitées, sa résistance à la pression est réduite et sa perméabilité aux solvants organiques est importante [132]. Le besoin d'usinage de précision nécessite l'utilisation de thermoplastiques rigides de type polyméthacrylate de méthyle (PMMA), polycarbonate (PC) ou polystyrène (PS). Avec une absorption très faible dans l'UV, ils sont de plus préconisés pour les protocoles incluant une détection optique. Cependant, leur faible résistance chimique aux solvants

organiques classiquement utilisés, comme l'acétonitrile en chromatographie liquide, limite leur utilisation.

L'avenir des microsystèmes polymériques repose probablement sur les copolymères de cyclo-oléfine (COC), connus sous différentes appellations (ZEONOR, TOPAS, APEX...). Leurs avantages sont nombreux :

- inertes biologiquement, ces polymères sont de plus très résistants chimiquement, y compris aux solvants polaires [136].
- leur hydrophobicité limite l'adsorption de l'eau et donc la variation des structures par hydratation de même que le développement de moisissures [137]. Toutefois, après oxydation sous plasma ou micro-ondes, des traitements de surface permettent de réduire l'angle de contact et donc augmenter durablement la mouillabilité du support [95, 138].
- leurs propriétés optiques surpassent également celles des autres polymères organiques. Leur grande transparence au rayonnement visible et UV favorise leur utilisation comme fibre optique [139], ce qui facilite l'adaptation des détecteurs optiques par absorbance ou fluorescence.
- généralement équivalentes à celles du PMMA ou du PC, les propriétés mécaniques du COC dépendent de son motif monomérique et de sa pureté. Selon l'usage, il est possible de faire varier la température de transition vitreuse ( $T_g$ ) du TOPAS entre 33 et 180°C, autorisant des applications à haute température sans risque de déformation (Figure 1-15) [140].
- doté des caractéristiques électriques d'un bon isolant électrique, avec une résistivité de  $10^{16}$   $\Omega \cdot \text{cm}$  ( $10^{18}$   $\Omega \cdot \text{cm}$  pour le Téflon) et une rigidité diélectrique de 30  $\text{kV} \cdot \text{cm}^{-1}$  (17  $\text{kV} \cdot \text{cm}^{-1}$  pour le Téflon) [140], le COC est particulièrement bien adapté aux techniques électrocinétiques.

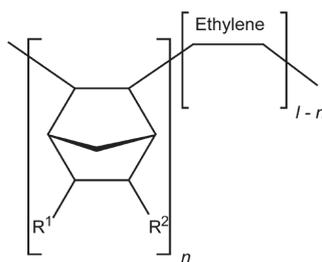


Figure 1-15 : motif monomérique des polymères de type COC.

#### 1.4.3.2 Fabrication des microsystèmes polymériques

Le moulage par pressage à chaud ("hot embossing" en anglais) constitue une des méthodes de réplique des microsystèmes polymériques offrant le meilleur compromis entre coût de production, temps d'exécution et résolution des structures. Elle consiste à comprimer un polymère avec un moule rigide présentant en bas relief le réseau de canaux du microsystème. Comme démontré par

Fredrickson et al. [141], la pression exercée, le temps et la température de moulage influencent la qualité et la fidélité de réplcation sur le support polymérique. A contrario, la notion d'erreur relative de réplcation (différence de géométrie entre les structures du moule et celle de la pièce obtenue) est introduite pour estimer la répétabilité du procédé de fabrication et ainsi définir les conditions de process optimums. A partir de plus de 15 substrats de nature différentes, Soper et al. démontre que ces écarts sont minimisés pour des températures de moulage légèrement supérieures à la température de transition vitreuse [142]. Cette température correspond pour les polymères thermoplastiques à une température intermédiaire entre l'état solide et l'état fondu. A l'inverse de l'état fondu où les chaînes macromoléculaires sont libres de se déplacer, à la température de transition vitreuse, les chaînes macromoléculaires glissent les unes sur les autres, ce qui limite leur réorganisation lors de la phase de refroidissement et donc le rétreint des structures [143, 144]. Des études complémentaires [145-147] confirment cette tendance et soulignent l'importance du coefficient d'expansion thermique des substrats pour expliquer les différences d'écarts de réplcation observées entre les polymères (5% pour le PMMA contre 0,4% pour le polycarbonate). En d'autres termes, à température de moulage légèrement supérieure à  $T_g$ , la fidélité de réplcation est d'autant plus importante que le coefficient d'expansion thermique du substrat est faible. D'après les données physiques rassemblées par Tsao et DeVoe [146], le COC présente un coefficient d'expansion thermique inférieur à celui du PC, ce qui le prédispose à une utilisation du hot embossing [137].

Enfin, selon le substrat utilisé, l'étape de fermeture des systèmes s'effectue soit par pression à  $T=T_g$  (PMMA, PC), soit par oxydation des surfaces et mise en contact (PDMS) ou bien dans le cas du COC par exposition des pièces à des vapeurs de solvant. Les microsystemes polymériques sont économiques et rapides à produire. Cependant, leur fabrication nécessite la conception au préalable d'un moule de réplcation généralement coûteux qui impose de mûrir une réflexion quant à la géométrie finale du système.

Le moulage par injection ou la nano impression assistée par lithographie sont également deux techniques répandues de fabrication des microsystemes polymériques cependant leur fonctionnement n'égale pas le compromis temps de production et précision des structures obtenu en hot embossing. Le moulage par injection consiste à injecter à haute pression le polymère fondu sur le moule de réplcation maintenu à la température de démoulage de la pièce. Du fait de sa cadence de production élevée, cette technique est une des méthodes de moulage de macrosystemes en plastique les plus utilisées mais présente toutefois des résolutions faibles [136]. La nano impression quand à elle est utilisée au même titre que le hot embossing pour réaliser des structures de forte résolution mais affiche un temps et un coût de fabrication unitaire plus élevé. Elle consiste à comprimer des polymères liquides avec un moule de type silicone ou verre et de le photopolymériser par exposition à un rayonnement UV. L'ensemble moule et pièces sont désolidarisée et un

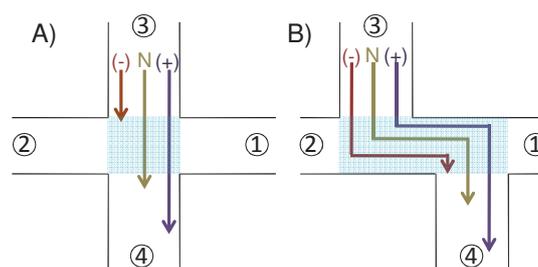
traitement par plasma d'oxygène est alors appliqué afin de réduire les imperfections formées lors du démoulage [139].

### 1.4.3.3 Sources de dispersion en ITP sur microsysteme

Comme souligné précédemment, l'optimisation des séparations par ITP nécessite de réduire les sources de dispersion liées aux conditions expérimentales et au système de séparation. Ci-dessous, nous passons en revue quelques uns des problèmes rencontrés.

#### La phase d'injection :

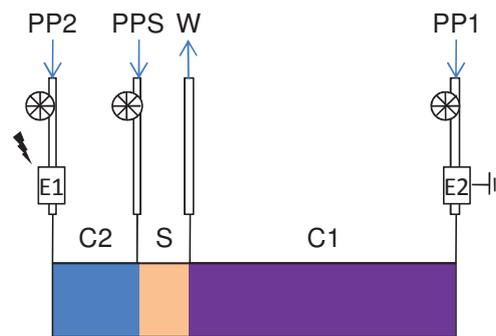
Le maniement des fluides en microsysteme repose principalement sur leur mise en mouvement par un champ électrique. Abondamment étudiés pour les séparations par CZE sur microsysteme, seuls des protocoles d'injection électrocinétique élaborés permettent de garantir la répétabilité des analyses [148]. La transposition de ces méthodes en ITP s'avère impossible en raison du biais de masse électrocinétique [149]. En électrophorèse, la représentativité de la fraction injectée sur microsysteme n'est pas altérée en raison des faibles volumes des boucles d'injection en croix ou en double T (quelques nL) mis en oeuvre. Avec l'application d'une différence de potentiel entre les bornes 3 et 4 (Figure 1-16), les analytes de l'échantillon migrent au travers du système et atteignent la zone d'injection (zone bleue). Afin de s'affranchir du biais d'injection lié aux vitesses de migration de chaque composé, la différence de potentiel est maintenue jusqu'à l'obtention d'un flux constant d'analytes au niveau de la zone d'injection (zone bleue). La tension entre les bornes 3 et 4 est alors stoppée et l'application d'une différence de potentiel entre les bornes 1 et 2 déclenche la séparation des analytes contenus dans la zone d'injection [150].



**Figure 1-16 : schéma des systèmes d'injection en électrophorèse sur microsysteme. A) injection simple croix. B) double T d'injection. (-), N et (+) migration des éléments respectivement anionique, neutre et cationique en présence d'écoulement électroosmotique. 1, 2, 3, 4 correspondent aux contacts électriques.**

Dans le cas de l'injection de plusieurs microlitres, le maintien de la représentativité de l'échantillon imposerait un temps d'injection important fonction : des mobilités électrophorétiques des analytes mais aussi de l'intensité de l'écoulement électroosmotique du support. Seule une injection hydrodynamique permet de s'affranchir du biais d'injection dans un laps de temps acceptable.

Afin de s'affranchir des risques d'écoulements hydrodynamiques et de diffusion des électrolytes aux intersections des canaux, Kaniansky et al. préconise l'utilisation de systèmes clos en raccordant les entrées et sorties de son système à des pompes péristaltiques (figure 1-17). A l'arrêt, les galets des pompes compriment les tubes péristaltiques raccordés au système empêchant ainsi les diffusions. Un protocole de mise en marche synchronisée permet de localiser précisément les électrolytes dans les canaux conformément au principe de l'ITP [125, 127]



**Figure 1-17 : configuration d'un microsysteme clos à injection hydrodynamique PP1, PPS et PP2 respectivement les voies des pompes péristaltiques ainsi que le sens d'écoulement correspondant, E1 et E2 les électrodes de séparation. C1, S, C2 respectivement la localisation dans le canal de l'électrolyte leader, l'échantillon et l'électrolyte terminal une fois la phase de remplissage achevée. W la voie d'évacuation est laissée ouverte.**

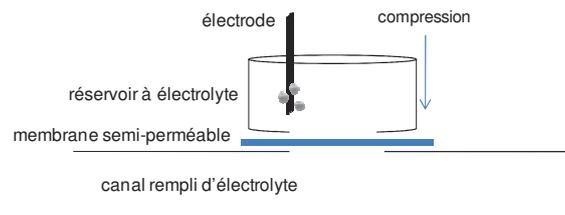
L'utilisation de ce système nécessite néanmoins de supprimer totalement l'écoulement électroosmotique car il y a le risque de générer une suppression à l'intérieur des canaux et un écoulement d'origine hydro dynamique de sens opposé capable de détériorer la séparation. Cette configuration très simple génère aussi un volume mort de tube important qui est consommateur d'échantillon et qui ne peut convenir dans le cas de composés actifs.

Des micro électrovannes ont été également développées afin de contenir l'ensemble des électrolytes dans le système, ce qui limite les contaminations des modules externes mais augmente la complexité du système [151].

#### Phénomènes d'électrolyse des solutions :

L'électrolyse des électrolytes au niveau des électrodes est un phénomène sans conséquence en technique électrocinétique sur capillaire, mais qui en microsysteme s'avère problématique, notamment avec les microsystemes fermés. En effet, en configuration capillaire ouverte, les extrémités du capillaire de séparation sont immergées dans des flacons contenant les électrolytes. Le contact électrique se fait directement en plongeant les électrodes dans ces flacons ouverts permettant aux éventuelles bulles formées par électrolyse à la surface des électrodes de s'évacuer.

En micro système clos, le contact électrique est réalisé directement dans le système, les bulles formées s'accumulent jusqu'à remplir une section de canal et rompre le transport électrique. Les électrodes doivent donc être déportées à l'extérieur du système. Afin de ne pas rompre le confinement des électrolytes, des membranes semi-perméables sont disposés au niveau d'une portion de canal ouverte sur l'extérieur. Un système mécanique maintient la membrane en position pendant que son sommet est mis en contact avec un réservoir d'électrolyte contenant l'électrode (Figure 1-18). Dans cette configuration, les bulles produites ne peuvent franchir la membrane et sont évacuées à la surface du réservoir [152].



**Figure 1-18 : schéma d'une connexion à membrane sur microsysteme clos.**

#### Effet Joule et diffusion thermique :

Le système de séparation se doit de conserver une température homogène bien que la conductivité thermique des polymères comme le COC les classe dans la catégorie des isolants thermiques. Elle est dix fois plus faible que celle du verre ( $0.18 \text{ W.m}^{-1}.\text{K}^{-1}$  contre  $1.4 \text{ W.m}^{-1}.\text{K}^{-1}$ ) et comparable à celle de l'amiante ( $0.16 \text{ W.m}^{-1}.\text{K}^{-1}$ ). L'échauffement thermique que génère la mise sous tension du système s'accompagne de la formation d'un gradient axial de température dont l'amplitude est augmentée par la réverbération de la chaleur sur les parois internes des canaux [153]. L'utilisation de sections rectangulaires de largeurs importantes pose un problème d'affaissement de la structure en son centre pour les composés élastomères comme le PDMS en cas de surchauffe. L'optimisation des dimensions des canaux est insuffisante pour limiter les effets thermiques : mesurée pour un système de ratio largeur/hauteur égal à 2, la réduction de température par rapport à un système de section carrée n'excède pas  $1^\circ\text{C}$  [153]. En conclusion, seule l'application d'une tension modérée permet de préserver le système de phénomènes de dispersion d'origine thermique excessifs [154].

#### La mobilité électroosmotique :

L'écoulement électroosmotique sur support en COC à l'inverse du PDMS, a longtemps été négligé, en raison de sa très forte hydrophobicité. Une étude récente réalisée par Kutter et al. atteste cependant de la présence d'un écoulement électroosmotique cathodique, comparable à celui obtenu sur des supports classiques en verre, dans les microsystemes en COC (TOPAS) non dérivé [155]. L'origine de ce phénomène demeure incertaine, mais des auteurs s'accordent à penser que les surfaces

hydrophobes augmentent l'autoprotolyse de l'eau. Les ions hydroxydes formés s'adsorbent alors à la surface des parois créant une couche statique anionique [156].

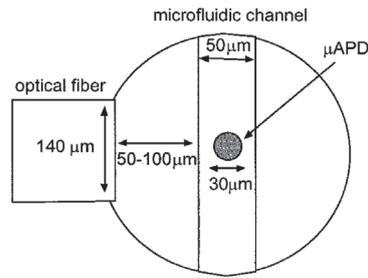
En milieu tamponné, la mobilité électroosmotique dépend du potentiel Zêta, lui-même défini en fonction du pH, de la force ionique, de la chimie de surface du support et de la topographie des canaux [155, 157]. Afin d'améliorer la reproductibilité de l'écoulement électroosmotique entre les systèmes et de réduire les problèmes d'adsorption, des protocoles de chimie de surface se développent pour rendre les parois des canaux de COC moins hydrophobes. Ces traitements reposent sur une oxydation préalable des parois internes du système par exposition à un plasma d'oxygène. Ainsi, les parois acquièrent en surface des groupements C - O, C = O qui réduisent l'hydrophobicité du COC. L'utilisation des protocoles de coating dynamique ou statique développés en capillaire de silice permettent aussi de réduire la mobilité électroosmotique du support à un niveau négligeable [95].

#### 1.4.3.4 Détection sur microsysteme

Trois grandes catégories de détection sont principalement utilisées en microsysteme : la fluorescence induite par laser (LIF), les méthodes électrochimiques (ECD) et la spectrométrie de masse (MS).

##### LIF :

La méthode de détection par LIF consiste à focaliser un rayonnement laser mono longueur d'onde sur l'échantillon. L'énergie absorbée par l'échantillon est alors retransmise par émission de photons de longueur d'onde caractéristique de la molécule étudiée appelée longueur d'onde de fluorescence. La sélectivité de la détection est assurée par la longueur d'onde du laser d'excitation. Majoritairement utilisée pour la détection des protéines et de petites molécules fluorescentes, la détection LIF s'est imposée en microsysteme malgré son champ d'application limité aux solutés naturellement fluorescents ou aux molécules dérivées avec un fluorophore. Ces dernières années, le développement des Diodes Electro-Luminescentes (LED) a permis d'accélérer le développement des méthodes de détection LIF miniaturisées sur microsysteme [158]. Comme le montre la Figure 1-19, une fibre optique transmet le faisceau d'excitation provenant d'une LED tandis que le signal de fluorescence est collecté par un micro photomultiplicateur disposé sous la canal de séparation perpendiculairement à la source d'émission. La sensibilité de ces systèmes portables reste tributaire de la largeur de la bande d'émission des LED actuelles, ce qui limite leur application.

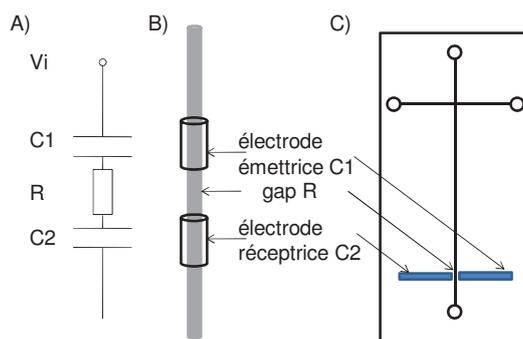


**Figure 1-19 : principe de la détection LIF miniaturisée dans un microsystème en PDMS [158].**

ECD :

Un fonctionnement simple, une grande sensibilité, un coût réduit et un potentiel de miniaturisation avéré sont autant de facteurs qui ont contribué au développement des techniques de détection électrochimiques appliquées aux microsystèmes. Que la technique soit ampérométrique, potentiométrique ou conductimétrique, son fonctionnement repose sur l'utilisation de deux électrodes, l'une dite de référence, l'autre dite active qui réalise la mesure. Néanmoins, ces méthodes nécessitent la mise en contact des électrodes avec la solution à analyser. Le procédé de fabrication des systèmes se doit donc de comporter une étape de positionnement des électrodes qui sont le plus souvent constituées de métal précieux (Au, Pt) et jetables afin d'éviter toute réaction croisée avec le contenu des canaux. Enfin, ces méthodes ne sont pas exemptes de problèmes techniques, tels que des interférences électriques dues à la faible distance entre les électrodes de détection et les électrodes de commande de la séparation électrocinétique, mais également des échauffements thermiques à la surface des électrodes pouvant occasionner la formation de bulles dans les canaux [159].

Parmi les ECD, la détection par conductimétrie repose sur la mesure de la résistance d'une portion de solution comprise entre deux plaques conductrices parallèles. Initialement développée en contact direct avec la solution à analyser, cette dernière peut aussi être réalisée à distance. Ainsi en 1980, Gas et al. fut le premier à énoncer le principe de la détection conductimétrique sans contact connue sous l'appellation "Capacitively Coupled Contactless Conductivity Detection" ou C<sup>4</sup>D [160]. La Figure 1-20 schématise le principe de fonctionnement d'un détecteur C<sup>4</sup>D ainsi que ses configurations sur capillaire et microsystème.



**Figure 1-20 : représentation schématique d'un détecteur C4D : A) circuit électrique simplifié du détecteur, B) configuration d'un C4D sur capillaire, C) configuration d'un C4D sur microsystème en orientation parallèle.**

L'application d'un signal sinusoïdal de 20 à 900 KHz de faible tension (< 5V) génère une première transition capacitive entre l'électrode d'émission C1 et le contenu du canal de séparation, puis entre le canal et l'électrode réceptrice C2. L'ensemble du système étant branché en série, le gap entre les deux électrodes se comporte comme une résistance électrique. La traversée de cet espace par un soluté ionisé modifie instantanément la valeur de la résistance et produit donc un changement de la conductivité mesurée au niveau de la seconde électrode C2 [161].

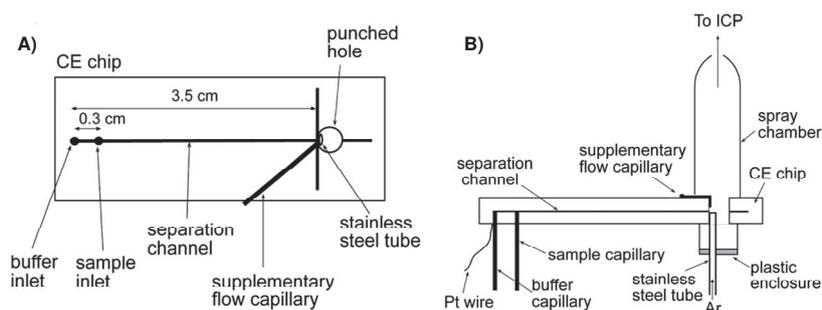
#### MS :

Le besoin de détection ultra sensible et sélective a conduit au couplage entre les microsystèmes et la spectrométrie de masse. La difficulté majeure de ce couplage réside dans l'extraction du contenu du canal de séparation en direction de la source d'ionisation sans générer de dispersion.

Ramsey et al. propose ainsi un microsystème en verre intégrant une source d'ionisation électrospray [128]. Trouvant principalement son intérêt dans l'analyse des protéines et des échantillons biologiques, les sources électrospray sont totalement inefficaces dans le domaine de l'analyse élémentaire. En effet, l'ionisation de composés métalliques impose de fournir une quantité d'énergie supérieure ou égale au potentiel d'ionisation de l'élément cible.

La source d'ionisation ICP permet quant à elle l'ionisation de près de 90% des éléments du tableau périodique, ce qui explique les efforts déployés pour la réalisation d'une interface microsystème-ICP miniaturisée. Depuis le premier couplage CE-ICPMS décrit par Olesik et al. [162], la difficulté principale de ce couplage réside dans la différence des débits de fonctionnement des deux instruments : la source d'ionisation ICP fonctionne généralement à un débit qui est 1000 fois plus élevé que celui du microsystème, ce qui oblige l'apport d'un liquide additionnel qui doit être réalisé sans générer un effet de succion du contenu du système de séparation. La plupart des interfaces pour capillaire utilisent un liquide de compensation, coaxial et introduit par l'intermédiaire d'une pièce en T permettant à la fois de fermer le circuit électrique et d'adapter le débit à l'ICPMS [163].

Les interfaces microsystème-ICPMS ne sont pas encore bien maîtrisées mais quelques exemples témoignent des recherches et avancées dans ce domaine, avec notamment les travaux de Chan et al. qui est parvenu à concevoir une chambre de nébulisation en sortie d'un microsystème en PDMS destiné à des séparations par électrophorèse (Figure 1-21). Un capillaire en inox orienté perpendiculairement au canal de séparation ferme le circuit électrique et délivre par la même occasion un débit d'Ar. Un débit additionnel orienté dans le même plan que le canal de séparation assure la formation d'un spray homogène annoncé sans effet de suction [164].



**Figure 1-21 : représentation schématique de l'interface CE-ICP développée par Chan et al. [164]. A) représentation en vue de dessus, B) représentation en vue de coté.**

Les réalisations comme celles de Hui et al restent rares et encore perfectibles. A titre d'exemple, le rendement de transfert du spray par le système présenté en Figure 1-21 n'excède pas 10% et aucune séparation n'a encore été réalisée. D'autres systèmes plus simples mais déjà opérationnels se contentent de raccorder l'extrémité du canal de séparation du microsystème à une interface commerciale de type nanospray par l'intermédiaire d'un capillaire de transfert [165].

Si les possibilités de détection sur microsystème se sont profondément développées ces dernières années, les techniques électrochimiques sont, actuellement, quasiment les seules méthodes de détection capables de s'implanter directement dans un système miniaturisé respectant ainsi la définition d'un  $\mu$ TAS énoncé par Andréas Manz [118]. Bien que sensibles, ces méthodes ne sont pas suffisamment sélectives pour résoudre des problèmes analytiques complexes.

Appliquée à la séparation des lanthanides, une détection conductimétrique sans contact permettrait de qualifier l'avancée de la séparation sans risque de contamination des électrodes par des déchets actifs, mais la quantification du contenu isotopique de ces combustibles implique l'utilisation de spectromètres de masse. Dans ce cas, après la séparation des produits de fission par ITP, deux stratégies de détermination des rapports isotopiques sont possibles. La première consiste à collecter individuellement les bandes monoélémentaires séparées et à les déposer séparément sur filament pour des analyses par TIMS. La seconde serait de coupler directement la séparation par ITP à une détection par ICP-MS afin de mesurer directement des rapports isotopiques sur signaux transitoires.

## 1.4.4 Protocoles de mesure isotopique post séparation

### 1.4.4.1 Méthode hors ligne : collection sur microsysteme pour analyse par TIMS

Le principe de l'analyse par TIMS est le suivant : une élévation de la température entraîne la désolvatation de l'échantillon, sa vaporisation et finalement son ionisation. La source d'ionisation se présente sous la forme d'un système à triple filament, connu pour fournir un rendement d'ionisation stable et indépendant de la température de vaporisation du dépôt [166]. L'échantillon est déposé sur l'un des filaments latéraux (Figure 1-22) tandis que la température de chauffe du filament central est modulée par un courant électrique selon les conditions thermiques d'ionisation fournies par la loi de Saha-Langmuir [167].

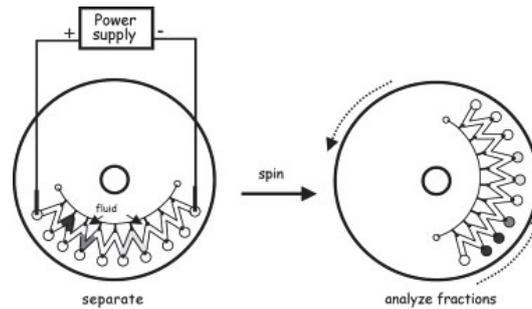


**Figure 1-22 : photographie d'un insert de TIMS à trois filaments.**

La précision des mesures isotopiques dépend de la pureté de l'échantillon déposé. Compte tenu de l'incapacité des spectromètres à distinguer les éléments de masses proches, toute interférence isobarique doit être évitée. De plus, en présence d'éléments annexes, l'énergie fournie par le filament est utilisée pour ioniser préférentiellement les éléments de plus faible énergie d'ionisation. De fait, une analyse isotopique par TIMS nécessite une collection post séparation des fractions séparées. Les différents dispositifs et méthodes de collection sur microsysteme sont résumés ci-dessous.

#### Collection par centrifugation :

Récemment, M.Spěňny et F.Foret [168] ont proposé un microsysteme arborant une multitude de réservoirs le long d'un canal de séparation en "dents de scie". Par sa forme circulaire (Figure 1-23), ce design particulier est destiné à fragmenter le contenu du canal de séparation après centrifugation du microsysteme.

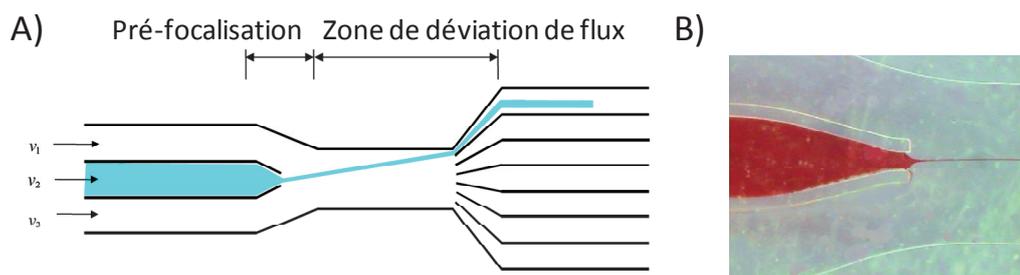


**Figure 1-23 : Schéma d'un microsystème incluant une collection par centrifugation [168].**

Afin de prévenir les risques de diffusion, l'entrée des puits est protégée par une zone hydrophobe. Utilisable en isotachophorèse, le nombre de puits peut être adapté afin d'obtenir une résolution de collecte suffisante. Après séparation, la force centrifuge induite par la rotation du disque force le contenu du segment en V à franchir la zone hydrophobe pour être collecté dans le puit en son extrémité. La qualité de la collection reste tributaire d'une adaptation de la géométrie du microsystème à la composition de l'échantillon analysé. Ce concept présente un intérêt certain en analyse de routine où la composition des échantillons est déjà estimée.

Collection par focalisation hydraulique :

En régime d'écoulement laminaire, l'écoulement des solutés en sortie de canal de séparation peut être guidé très précisément par l'intermédiaire de fluides de gainage (Figure 1-24). Ainsi, la gestion des ratios de débits  $v_2 / v_1$  et  $v_3 / v_2$  permet de dévier le flux d'intérêt dans une direction préétablie. Une géométrie particulière peut également être ajoutée au microsystème afin de focaliser le flux cible et améliorer la phase de collection [169-173].

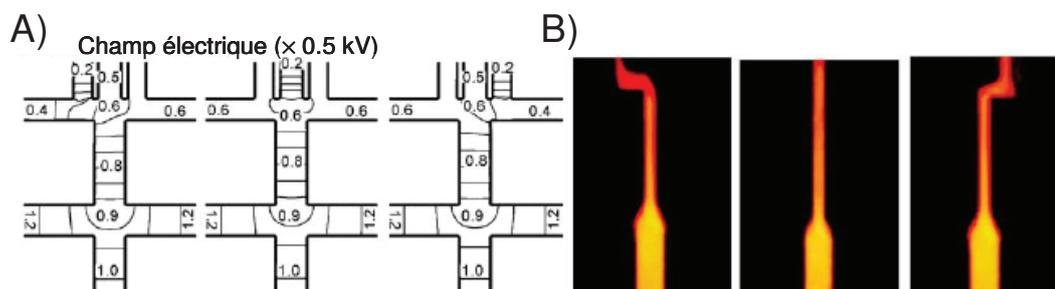


**Figure 1-24 : 1) : Principe de focalisation hydrodynamique sur microsystème, 2) : Focalisation hydrodynamique dans un microsystème en quartz.**

Collection par conduite électrocinétique du flux :

Lee et al. [174] dans de récents travaux ont réalisé les étapes de migration, focalisation et déviation d'un flux d'échantillon uniquement par procédé électrocinétique. Une relation linéaire relie la largeur du faisceau focalisé et le rapport des tensions entre les canaux. Suite à la focalisation du faisceau, une manipulation du potentiel électrique à l'entrée des canaux de collection permet de

diriger le flux d'échantillon dans la direction souhaitée (Figure 1-25). Intégré par Baker et Roper à un microsysteme séparatif, ce mode de collection permet d'isoler directement à l'issue de la séparation les fractions séparées par électrophorèse sans interruption de l'analyse [175].



**Figure 1-25 : A) Potentiels électriques appliqués pour trois collections différentes, B) Illustrations expérimentales pour un ratio F de 2.**

Bien que la manipulation post séparation des fractions collectées semble envisageable, la mesure des rapports isotopiques des fractions collectées conserve l'aspect séquentiel du protocole existant. Dans un souci de réduire efficacement les temps de manipulation, la séparation des produits de fission doit être intégrée dans un protocole de mesure en ligne des rapports isotopiques, ceci par couplage avec un spectromètre de masse à source à plasma à couplage inductif.

#### 1.4.4.2 Méthode en ligne : mesures isotopiques sur signaux transitoires par couplage ITP/ICP-MS

Initialement développées pour les études de spéciation, les méthodes couplées offrent la possibilité de séparer des échantillons multi-élémentaires et de mesurer en ligne la variation des rapports isotopiques sans contrainte d'interférences isobariques. Toutefois, les résultats obtenus avec différentes méthodes analytiques et différents types de spectromètres de masse témoignent d'une dérive des rapports isotopiques durant l'élution des solutés. L'origine de cette dérive n'est pas clairement identifiée et des groupes de chercheurs tentent de comprendre l'origine de ce phénomène en proposant des pistes de réflexions. Dès 1981, Filer et al. ont observé un comportement chromatographique différent de molécules pharmaceutiques marquées par des atomes de tritium face à leurs homologues naturels [176]. Il conclut alors à un possible fractionnement isotopique par chromatographie. En 2004, Gunther-Leopold avance à son tour cette possibilité en observant une dérive des rapports isotopiques en LC sur le pic de l'uranium et des rapports isotopiques constants par infusion d'uranium préalablement concentré sur colonne d'adsorbant [177]. L'hypothèse du fractionnement isotopique est également soulevée en chromatographie gazeuse par Wehmeier et al [178] qui soulignent une réduction de la dérive des

rapports pour des faibles différences de masses. Ces conclusions sont réfutées par Krupp et al. [179] qui rappellent que, si le procédé de séparation était à l'origine d'un quelconque fractionnement isotopique, l'intensité de la dérive des rapports serait proportionnelle à la différence de masse entre les isotopes mesurés. A défaut de fractionnement isotopique par chromatographie, Krupp et al. mettent en cause le profil d'élution des composés. Les signaux transitoires sous forme de pics impliqueraient des difficultés d'intégration du signal par les spectromètres se manifestant par une dérive. En effet, les profils en pic s'accompagnent d'une modification du rapport soluté/matrice au cours du temps, de même qu'une instabilité de l'intensité du signal durant l'élution. La vérification de cette hypothèse n'a pour l'heure pas été confirmée car ceci impose l'utilisation d'une technique analytique capable de réaliser la séparation en ligne des solutés et de procéder à leur élution sous forme de créneaux de concentration stable dans un laps de temps de quelques secondes. L'ITP remplit l'intégralité de ces recommandations : après obtention de l'état quasi stationnaire, les solutés sont concentrés en bandes pures quasi rectangulaires et peuvent donc être élués à concentration constante sans phase mobile comme le montre les travaux de Lee et al. [180], de mémoire le seul exemple de couplage direct ITP avec un spectromètre de masse en l'occurrence à temps de vol (TOF) au travers d'une source électrospray pour l'ionisation de protéines. Par conséquent, l'utilisation de l'ITP devrait permettre de confronter cette hypothèse et apporter des informations sur l'origine de la dérive des rapports isotopiques mesurés sur des signaux transitoires.

## 1.5. Conclusion

La séparation des lanthanides, en tant que PF dans les combustibles usés, constitue un enjeu majeur en préalable à leur analyse isotopique par spectrométrie de masse dans la validation des codes de calculs neutroniques. Les méthodes chromatographiques permettent soit de séparer et de collecter individuellement les produits de fission d'intérêt et de mesurer leurs rapports isotopiques par TIMS, soit par couplage avec un ICPMS de séparer et mesurer séquentiellement les isotopes des éléments séparés. Cependant, les quantités de prise d'essai nécessaire et de déchets générés avec ces séparations nécessitent d'être fortement réduites. Les évolutions actuelles dans le domaine de la miniaturisation, comme la nano chromatographie ou l'électrophorèse capillaire, proposent des améliorations notables des conditions de manipulation, mais ne sont pas forcément adaptées aux échantillons de combustibles usés et présentent des difficultés d'utilisation en BAG. Inversement, les microsystèmes polymériques par leur fonctionnement simplifié et leur faible coût de production

laissent entrevoir la possibilité de développer un protocole de séparation sur plateforme miniaturisée, jetable et ne générant que peu de déchets.

Parmi les procédés de séparation envisagés, l'ITP apparaît comme la technique séparative la plus à même de faire coïncider le principe de miniaturisation, tout en permettant le traitement de quantités massiques compatibles avec les échantillons et les limites de détection des spectromètres de masse intervenant dans la mesure des rapports isotopiques. La séparation en ITP repose sur la différence de mobilité électrophorétique des éléments d'intérêt. Dans le cas des lanthanides, ces différences sont minimales et une séparation directe n'apparaît pas envisageable. Au regard des travaux déjà réalisés sur ces éléments, l'utilisation de complexants organiques ciblés permet néanmoins de générer in situ des équilibres de complexation aux cinétiques d'échanges élevées, conduisant à la présence simultanée en solution de multiples formes de lanthanides complexés. La participation de chacune d'entre elles à la définition de la mobilité moyenne de l'espèce métallique permet donc d'accroître les différences entre les éléments. La formulation d'un électrolyte leader capable d'apporter cette capacité de séparation est donc primordiale d'autant que les constituants qui le composent doivent être compatibles avec les protocoles de mesures isotopiques. D'après les données bibliographiques parues à ce sujet, l'HIBA s'affirme comme le complexant le plus à même de remplir cette tâche seul ou secondé par un agent auxiliaire. D'anciens travaux révèlent toutefois l'existence d'un autre agent complexant, l'HMBA, aux propriétés de complexation potentiellement supérieures pour la séparation des lanthanides les plus légers. L'optimisation de la séparation impose d'étudier et de comparer la contribution de chacun de ces agents sur la sélectivité intra période.

Le traitement de plusieurs microlitres d'échantillon implique de proposer un design de microsystème respectant le critère de séparation établi en fonction de la sélectivité des éléments à séparer. L'amélioration de la qualité de séparation impose également d'étudier individuellement chacune des sources de dispersion.

Enfin, la collection individuelle des bandes de solutés séparés reste une source d'interrogation, tant du point de vue technologique avec la collection de 14 éléments purifiés dans de très faibles volumes (quelques nanolitres) que pratique avec la conservation d'un protocole d'analyse isotopique séquentiel.

La conception d'une plateforme analytique miniaturisée, jetable et capable de réaliser la séparation des produits de fission par ITP et la mesure des rapports isotopiques sur signaux transitoires par couplage avec l'ICP-MS constituerait un nouvel outil innovant pour l'industrie du nucléaire et élargirait davantage les champs d'application des microsystèmes séparatifs.

## Références bibliographiques

- [1] Gupta, C. K., Krishnamurthy, N., *Extractive Metallurgy of Rare Earths*, CRC Press, Boca Raton, Floride 2004.
- [2] Liu, S. H., Gschneidner, K. A., LeRoy, E., *Handbook on the Physics and Chemistry of Rare Earths*, Elsevier 1978, pp. 233-335.
- [3] Kaltsoyannis N., S. P., *the f elements*, Oxford science publications 1999.
- [4] Lappert, M. F., Abel, E. W., Stone, F. G. A., Wilkinson, G., *Comprehensive organometallic chemistry II : a review of the literature 1982-1994. Volume 4, Scandium, yttrium, lanthanides and actinides, and titanium group /*, Elsevier 1995.
- [5] King, R. B., *Inorganic Chemistry of Main Group Elements*, Wiley 1994.
- [6] Ionova, G. V., Madic, C., Guillaumont, R., *Russian Journal of Coordination Chemistry* 2001, 27, 439-442.
- [7] Thompson, S. G., Harvey, B. G., Choppin, G. R., Seaborg, G. T., *Journal of the american chemical society* 1954, 76, 6229–6236.
- [8] Choppin, G. R., Silva, R. J., *Journal of Inorganic and Nuclear Chemistry* 1956, 3, 153-154.
- [9] Choppin, G. R., Chopoorian, J. A., *Journal of Inorganic and Nuclear Chemistry* 1961, 22, 97-113.
- [10] Choppin, G. R., Ketels, J., *Journal of Inorganic and Nuclear Chemistry* 1965, 27, 1335-1339.
- [11] de Calvalho, R. G., Choppin, G. R., *Journal of Inorganic and Nuclear Chemistry* 1967, 29, 737-743.
- [12] Powell, J. E., Chughtai, A. R., Ingemanson, J. W., *Inorg. Chem.* 1969, 8, 2216-2218.
- [13] Choppin, G. R., *Pure and Applied Chemistry* 1971, 27, 23-42.
- [14] Karol, P. J., *Journal of Chromatography* 1973, 79, 287-291.
- [15] Cazes, J., *Encyclopedia of Chromatography, Third Edition*, CRC Press 2009, 1311-1318.
- [16] Elchuk, S., Cassidy, R. M., *Analytical Chemistry* 1979, 51, 1434-1438.
- [17] Chen, Z., Liu, G., Wang, X., Wang, X., Lu, Z., Yang, Y., *Journal of Nuclear and Radiochemistry* 1988, 10, 78-83.
- [18] Yan, S., Lin, F., Zhang, H., Li, X., Zhang, S., *Journal of Radioanalytical and Nuclear Chemistry* 1988, 124, 187-195.
- [19] Bruzzoniti, M. C., Mentasti, E., Sarzanini, C., *Analytica Chimica Acta* 1997, 353, 239-244.
- [20] Raut, N. M., Jaison, P. G., Aggarwal, S. K., *Journal of Chromatography A* 2002, 959, 163-172.
- [21] Raju, C. S. K., Subramanian, M. S., Sivaraman, N., Srinivasan, T. G., Vasudeva Rao, P. R., *Journal of Chromatography A* 2007, 1156, 340-347.
- [22] Kumagai, H., Inoue, Y., Yokoyama, T., Suzuki, T. M., Suzuki, T., *Analytical Chemistry* 1998, 70, 4070-4073.
- [23] Kumagai, H., Yamanaka, M., Sakai, T., Yokoyama, T., Suzuki, T. M., Suzuki, T., *Journal of Analytical Atomic Spectrometry* 1998, 13, 579-582.
- [24] Kumagai, H., Yokoyama, T., Suzuki, T. M., Suzuki, T., *The Analyst* 1999, 124, 1595 - 1597.
- [25] Garcia-Valls, R., Hrdlicka, A., Perutka, J., Havel, J., *et al.*, *Analytica Chimica Acta* 2001, 439, 247-253.
- [26] Nesterenko, P. N., Jones, P., *Journal of Chromatography A* 1998, 804, 223-231.
- [27] Brennetot, R., Becquet, A.-L., Isnard, H., Caussignac, C., Vailhen, D., Chartier, F., *J. Anal. At. Spectrom* 2005, 20, 500-507.
- [28] Isnard, H., Brennetot, R., Caussignac, C., Caussignac, N., Chartier, F., *International Journal of Mass Spectrometry* 2005, 246, 66-73.

- [29] Perna, L., Bocci, F., Aldave de las Heras, L., De Pablo, J., Betti, M., *Journal of Analytical Atomic Spectrometry* 2002, 17, 1166-1171.
- [30] Knox, J. H., *Journal of Chromatography A* 2002, 960, 7-18.
- [31] Ueki, Y., Umemura, T., Li, J., Odake, T., Tsunoda, K.-i., *Analytical Chemistry* 2004, 76, 7007-7012.
- [32] Hjertén, S., *Chromatographic Reviews* 1967, 9, 122-219.
- [33] Li, S. F. Y., *capillary electrophoresis principles, practice and applications*, Elsevier, Amsterdam 1992.
- [34] Collins, F. S., Patrinos, A., Jordan, E., Chakravarti, A., Gesteland, R., Walters, L., *Science* 1998, 282, 682-689.
- [35] Swaile, D. F., Sepaniak, M. J., *Analytical Chemistry* 1991, 63, 179-184.
- [36] Öztekin, N., Erim, F. B., *Journal of Chromatography A* 2000, 895, 263-268.
- [37] Janos, P., *Electrophoresis* 2003, 24, 1982-1992.
- [38] Min, C., Cassidy, R. M., 1993, 640, 425-431.
- [39] Weston, A., Brown, P. R., Jandik, P., Jones, W. R., Heckenberg, A. L., *Journal of Chromatography A* 1992, 593, 289-295.
- [40] Shi, Y., Fritz, J. S., *Journal of Chromatography A* 1993, 640, 473-479.
- [41] Vogt, C., Conradi, S., 1994, 294, 145-153.
- [42] Macka, M., Nesterenko, P., Andersson, P., Haddad, P. R., *Journal of Chromatography A* 1998, 803, 279-290.
- [43] Öztekin, N., Erim, F. B., *Journal of Chromatography A* 2001, 924, 541-546.
- [44] Timerbaev, A. R., *Talanta* 2000, 52, 573-606.
- [45] Lu, Y. W., Laurent, G., Pereira, H., *Talanta* 2004, 62, 959-970.
- [46] Petit, J., Geertsen, V., Beaucaire, C., Stambouli, M., *Journal of Chromatography A* 2009, 1216, 4113-4120.
- [47] Petit, J., Aupiais, J., Topin, S., Geertsen, V., Beaucaire, C., Stambouli, M., *Electrophoresis* 2010, 31, 355-363.
- [48] Pitois, A., Aldave de Las Heras, L., Betti, M., *International Journal of Mass Spectrometry* 2008, 270, 118-126.
- [49] Breadmore, M. C., Boyce, M., Macka, M., Avdalovic, N., Haddad, P. R., *Journal of Chromatography A* 2000, 892, 303-313.
- [50] Faure, K., Albert, M., Dugas, V., Crétier, G., Ferrigno, R., Morin, P., Rocca, J. -L., *Electrophoresis* 2008, 29, 4948-4955.
- [51] Svec, F., *Journal of Separation Science* 2005, 28, 729-745.
- [52] Zheng, M.-M., Ruan, G.-D., Feng, Y.-Q., *Journal of Chromatography A* 2009, 1216, 7739-7746.
- [53] Lämmerhofer, M., Svec, F., Fréchet, J. M. J., Lindner, W., *Journal of Chromatography A* 2001, 925, 265-277.
- [54] Hutchinson, J. P., Zakaria, P., Bowie, A. R., Macka, M., Avdalovic, N., Haddad, P. R., *Analytical Chemistry* 2004, 77, 407-416.
- [55] Zakaria, P., Hutchinson, J. P., Avdalovic, N., Liu, Y., Haddad, P. R., *Analytical Chemistry* 2004, 77, 417-423.
- [56] Kitagawa, S., Tsuji, A., Watanabe, H., Nakashima, M., Tsuda, T., *Journal of Microcolumn Separations* 1997, 9, 347-356.
- [57] Yang, W., Sun, X., Pan, T., Woolley, A. T., *Electrophoresis* 2008, 29, 3429-3435.
- [58] Collins, G. E., Lu, Q., *Analytica Chimica Acta* 2001, 436, 181-189.
- [59] Collins, G. E., Lu, Q., *Sensors and Actuators B: Chemical* 2001, 76, 244-249.

- [60] Reinhoud, N. J., Tjaden, U. R., van der Greef, J., *Journal of Chromatography A* 1993, 653, 303-312.
- [61] Church, M. N., Spear, J. D., Russo, R. E., Klunder, G. L., Grant, P. M., Andresen, B. D., *Analytical Chemistry* 1998, 70, 2475-2480.
- [62] Urbánek, M., Blechtová, L., Pospíšilová, M., Polásek, M., *Journal of Chromatography A* 2002, 958, 261-271.
- [63] Okamoto, H., Hirokawa, T., *Journal of Chromatography A* 2003, 990, 335-341.
- [64] Hirokawa, T., Okamoto, H., Gas, B., *Electrophoresis* 2003, 24, 498-504.
- [65] Kvasnicka, F., Sevcík, R., Voldrich, M., *Journal of Chromatography A* 2006, 1113, 255-258.
- [66] Kutter, J. P., Ramsey, R. S., Jacobson, S. C., Ramsey, J. M., *Journal of Microcolumn Separations* 1998, 10, 313-319.
- [67] Everaerts, F. M., Geurts, M., Mikkers, F. E. P., Verheggen, P. E. M., *Journal of Chromatography A* 1976, 119, 129-155.
- [68] Cui, H., Dutta, P., Ivory, C., F., *Electrophoresis* 2007, 28, 1138-1145.
- [69] Petr, J., Maier, V., Horáková, J., Scaronevcík, J., Stránský, Z., *Journal of Separation Science* 2006, 29, 2705-2715.
- [70] Yu, J.-W., Chou, Y., Yang, R.-J., *Electrophoresis* 2008, 29, 1048-1057.
- [71] Hruska, V., Jaros, M., Gas, B., *Electrophoresis* 2006, 27, 984-991.
- [72] Gas, B., Vacík, J., Zelenský, I., *Journal of Chromatography A* 1991, 545, 225-237.
- [73] Khurana, T. K., Santiago, J. G., *Analytical Chemistry* 2008, 80, 6300-6307.
- [74] Vlastimil, H., Bohuslav, G., *Electrophoresis* 2007, 28, 3-14.
- [75] Landers, J. P., *Handbook of Capillary Electrophoresis*, CRC Press 1992.
- [76] Mikkers, F. E. P., Everaerts, E. M., Peek, J. A. F., *Journal of Chromatography A* 1979, 168, 293-315.
- [77] Gebauer, P., Bocek, P., *Electrophoresis* 1995, 16, 1999-2007.
- [78] Gebauer, P., Bocek, P., *Journal of Chromatography A* 1985, 320, 49-65.
- [79] Everaerts, F. M., Beckers, J. L., Verheggen, P. E. M., *isotachophoresis theory, instrumentation and applications*, Elsevier, Amsterdam 1976.
- [80] Verheggen, P. E. M., Mikkers, F. E. P., Everaerts, F. M., *Journal of Chromatography A* 1977, 132, 205-215.
- [81] Reijenga, J. C., Verheggen, P. E. M., Everaerts, F. M., *Journal of Chromatography A* 1985, 328, 353-356.
- [82] Gas, B., Kenndler, E., *Electrophoresis* 2000, 21, 3888-3897.
- [83] Gas, B., Kenndler, E., *Electrophoresis* 2002, 23, 3817-3826.
- [84] Griffiths, S. K., Nilson, R. H., *Analytical Chemistry* 2000, 72, 5473-5482.
- [85] Fu, L.-M., Yang, R.-J., Lee, G.-B., *Electrophoresis* 2002, 23, 602-612.
- [86] Crabtree, H. J., Cheong, E. C. S., Tilroe, D. A., Backhouse, C. J., *Analytical Chemistry* 2001, 73, 4079-4086.
- [87] Kaniansky, D., Masár, M., Bodor, R., Zúborová, M., Ölvecká, E., Jöhnck, M., Stanislawski, B., *Electrophoresis* 2003, 24, 2208-2227.
- [88] Noblitt, S. D., Kraly, J. R., VanBuren, J. M., Hering, S. V., Collett, J. L., Henry, C. S., *Analytical Chemistry* 2007, 79, 6249-6254.
- [89] Deyl, Z., *electrophoresis a survey of techniques and applications*, Elsevier, Amsterdam 1979.
- [90] Thormann, W., Caslavská, J., Mosher, R. A., *Electrophoresis* 1995, 16, 2016-2026.
- [91] Thomann, W., *Journal of Chromatography A* 1990, 516, 211-217.
- [92] Saville, D. A., *Electrophoresis* 1990, 11, 899-902.

- [93] Reijenga, J. C., Aben, G. V. A., Verheggen, P. E. M., Everaerts, F. M., *Journal of Chromatography A* 1983, 260, 241-254.
- [94] Belder, D., Ludwig, M., *Electrophoresis* 2003, 24, 3595-3606.
- [95] Zhang, J., Das, C., Fan, Z. H., *Microfluidics and Nanofluidics* 2008, 5, 327-335.
- [96] Iki, N., Yeung, E. S., *Journal of Chromatography A* 1996, 731, 273-282.
- [97] Rathore, A. S., Horváth, C., *Journal of Chromatography A* 1996, 743, 231-246.
- [98] Ren, X., Shen, Y., Lee, M. L., *Journal of Chromatography A* 1996, 741, 115-122.
- [99] Hjertén, S., *Journal of Chromatography A* 1985, 347, 191-198.
- [100] Zhao, Z., Malik, A., Lee, M. L., *Analytical Chemistry* 1993, 65, 2747-2752.
- [101] Gilges, M., Kleemiss, M. H., Schomburg, G., *Analytical Chemistry* 1994, 66, 2038-2046.
- [102] Dolník, V., *Electrophoresis* 2004, 25, 3589-3601.
- [103] Robb, C. S., *Journal of Liquid Chromatography & Related Technologies* 2007, 30, 729 - 759.
- [104] Wu, D., Luo, Y., Zhou, X., Dai, Z., Lin, B., *Electrophoresis* 2005, 26, 211-218.
- [105] Liu, J., Lee, M. L., *Electrophoresis* 2006, 27, 3533-3546.
- [106] Belder, D., Elke, K., Husmann, H., *Journal of Microcolumn Separations* 1999, 11, 209-213.
- [107] Albarghouthi, M. N., Stein, T. M., Barron, A. E., *Electrophoresis* 2003, 24, 1166-1175.
- [108] Liu, Y., Fu, R., Gu, J., *Journal of Chromatography A* 1995, 694, 498-506.
- [109] Mao, Q., Hashimoto, Y., Manabe, Y., Ikuta, N., Nishiyama, F., Hirokawa, T., *Journal of Chromatography A* 1998, 802, 203-210.
- [110] Hirokawa, T., Hashimoto, Y., *Journal of Chromatography A* 1997, 772, 357-367.
- [111] Hirokawa, T., Xia, W., Kiso, Y., *Journal of Chromatography A* 1995, 689, 149-156.
- [112] Hirokawa, T., Kiso, Y., *Analytical Sciences* 1992, 8, 737-748.
- [113] Hirokawa, T., Aoki, N., Kiso, Y., *Journal of Chromatography A* 1984, 312, 11-29.
- [114] Nukatsuka, I., Taga, M., Yoshida, H., *Journal of Chromatography A* 1981, 205, 95-102.
- [115] Prest, J. E., Baldock, S. J., Fielden, P. R., Goddard, N. J., *et al.*, *Journal of Chromatography A* 2004, 1047, 289-298.
- [116] Stover, F. S., *Journal of Chromatography A* 1988, 445, 417-423.
- [117] Bocek, P., Gebauer, P., Deml, M., *Journal of Chromatography* 1981, 217, 209-224.
- [118] Manz, A., Graber, N., Widmer, H. M., *Sensors and Actuators B: Chemical* 1990, 1, 244-248.
- [119] Darwin, R. R., Iossifidis, D., Auroux, P. A., Manz, A., *Analytical Chemistry* 2002, 74, 2623-2636.
- [120] Björkman, H., Ericson, C., Hjertén, S., Hjort, K., *Sensors and Actuators B: Chemical* 2001, 79, 71-77.
- [121] Ishida, A., Yoshikawa, T., Natsume, M., Kamidate, T., *Journal of Chromatography A* 2006, 1132, 90-98.
- [122] Ishida, A., Natsume, M., Kamidate, T., *Journal of Chromatography A* 2008, 1213, 209-217.
- [123] Vrouwe, E. X., Luttge, R., Olthuis, W., van den Berg, A., *Journal of Chromatography A* 2006, 1102, 287-293.
- [124] Noblitt, S. D., Schwandner, F. M., Hering, S. V., Collett Jr, J. L., Henry, C. S., *Journal of Chromatography A* 2009, 1216, 1503-1510.
- [125] Ölvecká, E., Masár, M., Kaniansky, D., Jöhnck, M., Stanislawski, B., *Electrophoresis* 2001, 22, 3347-3353.
- [126] Prest, J. E., Baldock, S. J., Fielden, P. R., Goddard, N. J., Brown, B. J. T., *The Analyst* 2002, 127, 1413-1419.
- [127] Masár, M., Kaniansky, D., Bodor, R., Jöhnck, M., Stanislawski, B., *Journal of Chromatography A* 2001, 916, 167-174.

- [128] Mellors, J. S., Gorbounov, V., Ramsey, R. S., Ramsey, J. M., *Analytical Chemistry* 2008, *80*, 6881-6887.
- [129] Fu-An, L., Ju-Li, H., Guor-Rong, H., *Electrophoresis* 2008, *29*, 4938-4943.
- [130] Lin, C.-H., Lee, G.-B., Lin, Y.-H., Chang, G.-L., *Journal of Micromechanics and Microengineering* 2001, *11*, 726-732.
- [131] Kim, M.-S., Cho, S. I., Lee, K.-N., Kim, Y.-K., *Sensors and Actuators B: Chemical* 2005, *107*, 818-824.
- [132] Székely, L., Guttman, A., *Analytical Chemistry* 2005, *26*, 4590-4604.
- [133] Cheng, J.-Y., Yen, M.-H., Wei, C.-W., Chuang, Y.-C., Young, T.-H., *Journal of Micromechanics and Microengineering* 2005, *15*, 1147.
- [134] Kawaguchi, Y., Sato, T., Narazaki, A., Kurosaki, R., Niino, H., *Journal of Photochemistry and Photobiology A: Chemistry* 2006, *182*, 319-324.
- [135] Solignac, D., Sayah, A., Constantin, S., Freitag, R., Gijs, M. A. M., *Sensors and Actuators A: Physical* 2001, *92*, 388-393.
- [136] Attia, U. M., Marson, S., Alcock, J. R., *Microfluidics and Nanofluidics* 2009, *7*, 1-28.
- [137] Nunes, P. S., Ohlsson, P. D., Ordeig, O., Kutter, J. P., *Microfluidics and Nanofluidics* 2010, *9*, 145-161.
- [138] Hwang, S.-J., Tseng, M.-C., Shu, J.-R., Yu, H. H., *Surface and Coatings Technology* 2008, *202*, 3669-3674.
- [139] Nilsson, D., Balslev, S., Kristensen, A., *Journal of Micromechanics and Microengineering* 2005, *15*, 296.
- [140] Young Shin, J., Yong Park, J., Liu, C., He, J., Kim, S. C., *Pure and Applied Chemistry* 2005, *77*, 801-814.
- [141] Fredrickson, C. K., Xia, Z., Das, C., Ferguson, R., Tavares, F. T., Fan, Z. H., *Journal of Microelectromechanical Systems* 2006, *15*, 1060-1068.
- [142] Shadpour, H., Musyimi, H., Chen, J., Soper, S. A., *18th International Symposium on MicroScale Bioseparations* 2006, *1111*, 238-251.
- [143] Liu, C., Li, J. M., Liu, J. S., Wang, L. D., *Microelectronic Engineering* 2010, *87*, 200-207.
- [144] Becker, H., Heim, U., *Sensors and Actuators A: Physical* 2000, *83*, 130-135.
- [145] Locascio, L. E., Ross, D. J., Howell, P. B., Gaitan, M., *Microchip Capillary Electrophoresis* 2006, pp. 37-46.
- [146] Tsao, C.-W., DeVoe, D. L., *Microfluidics and Nanofluidics* 2009, *6*, 1-16.
- [147] Nikcevic, I., Lee, S. H., Piruska, A., Ahn, C. H., Ridgway, T. H., Limbach, P. A., Wehmeyer, K. R., Heineman, W. R., Seliskar, C. J., *Journal of Chromatography A* 2007, *1154*, 444-453.
- [148] Blas, M., Delaunay, N., Ferrigno, R., Rocca, J.-L., *Electrophoresis* 2007, *28*, 2961-2970.
- [149] Lin, C.-C., Chen, C.-C., Lin, C.-E., Chen, S.-H., *Journal of Chromatography A* 2004, *1051*, 69-74.
- [150] Chen, S.-H., Lin, Y.-H., Wang, L.-Y., Lin, C.-C., Lee, G.-B., *Analytical Chemistry* 2002, *74*, 5146-5153.
- [151] Kirby, B. J., Shepodd, T. J., Hasselbrink, E. F., *Journal of Chromatography A* 2002, *979*, 147-154.
- [152] Kaniansky, D., Marák, J., Masár, M., Iványi, F., Madajová, V., Simunicová, E., Zelenská, V., *Journal of Chromatography A* 1997, *772*, 103-114.
- [153] Erickson, D., Sinton, D., Li, D., *Lab on a Chip* 2003, *3*, 141-149.
- [154] Zhang, Y., Bao, N., Yu, X.-D., Xu, J.-J., Chen, H.-Y., *Journal of Chromatography A* 2004, *1057*, 247-251.
- [155] Mela, P., Berg, A. v. d., Fintschenko, Y., Cummings, E. B., *et al.*, *Electrophoresis* 2005, *26*, 1792-1799.

- [156] Beattie, J. K., *Lab on a Chip* 2006, 6, 1409-1411.
- [157] Kirby, B., J., Hasselbrink Jr., E., F., *Electrophoresis* 2004, 25, 203-213.
- [158] Chabiny, M. L., Chiu, D. T., McDonald, J. C., Stroock, A. D., Christian, J. F., Karger, A. M. Whitesides, G. M., *Analytical Chemistry* 2001, 73, 4491-4498.
- [159] Chen, C., Hahn, J. H., *Analytical Chemistry* 2007, 79, 7182-7186.
- [160] Gas, B., Demjanenko, M., Vacík, J., *Journal of Chromatography A* 1980, 192, 253-257.
- [161] Zemmann, A. J., Schnell, E., Volgger, D., Bonn, G. K., *Analytical Chemistry* 1998, 70, 563-567.
- [162] Olesik, J. W., Kinzer, J. A., Olesik, S. V., *Analytical Chemistry* 1995, 67, 1-12.
- [163] Prange, A., Schaumlöffel, D., *Analytical and Bioanalytical Chemistry* 2002, 373, 441-453.
- [164] Hui, A. Y. N., Wang, G., Lin, B., Chan, W.-T., *Journal of Analytical Atomic Spectrometry* 2006, 21, 134-140.
- [165] Giné, M. F., Gervasio, A. P. G., Lavorante, A. F., Miranda, C. E. S., Carrilho, E., *Journal of Analytical Atomic Spectrometry* 2002, 17, 736-738.
- [166] Dubois, J. C., Retali, G., Cesario, J., *International Journal of Mass Spectrometry and Ion Processes* 1992, 120, 163-177.
- [167] Chartier, F., Aubert, M., Pilier, M., *Fresenius' Journal of Analytical Chemistry* 1999, 364, 320-327.
- [168] Spesny, M., Foret, F., *Electrophoresis* 2003, 24, 3745-3747.
- [169] Blankenstein, G., Larsen, U. D., *Biosensors and Bioelectronics* 1998, 13, 427-438.
- [170] Lee, G.-B., Hwei, B.-H., Huang, G.-R., *Journal of Micromechanics and Microengineering* 2001, 11, 654-661.
- [171] Lee, G.-B., Hung, C.-I., Ke, B.-J., Huang, G.-R., Hwei, B.-H., *Journal of Micromechanics and Microengineering* 2001, 11, 567-573.
- [172] Rodriguez-Trujillo, R., Mills, C. A., Samitier, J., Gomila, G., *Microfluidics and Nanofluidics* 2007, 3, 171-176.
- [173] Lee, G.-B., Hung, C.-I., Ke, B.-J., Huang, G.-R., Hwei, B. -H., Lai, H. -F., *Journal of Fluids Engineering* 2001, 123, 672-679.
- [174] Fu, L.-M., Yang, R.-J., Lin, C.-H., Pan, Y.-J., Lee, G.-B., *analytica Chimica Acta* 2004, 507, 163-169.
- [175] Baker, C. A., Roper, M. G., *Journal of Chromatography A* 2010, 1217, 4743-4748.
- [176] Filer, C. N., Fazio, R., Ahern, D. G., *The Journal of Organic Chemistry* 1981, 46, 3344-3346.
- [177] Günther-Leopold, I., Wernli, B., Kopajtic, Z., Günther, D., *Analytical and Bioanalytical Chemistry* 2004, 378, 241-249.
- [178] Wehmeier, S., Ellam, R. M., Feldmann, J., *Journal of Analytical Atomic Spectrometry* 2003, 18, 1001-1007.
- [179] Krupp, E. M., Donard, O. F. X., *International Journal of Mass Spectrometry* 2005, 242, 233-242.
- [180] Peterson, Z. D., Bowerbank, C. R., Collins, D. C., Graves, S. W., Lee, M. L., *Journal of Chromatography A* 2003, 992, 169-179.

## **chapitre 2 Conception et application d'un système d'électrolytes pour la séparation isotachophorétique des produits de fission**

### **2.1 Contraintes à prendre en compte dans la définition du système d'électrolytes de séparation**

La séparation des lanthanides intervient au centre d'un processus analytique composé de trois étapes distinctes. Le protocole de séparation doit respecter les conditions opératoires de chacune des phases du processus d'analyse. Si la phase de séparation amont sur colonne ouverte en trois fractions U-Pu-PF n'implique pas de restrictions majeures, la mesure des rapports isotopiques en aval par TIMS ou ICP-MS est beaucoup plus contraignante.

Les interdictions touchent principalement la mise en oeuvre de molécules très stables qui ne peuvent être dégradées thermiquement ou chimiquement. Les composés aromatiques sont ainsi exclus des protocoles de séparation, de même que les composés de hauts poids moléculaires comme les polymères. Les sels alcalins ou alcalinoterreux sont également écartés en raison de leur faible potentiel d'ionisation qui tend à réduire l'énergie disponible et transmise par la source d'ionisation aux analytes d'intérêt. Présents en grande quantité dans les électrolytes, ces composés sont également susceptibles de provoquer une obstruction des cônes d'extraction des spectromètres ICP-MS ou des effets de matrice en TIMS. Le protocole proposé se doit également de satisfaire au principe CHON qui est largement appliqué dans le domaine du nucléaire et qui prévoit l'utilisation de molécules organiques exclusivement composées d'atomes de Carbone, d'Hydrogène, d'Oxygène et d'Azote. Cette recommandation est destinée à faciliter les phases de recyclage des déchets contaminés et à limiter l'augmentation de déchets plus ou moins actifs [1].

L'élaboration des électrolytes de séparation doit se dérouler en deux phases indépendantes. La première consiste à évaluer l'influence de la complexation, dont l'action se répercute comme précédemment évoqué, sur la sélectivité intra période des lanthanides. Pour ce faire, une étude est menée sur deux complexants distinctement identifiés comme vecteur de sélectivité intra période des lanthanides et répondant à l'ensemble des recommandations techniques précédemment citées. Ces composés sont :

- L'HIBA, complexant plébiscité dans la littérature pour la séparation des cations inorganiques depuis son introduction par Choppin en 1956.
- L'HMBA, composé dont la capacité de complexation des lanthanides est avérée en chromatographie ionique [2], mais dont l'utilisation reste minoritaire dans la littérature [3, 4]. Son action est cependant remarquable dans la séparation des lanthanides en présence d'Am et de Cm [5].

Dans un second temps, les conditions optimales de complexation sont utilisées pour formuler la composition de l'électrolyte leader et définir la nature de l'électrolyte terminal ainsi que vérifier les capacités de séparation du système ITP dans son ensemble.

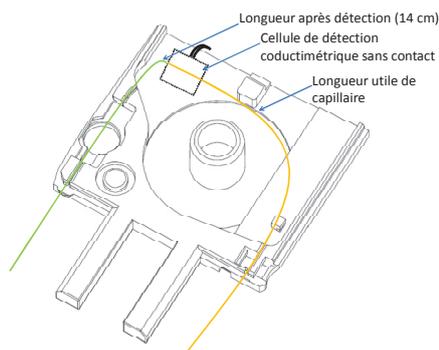
## 2.2 Matériels et méthodes

### 2.2.1 Dispositif de séparation

L'étude de la variation des mobilités électrophorétiques des lanthanides en présence d'agent complexant est envisageable par ITP, mais l'accès aux paramètres de migration nécessite un traitement des données particulier. L'utilisation d'un agent terminal est de plus indispensable, ce qui oblige à optimiser plusieurs paramètres simultanément. Afin de simplifier la démarche expérimentale, les mesures sont effectuées par électrophorèse capillaire de zone avec l'appareil HP3D (Agilent technologies, Waldbronn, Allemagne). Cet appareil dispose d'un générateur électrique paramétrable en tension (gamme comprise entre -30 et +30 kV) ou en intensité (gamme comprise entre -100 et +100  $\mu$ A), ce qui lui permet d'être utilisé à la fois pour des séparations en électrophorèse ou en isotachophorèse. Un dispositif de cassette permet l'utilisation de capillaire de longueur diverse et de diamètre externe limité à 360  $\mu$ m. Le capillaire est thermostaté à l'intérieur de la cassette par circulation d'air. Les capillaires utilisés sont de type silice vierge et de diamètre interne de 75  $\mu$ m (Cluzeau info labo, Sainte Foy la Grande, France).

### 2.2.2 La détection

La détection est réalisée avec un détecteur conductimétrique sans contact Tracedec (Innovative Sensor Technologies GmbH, Strasshof, Autriche). Le capteur est placé dans la cassette thermostatée à 14 cm avant l'extrémité de sortie du capillaire de séparation. La longueur de séparation ou longueur utile du capillaire,  $l$ , est inférieure à la longueur totale,  $L$ , de ce dernier. La Figure 2-1 permet de visualiser clairement la disposition du capillaire de séparation ainsi que le positionnement du module de détection.



**Figure 2-1 : schéma du dispositif de séparation.**

Ce mode de détection sensible à la variation de conductivité offre la possibilité de détecter les lanthanides sans avoir recours à l'ajout de visualisant additionnel. La détection se faisant au travers de la gaine de polyimide du capillaire, la fabrication d'une fenêtre de détection n'est plus nécessaire, ce qui permet de préserver la résistance mécanique du capillaire et donc sa longévité. Les réglages du détecteur sont rassemblés dans le Tableau 2.1.

**Tableau 2-1 : Résumé des réglages du détecteur selon le type de séparation.**

Paramètre	Electrophorèse	Isotachophorèse
Fréquence capteur <sup>1</sup>	2*HIGH	2*HIGH
atténuation	-12dB	-18dB
gain	75%	100%
offset	000	020
Fréquence d'acquisition	19,80 Hz	5,47 Hz

<sup>1</sup> dénomination constructeur afin de quantifier la fréquence d'échantillonnage du capteur C4D, aucune caractéristique complémentaire n'est mentionnée.

### 2.2.3 Préparation des standards en lanthanides et produits chimiques

Les échantillons de lanthanides sont préparés à partir de solutions commerciales Certiprex mono élémentaires (Fisher Scientific Bioblock, Longjumeau, France). Selon l'élément, leur concentration est de 1000 ou 10000 ppm. Une forte concentration en acide nitrique (5%) assure le maintien des lanthanides en solution. Afin d'éviter toute modification de la complexation par des inhomogénéités de pH entre la zone échantillon et les électrolytes de séparation, les solutions commerciales de standards sont portées à sec à une température de 90°C et reprises à volume équivalent avec de l'eau ultra pure provenant d'un système Elga UHQII (Veolia Water, Antony, France) et ceci deux fois consécutivement. Les échantillons obtenus sont finalement utilisés pour confectionner par dilution des mélanges d'éléments de composition et de concentrations choisies.

Les produits entrant dans la composition des électrolytes de séparation et autres solutés ont été obtenus auprès d'un seul fournisseur (Sigma Aldrich, Isle d'Abeau, France) : acide acétique (100%), acétate d'ammonium (99%), HIBA (99%), HMBA (98%), ammoniacque (28% en solution dans l'eau à 99.99%), thiourée (99%), hydrochlorure de carnitine et l'hydroxyde de tétrabutylammonium (99%).

## 2.3 Définition des conditions expérimentales

### 2.3.1 Principe de mesure des mobilités électrophorétiques par électrophorèse

Comme défini dans le chapitre 1, les lanthanides forment des complexes labiles avec les ligands en solution. Ces composés subsistent en solution au travers d'un équilibre dynamique de formation-dissociation ininterrompu. L'analyse d'un lanthanide particulier en électrophorèse capillaire de zone produit un seul pic dont la vitesse de migration  $v_{i,mig}$  dépend de la répartition des différentes formes complexées, de leur proportion en solution et de leur mobilité selon l'équation 1-7. Le temps de migration ( $t_{i,mig}$ ) correspondant à l'élution de l'élément cible pour une longueur utile de capillaire ( $l$ ) renseigne sur la valeur de la mobilité apparente de migration ( $\mu_{i,mig} = \mu_{i,ep} + \mu_{eo}$ ) connaissant la valeur du champ électrique  $E$ . L'application des équations 1-1, 1-2 et 1-3 conduit à :

$$v_{i,mig} = \frac{l}{t_{i,mig}} = (\mu_{i,ef} + \mu_{eo}) \frac{U}{L} \quad \text{Eq. 2-1}$$

Seule la mobilité électrophorétique procure des informations sur la complexation des lanthanides, l'écoulement électroosmotique étant mesuré par l'ajout d'un marqueur (thiouré) dans les échantillons. Soit  $t_{eo}$  son temps de migration. Les équations 1-2 et 1-9 permettent alors de calculer la mobilité électroosmotique :

$$\mu_{eo} = \frac{Ll}{Ut_{eo}} \quad \text{Eq. 2-2}$$

La combinaison des équations 2-1 et 2-2 permet enfin la détermination de la mobilité électrophorétique de chaque lanthanide :

$$\mu_{i,ef} = \frac{Ll}{U} \left( \frac{1}{t_{i,mig}} - \frac{1}{t_{eo}} \right) v_{i,mig} \quad \text{Eq. 2-3}$$

### 2.3.2 La valeur du champ électrique

La relation entre la différence de potentiel imposée aux bornes du capillaire  $U$  et l'intensité du courant électrique  $I$  est, selon la loi d'Ohm, fonction de la résistance électrique  $R$  :

$$U = RI \quad \text{Eq. 2-4}$$

Cette relation est respectée tant que R est constant, c'est-à-dire que la température au sein du capillaire ne varie pas. Celle-ci est maintenue constante, mais la puissance dissipée par unité de longueur peut entraîner un non respect de la loi d'Ohm. Si l'échauffement thermique est important, R diminue et la répétabilité devient faible. Il convient donc de choisir une tension de travail dans la gamme de linéarité de la loi d'Ohm.

### 2.3.3 Conditions d'injection

En CZE, le volume injecté et la concentration de l'échantillon induisent respectivement une perte d'efficacité et une irrégularité de champ électrique. Afin de d'éviter ce premier phénomène, une norme arbitraire prévoit de limiter le volume d'injection à 1% du volume utile du capillaire [6]. Par contre, en ITP, le volume d'injection est généralement élevé mais théoriquement sans influence. Dans les expériences d'ITP de ce chapitre, le volume d'injection est arbitrairement fixé à 15% du volume utile du capillaire. Les échantillons sont introduits hydrodynamiquement dans le capillaire de séparation. La loi de Poiseuille permet le calcul du temps d'injection  $t_{inj}$  selon la relation :

$$t_{inj} = \frac{128\eta L V_{inj}}{\pi d^4 \Delta P} \quad \text{Eq. 2-5}$$

où  $V_{inj}$  est le volume d'injection désiré,  $\Delta P$  est la différence de pression appliquée,  $d$  est le diamètre interne du capillaire et  $\eta$  est la viscosité de l'échantillon approximée à celle de l'eau pure.

### 2.3.4 Conditionnement du capillaire

Entre chaque changement d'électrolyte, le capillaire subit un cycle de rinçage avec plusieurs solutions sous une pression de 1 bar. Le but de ce protocole est de garantir le renouvellement de la chimie de surface du capillaire et de l'équilibrer avec le nouvel électrolyte. En CZE, ce cycle comprend un rinçage de 10 min par de la soude à 0.1 mol/L, puis un rinçage de 10 min à l'eau ultra pure et enfin une mise en équilibre du capillaire avec l'électrolyte de séparation pendant 30 min. En ITP, le capillaire est seulement conditionné pendant 30 min avec l'électrolyte leader.

### 2.3.5 Conditions expérimentales de séparation

Le tableau 2-2 résume les différentes conditions expérimentales utilisées pour définir la composition optimale de l'électrolyte leader par CZE et séparer les lanthanides par ITP

**Tableau 2-2 : résumé des conditions expérimentales de séparation.**

	Electrophorèse	Isotachophorèse	
		capillaire 1	capillaire 2
<b>capillaire de silice vierge</b>			
I.D	75 µm	75 µm	75 µm
L	54 cm	130 cm	58 cm
l	40 cm	116 cm	44 cm
vinj	18 nL	1 µL	0,3 µL
<b>réglage générateur</b>	+ 18 kV	9 µA	5 µA
<b>conditionnement du capillaire sous 1 bar</b>		30 min électrolyte leader	
	10 min NaOH 0,1M		
	10 min H <sub>2</sub> O		
	30 min électrolyte		

## 2.4 Formulation de l'électrolyte leader

### 2.4.1 Définition du domaine d'étude

D'après les informations extraites de la littérature, l'utilisation de l'HIBA garantit la séparation des lanthanides en ITP. Le protocole de chromatographie ionique actuellement en vigueur au CEA fait quand à lui appel à l'HMBA. Ces deux complexants sont des homologues, ils sont donc tous deux compatibles avec l'ensemble du protocole d'analyse et avec les exigences de retraitement des déchets. Une comparaison de la mise en oeuvre de ces deux complexants en ITP est indispensable, d'autant que chacun d'eux dispose d'un comportement complexant particulier vis-à-vis des lanthanides, comme le montre l'évolution des constantes de formation consignées dans la Figure 2-2.

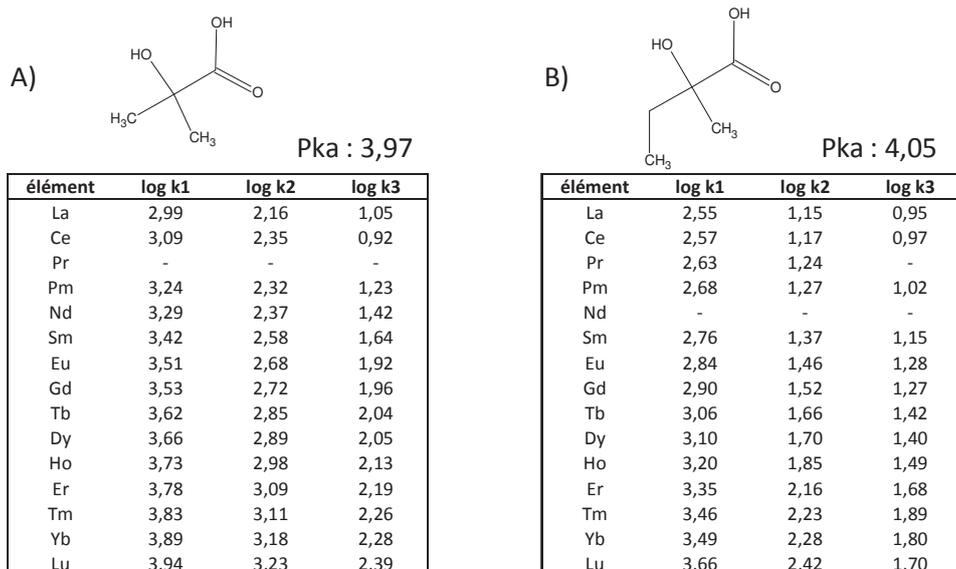


Figure 2-2 : Constantes de formation des complexes 1:1 (log k1), 1:2 (log k2) et 1:3 (log k3) des lanthanides avec l'agent chélatant (A) acide 2 hydroxyisobutyrique (HIBA) [7], (B) acide 2-hydroxy-2-méthylbutyrique (HMBA) [8].

Ces données permettent de calculer la prédominance des espèces complexées en fonction de la concentration en agent complexant et du pH (détail des calculs en annexe I). S'agissant d'acides faibles, leur dissociation en forme chargée chélatante dépend en effet du pH du milieu. La figure 2-3 présente la prédominance des formes complexées métal-(n)ligands en fonction de ces différents paramètres pour un soluté de milieu de période (Gd). Dans un premier temps (Figure 2-3 A), le pH a été fixé à une valeur de 5 pour apprécier l'effet de la concentration sur la répartition des formes complexées. Dans un second temps (Figure 2-3 B), l'influence du pH est observée pour une concentration constante, identique pour les deux chélatants et égale à  $10 \cdot 10^{-3}$  mol/L.

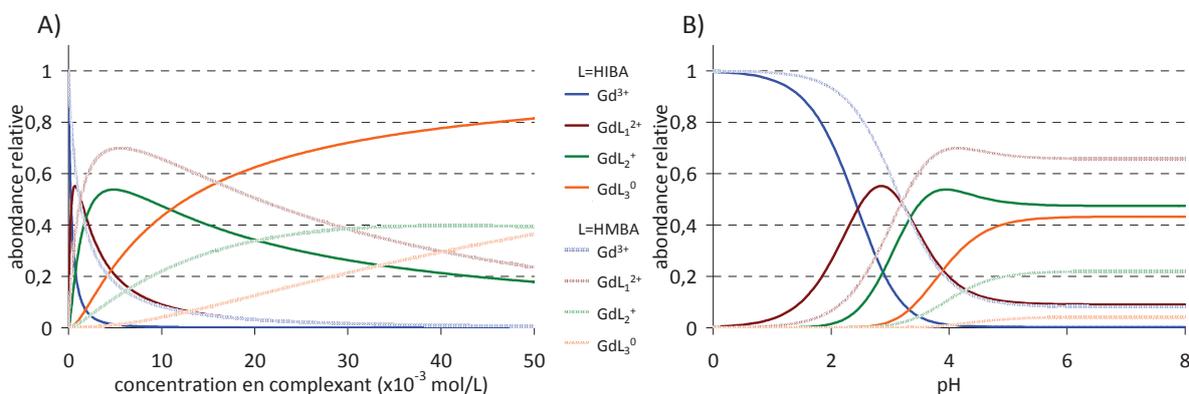


Figure 2-3 : diagramme de prédominance des formes du Gd complexé : A) pH fixé à 5, B) concentration en complexant fixée à  $10 \cdot 10^{-3}$  mol/L.

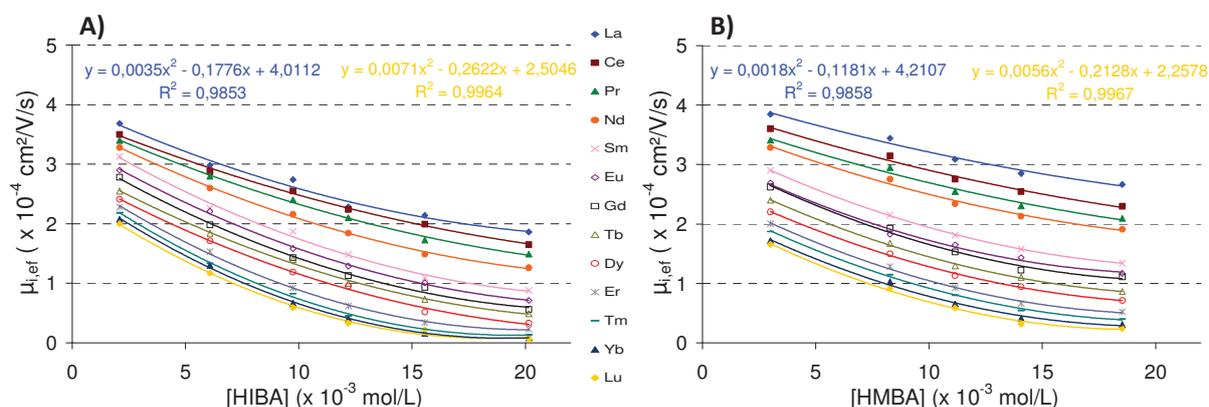
Comme le montre la figure 2-3, la répartition des formes complexées change fortement pour chacun

des deux agents. Chaque composé métal-(n)ligands disposant d'une mobilité électrophorétique qui lui est propre, ces différences d'abondance induisent la sélectivité entre les éléments. La connaissance des mobilités électrophorétiques des formes complexées devrait donc permettre l'optimisation de la séparation des lanthanides. Les valeurs de ces grandeurs trouvées dans la littérature sont assez fluctuantes et des corrections s'imposent en fonction de la force ionique du milieu et de la température. L'optimisation de la composition de l'électrolyte leader implique donc d'étudier la complexation des lanthanides dans les conditions réelles de séparation. D'après la Figure 2-3 A, les variations de complexation à pH 5 sont majoritairement localisées pour les faibles concentrations en agent complexant, ce qui limite la zone d'étude à une gamme de concentration comprise entre 0 et  $30 \cdot 10^{-3}$  mol/L.

Lors de la séparation, le pH doit être maintenu à un niveau précis et ceci par un agent tampon. La zone d'étude de la complexation des lanthanides doit se limiter à la gamme de pH induisant des variations de complexation. En présence d'un acide faible, les variations les plus significatives se situent entre  $\pm 2$  unités pH autour du pKa de l'agent complexant [9]. Malgré cela, la zone d'étude a été limitée à l'intervalle [4 ; 5,5]. Seule la forme déprotonnée du complexant participe à la formation de complexes. A des pH plus faibles, la forme protonnée de l'agent complexant devient majoritaire, le maintien de la complexation impose d'augmenter la concentration en agent complexant et donc le taux de carbone dans les électrolytes, ce qui ne satisfait plus au principe de la mesure isotopique. A des pH plus élevés, les lanthanides les plus lourds précipitent sous la forme d'hydroxydes [10] (par exemple,  $\text{Lu}(\text{OH})_3$  précipite à pH = 5.7). La fixation du pH doit cependant être réalisée par des composés inertes chimiquement vis-à-vis des lanthanides. Les tampons non complexants de Wood [11] permettent uniquement de couvrir une gamme de pH comprise entre 6 et 8. Leur utilisation ne convient donc pas pour la gamme de pH fixée par l'étude. Afin de pouvoir couvrir la gamme de pH sélectionnée, l'acide acétique a été retenu comme agent tampon et ceci malgré son caractère complexant. Son affinité avec les lanthanides est homogène le long de la période. En solution dans l'électrolyte de séparation, il intervient par conséquent comme un agent complexant secondaire des lanthanides, mais les variations de mobilité électrophorétique enregistrées peuvent être attribuées à la seule présence des agents complexants primaires HIBA ou HMBA. Dans ces conditions, la concentration en acide acétique est fixée à environ  $10 \cdot 10^{-3}$  mol/L et le pH ajusté par de l'ammoniaque concentré servant également d'ion leader.

## 2.4.2 Comparaison des agents complexants et définition des conditions optimales de complexation par CZE

Cette comparaison impose de mesurer les mobilités électrophorétiques des lanthanides en présence de chacun des deux agents complexants pour différents pH. La Figure 2-4 présente les résultats obtenus pour un pH de 4,5 selon les conditions précédemment évoquées.

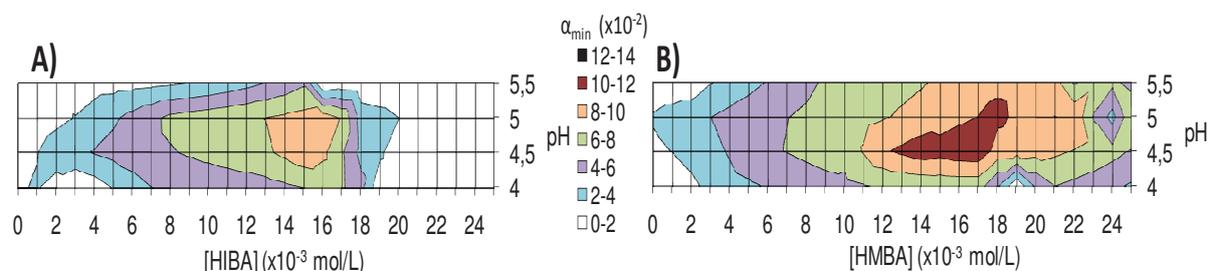


**Figure 2-4 : variation des mobilités électrophorétiques des lanthanides à pH 4,5 pour deux agents complexants : A) HIBA, B) HMBA.**

Ces variations de la mobilité électrophorétique des lanthanides avec la concentration en agent complexant mettent en évidence deux phénomènes. Premièrement, la contraction des lanthanides qui se manifeste par un ordre de migration fonction de leur numéro atomique et invariant quelle que soit la concentration en agent complexant : les éléments les plus lourds et de rayon ionique les plus faibles sont les plus ralentis par la complexation. Deuxièmement, une augmentation de la concentration en agent complexant génère une diminution progressive de la mobilité électrophorétique des lanthanides, ce qui implique un déplacement de l'équilibre en solution vers les complexes d'ordre supérieur, de charge nette moindre et donc de mobilité réduite. Si ces observations s'appliquent conjointement aux deux complexants étudiés, une différence apparaît. En présence d'HIBA, la mobilité électrophorétique des éléments les plus lourds tend vers zéro tandis que, dans le cas de l'HMBA, la diminution des mobilités semble plus homogène le long de la période. Seule la longueur de la chaîne alkyle en alpha de la fonction acide différencie ces deux complexants. Un encombrement stérique dû à la chaîne alkyle pourrait donc expliquer cette baisse de réactivité le long de la période. Cette observation est également soutenue par la diminution des constantes de complexation entre l'acide lactique, l'HIBA et l'HMBA [12], trois composés homologues présentant une chaîne alkyle de longueur croissante sur le carbone portant le groupement hydroxyle. Ces différences de réactivité sont intéressantes car plus le comportement des complexants diffère, plus les sélectivités en ITP risquent d'être importantes.

Les mesures expérimentales des mobilités électrophorétiques des lanthanides ont été réalisées à différents pH (4 ; 4,5 ; 5 ; et 5,5). A chaque pH, les variations de mobilités obtenues sont modélisées par régression quadratique [13, 14]. Des exemples de ces modèles ainsi que leur coefficient de corrélation sont donnés sur la Figure 2-4 pour chacun de deux complexants et pour les deux éléments extrêmes de la période.

En ITP, la comparaison de l'efficacité de séparation des complexants se résume à définir lequel des deux agents procure la sélectivité minimale la plus élevée et dans quelles conditions. Les équations de lissage mentionnées permettent ainsi d'extrapoler les mobilités électrophorétiques de chaque élément et donc de calculer la sélectivité  $\alpha$  entre chaque couple d'éléments (selon l'équation 1-32) ceci, pour toute valeur de la concentration en agent complexant et pour chacun des pH de travail. Ces données permettent alors de déterminer la sélectivité minimale ( $\alpha_{\min}$ ) pour tous les couples concentration en complexant – pH. Ses variations sont représentées sur la Figure 2-5 pour chacun des complexants.

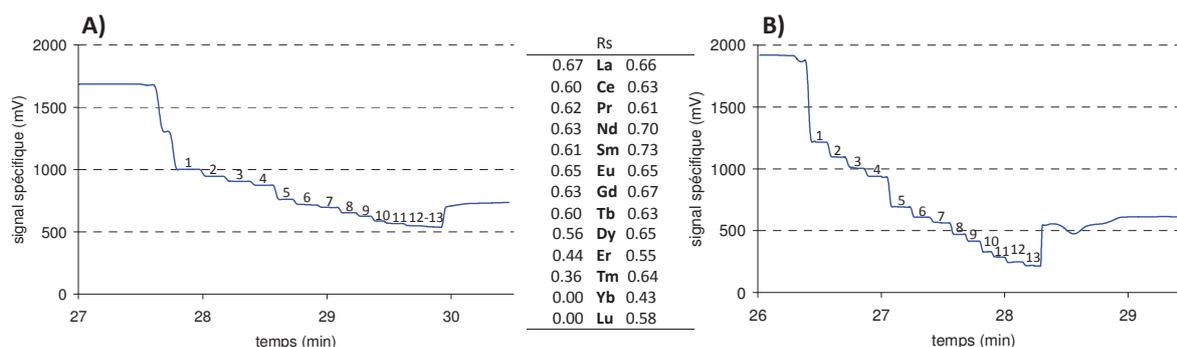


**Figure 2-5 : variation de la sélectivité minimale  $\alpha_{\min}$  entre les lanthanides pour deux complexants : A) HIBA, B) HMBA.**

Avec l'HIBA, les conditions optimales de complexation sont obtenues pour des concentrations en agent complexant comprises entre 13 et 17.10<sup>-3</sup> mol/L et à un pH compris entre 4.3 et 5,2 ; elles conduisent à une sélectivité minimale de 8 à 10.10<sup>-2</sup>. Avec l'HMBA, les conditions optimales de complexation sont proches ; cependant la sélectivité minimale obtenue est 20% plus élevée (10 à 12.10<sup>-2</sup>). Pour la séparation ITP des lanthanides, l'HMBA semble donc plus favorable que l'HIBA. L'étendue de la zone du maximum de sélectivité minimale avec l'HMBA procure également une robustesse dans la préparation de l'électrolyte leader ; cependant, afin de minimiser la présence d'agent complexant dans l'électrolyte, sa concentration est fixée à 14.10<sup>-3</sup> mol/L pour un pH de 4.5 sous tampon d'acide acétique à 10.10<sup>-3</sup> mol/L.

## 2.4.3 Comparaison des agents complexants pour la séparation des lanthanides par ITP

Afin de comparer les complexants dans les conditions de séparation ITP, l'analyse de 13 lanthanides est réalisée en utilisant les compositions optimales des électrolytes leaders précédemment formulées (Figure 2-6). Le choix de l'électrolyte terminal utilisé fera l'objet d'une discussion ultérieure.



**Figure 2-6 : comparaison des isotachoporégrammes de 13 lanthanides dans les conditions optimales pour chacun des agents complexants. Electrolyte leader : acide acétique  $10 \cdot 10^{-3}$  mol/L, (A) HIBA  $14 \cdot 10^{-3}$  mol/L, (B) HMBA  $14 \cdot 10^{-3}$  mol/L, pH 4,5 ajusté par de l'ammoniaque. Electrolyte terminal : acide acétique  $15 \cdot 10^{-3}$  mol/L. Concentration des lanthanides : 100 mg/L. Séparation sur système de capillaire 1. Solutés : 1 La, 2 Ce, 3 Pr, 4 Nd, 5 Sm, 6 Eu, 7 Gd, 8 Tb, 9 Dy, 10 Er, 11 Tm, 12 Yb, 13 Lu. Les conditions de détection sont disponibles en tableau 2-1.**

Les deux agents complexants, HIBA et HMBA, sont des composés homologues et leurs conditions optimales de complexation des lanthanides sont proches. Ainsi, bien que la force ionique entre les deux électrolytes leaders ne soit pas ajustée de la même façon, pour ne pas modifier le contenu ionique du capillaire, les écoulements électroosmotiques restent comparables comme le montre la faible différence des temps d'analyse de même que la durée d'élution des bandes dans un laps de temps approximativement égale. La comparaison de la séparation des lanthanides par ITP avec chacun des complexants doit être faite sur la base de la résolution  $R_s$  calculée pour chaque élément (d'après l'équation 1-30). La détermination expérimentale de cette résolution à partir de l'isotachoporégramme visualisée par conductimétrie, sera explicitée en détails dans le chapitre 3. Comprise entre 0 et 1, la valeur de  $R_s$  correspond au rapport entre la quantité purifiée de soluté au sein d'un plateau et la quantité injectée. Bien que les niveaux de résolution obtenus avec l'HIBA soient appréciables, ceux obtenus avec l'HMBA sont de toute évidence supérieurs : l'HMBA conduit à une résolution moyenne de 63% pour l'ensemble de la période tandis qu'avec l'HIBA, on n'atteint que 55% et sans parvenir à séparer le couple Yb/Lu. Ce manque de séparation entre Yb et Lu ne remet pas pour autant en cause le principe d'optimisation des électrolytes : cela signifie uniquement que la géométrie du système, et notamment la longueur de séparation, n'est pas suffisante pour

satisfaire au critère de séparation de ces deux éléments complexés en présence d'HIBA. En effet, les niveaux de sélectivités entre HIBA et HMBA étant différents, la longueur de séparation nécessaire avec l'HMBA est certainement inférieure à celle nécessaire avec l'HIBA.

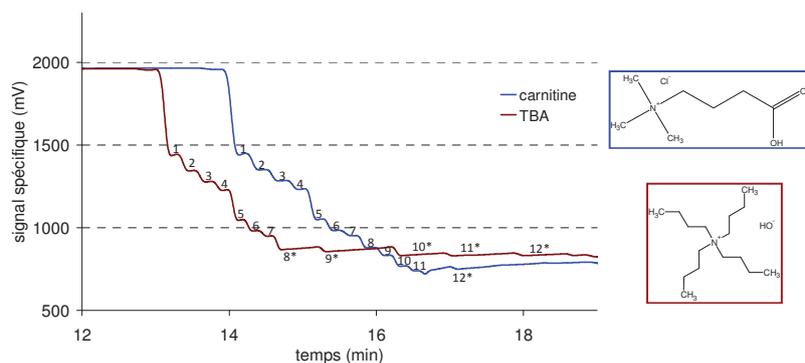
## 2.5 Définition de l'électrolyte terminal :

### 2.5.1 Electrolyte terminal et dépendance au pH

La complexation réduit la mobilité électrophorétique des lanthanides à des niveaux très faibles. Afin de satisfaire au principe de fonctionnement de l'ITP, il est indispensable de choisir un électrolyte terminal de mobilité électrophorétique inférieure à la mobilité du dernier lanthanide complexé. Pour la séparation des lanthanides par ITP, un acide aminé est souvent utilisé comme ion terminal [15, 16]. C'est un composé zwitterionique : il présente simultanément une charge cationique et une charge anionique. Sa charge nette et par conséquent la valeur de sa mobilité électrophorétique sont fonction de son point isoélectrique (pH<sub>iso</sub>) et du pH du milieu. Le point isoélectrique de l'acide aminé correspond à la moyenne des constantes de dissociation de la fonction acide (pK<sub>a</sub>) et de la fonction basique (pK<sub>b</sub>). Trois cas sont possibles :

- pH < pH<sub>iso</sub> : sa charge nette est cationique
- pH = pH<sub>iso</sub> : sa charge nette est neutre
- pH > pH<sub>iso</sub> : sa charge nette est anionique

Une très légère variation de pH lors de la préparation de l'électrolyte ou lors de la séparation, entraîne une profonde modification de la mobilité de l'acide aminé. Lors de la séparation, l'agent tampon et l'agent complexant migrent en sens inverse de la séparation et finissent par entrer en contact avec l'acide aminé qui sert d'ion terminal, ce qui peut modifier progressivement le pH de l'électrolyte terminal et limiter la répétabilité des analyses. Afin de réduire cette dépendance au pH, deux composés ont été testés comme électrolyte terminal et ceci à une concentration similaire de  $10 \cdot 10^{-3}$  mol/L (Figure 2-7). Le premier, l'hydrochlorure de carnitine, est un acide aminé particulier présentant une fonction acide (pK<sub>a</sub> = 3.8) et un groupement amine quaternaire. Sa mobilité principalement cationique est abaissée par la dissociation de sa fonction acide et peut devenir nulle pour une dissociation totale à un pH supérieur à 6. Le second, le tétrabutyle ammonium, est une amine quaternaire à longues chaînes carbonés. Sa mobilité est indépendante du pH mais elle reste faible en raison de son coefficient de diffusion réduit. La capacité de chacun de ces composés comme ion terminal a été testée pour la séparation ITP des 13 lanthanides, avec l'électrolyte leader de composition précédemment optimisée.



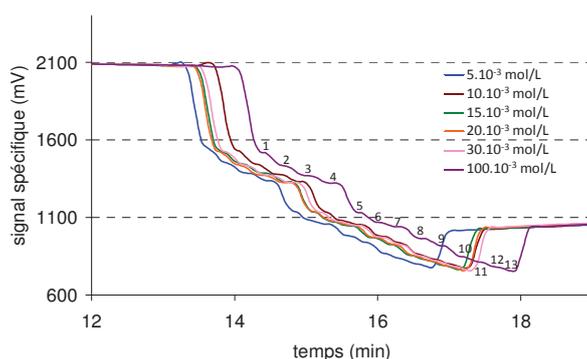
**Figure 2-7 : séparation ITP de 13 lanthanides (100 mg/L) sur système capillaire 2. Electrolyte leader : [HMBA]  $14 \cdot 10^{-3}$  mol/L, acide acétique  $10 \cdot 10^{-3}$  mol/L, pH 4,5 ajusté par de l'ammoniaque. Solutés : 1 La, 2 Ce, 3 Pr, 4 Nd, 5 Sm, 6 Eu, 7 Gd, 8 Tb, 9 Dy, 10 Er, 11 Tm, 12 Yb, 13 Lu (non visible). X\* correspond à l'élément X migrant dans l'électrolyte terminal sous un régime d'électrophorèse. Conditions de détection disponibles en tableau 2-1.**

Comme le montre la Figure 2-7, sur les 13 lanthanides injectés, 11 sont séparés sous forme de plateaux avec l'utilisation de la carnitine comme électrolyte terminal contre uniquement 7 avec le TBA. La perte des éléments de fin de période s'explique par une mobilité électrophorétique de ces derniers plus faible que celle de l'ion terminal. Lors de la séparation, ces solutés vont donc être devancés par l'électrolyte terminal. Les lanthanides les plus lents se retrouvent par conséquent en solution dans la bande de l'électrolyte terminal où règne un champ électrique constant fonction de sa conductivité. Le principe de conservation de la densité de charge n'est plus respecté par la migration des solutés mais par celle de l'électrolyte terminal dans son ensemble. Le principe de migration de l'ITP ne s'applique plus dans ce cas et les solutés les plus lents migrent dans l'électrolyte terminal selon un régime d'électrophorèse, d'où la formation de pics négatifs en fin de séparation qui correspondent à l'élution des lanthanides de fin de période (symbolisés par X\*). La mesure par électrophorèse capillaire des mobilités permet de montrer que les mobilités électrophorétiques de la carnitine et du TBA sont respectivement égales à  $5,9 \cdot 10^{-5} \pm 0,8 \cdot 10^{-5}$  et  $1,4 \cdot 10^{-4} \pm 0,1 \cdot 10^{-4}$  cm<sup>2</sup>/V/s. D'après ces résultats et ceux obtenus lors du suivi de la mobilité électrophorétique des lanthanides (Figure 2-4), le profil ITP faisant appel à la carnitine devrait manifester une perte du régime d'ITP dès le Tm et dès le Sm pour le TBA. Les différences observées sont cependant moindres compte tenu des faibles différences de mobilité observées entre les lanthanides.

## 2.5.2 L'acide acétique

Comme le suggère les travaux de Boček et al. [15], les protons H<sup>+</sup> issus de la dissociation partielle des acides faibles sont susceptibles d'être utilisés comme électrolyte terminal dans un système de

séparation tamponné. La dissociation de ces acides faibles conduit à la libération de protons  $H^+$  de grande mobilité électrophorétique. Toutefois, la migration en sens opposés de l'agent tampon sous sa forme dissociée se recombine sous sa forme neutre au contact des protons ce qui comme pour les lanthanides en présence d'un agent complexant induit pour les protons  $H^+$  une réduction de leur mobilité électrophorétique apparente par un équilibre de dissociation/ recombinaison. Conformément aux recommandations de Boček, l'acide acétique dilué a été utilisé comme électrolyte terminal et expérimenté à différentes concentrations dans les conditions d'analyse des lanthanides (Figure 2-8).



**Figure 2-8 : influence de la concentration de l'acide acétique utilisé comme électrolyte terminal pour l'analyse de 13 lanthanides (100 mg/L) sur système de capillaire 2. Electrolyte leader : [HMBA]  $14.10^{-3}$  mol/L, acide acétique  $10.10^{-3}$  mol/L, pH 4.5 ajusté par l'ammoniaque. Solutés : 1 La, 2 Ce, 3 Pr, 4 Nd, 5 Sm, 6 Eu, 7 Gd, 8 Tb, 9 Dy, 10 Er, 11 Tm, 12 Yb, 13 Lu. Conditions de détection disponibles en tableau 2-1.**

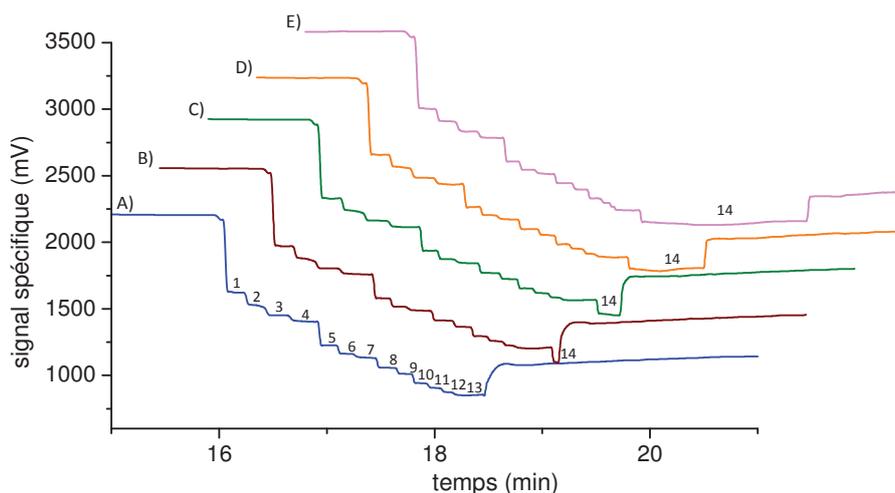
Comme le démontre la Figure 2-8, l'utilisation de l'acide acétique se révèle tout à fait compatible avec la faible mobilité des lanthanides, même après complexation du plus lourd des éléments. La concentration de l'acide est sans influence sur le profil de séparation. Les mesures semblent cependant plus reproductibles pour des concentrations en acide acétiques comprises entre 10 et  $30.10^{-3}$  mol/L. Là encore, dans un souci de faire coïncider robustesse de la séparation et réduction de la teneur en composés carbonés des électrolytes, la concentration en acide acétique est fixée à  $15.10^{-3}$  mol/L.

## 2.6 Influence des autres produits de fission sur la séparation

### 2.6.1 Uranium (U)

En amont de la séparation de la fraction PF (lanthanides, éléments métalliques, Cs...) et actinides mineurs Am et Cm, les échantillons de combustible sont fractionnés sur colonne ouverte afin d'isoler

les PF de la matrice fortement chargée en U. La concentration de ce dernier élément dans les combustibles de type UOX est plus de 40 fois supérieure à la concentration totale des PF. Aussi, malgré la première phase d'extraction sur colonne ouverte, des résidus d'U peuvent subsister dans la fraction PF. Le protocole analytique développé se doit donc de supporter la présence d'U à des concentrations réduites sans détérioration des capacités de séparation. Pour vérifier ce point, la séparation ITP des 13 lanthanides avec le système d'électrolytes développé, a été réalisée en présence de concentrations croissantes en U (Figure 2-9).



**Figure 2-9 : séparation ITP des 13 lanthanides en présence d'uranium. Système de capillaire 2. Concentration des lanthanides : 100 mg/L. A) 13 lanthanides, B) 13 lanthanides + U à 100 mg/L, C) 13 lanthanides + U à 300 mg/L, D) 13 lanthanides + U à 800 mg/L, E) 13 lanthanides + U à 1500 mg/L. Solutés : 1 La, 2 Ce, 3 Pr, 4 Nd, 5 Sm, 6 Eu, 7 Gd, 8 Tb, 9 Dy, 10 Er, 11 Tm, 12 Yb, 13 Lu, 14 U. Conditions de détection disponibles en tableau 2-1.**

Comme le montre la Figure 2-9, la séparation des lanthanides se développe conformément aux précédents résultats. En présence d'U dans l'échantillon, une bande de soluté supplémentaire se forme à la suite des lanthanides. La largeur de cette bande augmente avec la quantité en U introduite dans l'échantillon, ce qui justifie son identification.

L'U est un élément de la 7<sup>ème</sup> période possédant une couche 5f partiellement remplie. Comme pour les lanthanides, les éléments de cette famille sont également assimilés à des acides forts au sens de Lewis. Leur rayon ionique n'est cependant pas homogène car, à l'inverse des éléments du bloc 4f, les actinides présentes une grande diversité de leur degré d'oxydation. Pour sa part, l'U dispose de plusieurs états d'oxydation dont le plus stable correspond à l'obtention de la structure du gaz rare Radon, soit un degré d'oxydation de +6. Son rayon ionique est de plus inférieur à celui du Lu, dernier élément de la période des lanthanides. La réactivité de l'U avec les complexants surpasse donc celle des lanthanides, ce qui se traduit par une réduction plus importante de sa mobilité électrophorétique et la formation d'une bande de soluté supplémentaire en fin de séparation. La largeur de cette bande

s'allonge proportionnellement à la quantité d'uranium présente. D'après la Figure 2-9, il apparaît que la présence d'U montre en détection conductimétrique peu d'influence sur la séparation et ce jusqu'à une quantité supérieure à 8 fois celle des lanthanides. Au-delà (Figure 2-9 E), la capacité de traitement du système (c'est-à-dire son volume de séparation) est insuffisante et la dégradation de la séparation se manifeste sur les couples de plus faible sélectivité comme Yb/Lu (solutés 12 et 13). Ces expériences montrent qu'avec une géométrie de système adaptée (qui reste encore à déterminer), le dispositif est en mesure de séparer des lanthanides même en présence d'U résiduel.

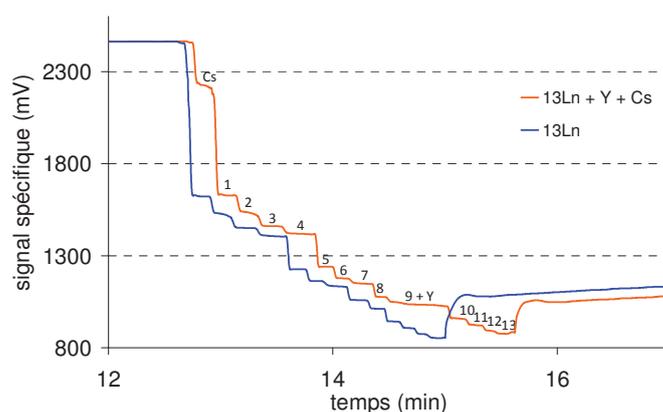
## 2.6.2 Américium (Am) et Curium (Cm)

L'Am et le Cm sont des actinides dont le comportement physico chimique approche celui des lanthanides. Lors de la phase d'isolation des PF sur colonne ouverte, ces deux éléments ne peuvent donc pas être séparés des lanthanides. A l'inverse de ce qui a été fait pour l'U, il n'est pas possible de vérifier expérimentalement au laboratoire que le protocole de séparation par ITP des lanthanides est applicable en présence d'Am et de Cm, ces deux éléments ne disposant pas d'isotopes stables. Des hypothèses sur leur comportement en ITP peuvent être formulées en fonction de leur rayon ionique hydraté dont les valeurs sont comprises entre celles du néodyme et du samarium [17]. Les travaux de Betti et al. [18] portant sur l'analyse de combustibles usés par chromatographie ionique couplée à l'ICP-MS, permettent également de prévoir l'ordre d'élution de ces éléments. L'agent complexant utilisé dans ces travaux n'est autre que l'HIBA dont le comportement vis-à-vis des lanthanides ressemble à celui de l'HMBA. D'après les exemples de séparations publiées, l'Am et le Cm complexés semblent effectivement avoir des mobilités électrophorétiques comprises entre celles de Nd et Sm. En ITP, dans les conditions d'électrolytes optimisées, le Nd et le Sm affichent les résolutions les plus élevées de l'ensemble des éléments analysés (respectivement 0.70 et 0.73 d'après la Figure 2-6 B). L'HMBA est également utilisé au CEA afin de séparer les PF dont l'Am et le Cm par chromatographie ionique (protocole actuel) [5]. Nous pouvons donc raisonnablement supposer que la séparation par ITP de l'Am et du Cm entre le Nd et le Sm soit possible sans modification des conditions de complexation. Toutefois, ces prédictions devront être vérifiées expérimentalement par l'analyse d'échantillons réels en boîte à gant.

## 2.6.3 Césium (Cs) et Yttrium (Y)

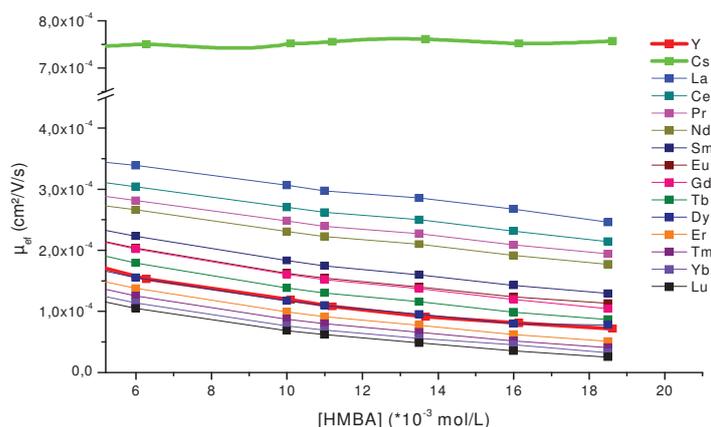
Le Cs et l'Y sont deux éléments produits à fortes concentrations lors de la désintégration de l'U (ils représentent entre 1 et 2% de la concentration totale en éléments). L'Y est un élément de la 5<sup>ème</sup> période avec un comportement physico chimique semblable à celui des lanthanides, ce qui lui vaut

son rattachement aux terres rares par certains auteurs. Le Cs quant à lui est un élément alcalin de la 6<sup>ème</sup> période. La complexation des ces éléments en présence d'HMBA dépend, comme pour les autres éléments analysés, de leur acidité en sens de Lewis. Comme pour l'U, les conditions de séparation par ITP des lanthanides sont appliquées à un échantillon contenant du Cs et de l'Y. La séparation obtenue est présentée sur la Figure 2-10 et comparée à une séparation des lanthanides seuls.



**Figure 2-10: comparaison des profils de séparation ITP des 13 lanthanides avec et sans yttrium et césium ajouté à l'échantillon. Système de capillaire 2. Concentration des analytes : 100 mg/L. Solutés : 1 La, 2 Ce, 3 Pr, 4 Nd, 5 Sm, 6 Eu, 7 Gd, 8 Tb, 9 Dy, 10 Er, 11 Tm, 12 Yb, 13 Lu.**

La comparaison des profils ITP obtenus met en évidence deux différences : premièrement, la formation d'un plateau avant l'élution des lanthanides qui correspond au Cs et, dans un second temps, l'augmentation de la largeur de la bande du Dy qui laisse penser à la formation d'une zone mixte contenant plusieurs éléments non séparés. Cet allongement intervenant dans le domaine d'élution des lanthanides, il apparaît que le système d'électrolytes utilisé n'est pas en mesure de réaliser la séparation du Dy en présence d'Y. Toutefois, les isotopes d'Y ont des masses inférieures à 90 u.m.a Dans ces conditions, la formation d'oxydes ou de composés poly-atomiques avec l'Ar du plasma ne génère pas des composés pouvant être assimilés à des interférences isobariques des lanthanides dont les masses d'intérêt les plus faibles sont situées au delà de 130 uma. Afin de confirmer l'indentification proposée en Figure 2-10 et de proposer des conditions susceptibles d'étendre le domaine de la séparation sans abaisser le niveau de sélectivité entre les lanthanides, le suivi de la mobilité électrophorétique est réalisé par CZE pour les éléments Cs et Y à un pH de 4,5 et des concentrations en agent complexant comprises entre 8 et 18.10<sup>-3</sup> mol/L correspondant à la zone de sélectivité maximale spécifiée par la Figure 2-5 B.



**Figure 2-11: variation de la mobilité électrophorétique des lanthanides, de Y et de Cs. Mesures effectuées par électrophorèse capillaire dans des conditions analogues à la Figure 2-4.**

Les résultats (Figure 2-11) confirment la localisation du Cs et de l'Y dans la Figure 2-10. Ils mettent en évidence une différence de mobilité électrophorétique quasi inexistante entre le Dy et l'Y dans le domaine de travail retenu. Dans le cas de Cs, son rayon ionique est plus élevé que celui du lanthane et sa charge ne peut excéder +1. Ces deux paramètres mis en commun réduisent l'affinité de cet élément envers un agent complexant ce qui comme sur la Figure 2-11 se traduit par une stabilité de sa mobilité électrophorétique quelque soit la concentration en HMBA. Qui plus est, la différence de mobilité entre le Cs et les lanthanides est très importante, ce qui implique une grande sélectivité et donc une séparation facile de cet élément du reste des PF.

## 2.7 Conclusion

L'optimisation d'une séparation par ITP repose principalement sur la définition de l'électrolyte leader. Pour des analytes de grandes différences de mobilité électrophorétique, la composition de l'électrolyte leader se limite au choix d'un ion suffisamment rapide pour devancer les composés analysés. Dans le cas des lanthanides, leurs faibles différences de mobilité électrophorétique imposent l'ajout à l'électrolyte leader d'un agent complexant vecteur de sélectivité. L'efficacité de cet agent étant à la fois fonction de sa concentration et du pH de la solution, la détermination des conditions optimales de séparation nécessite de connaître la variation des mobilités électrophorétiques des analytes en fonction de ces deux paramètres. Leur détermination est possible en ITP, mais requiert un traitement particulier et la connaissance de la mobilité de l'électrolyte terminal. Nous avons réalisé cette étude par électrophorèse capillaire. Les capacités de complexation de deux agents complexants ont été testées. Pour la séparation des lanthanides, il apparaît que l'HMBA, composé peu utilisé dans la littérature, procure un gain de sélectivité de près de 20% par

rapport à celle obtenue avec l'HIBA. Bien qu'identifiée comme une source de dispersion majeure, les séparations ITP ont été réalisées en présence d'écoulement électroosmotique afin de satisfaire au principe CHON et de garantir la compatibilité de la séparation avec les étapes de mesure des rapports isotopiques par spectrométrie de masse. Le choix de l'électrolyte terminal se limite quant à lui à la sélection d'un ion de mobilité inférieure aux analytes d'intérêt. Notre choix s'est donc porté sur l'utilisation du mécanisme de dissociation recombinaison des protons  $H^+$  fournis en solution par des acides faibles en solution et plus particulièrement de l'acide acétique.

En condition d'ITP, ce système d'électrolytes permet la séparation des lanthanides dans un laps de temps raisonnable. L'extension du protocole de séparation à la présence d'autres éléments montre une certaine robustesse du système. En effet, en raison de leurs propriétés physico chimiques respectives, l'U et le Cs ne constituent pas des facteurs de dégradation de la séparation, même à des teneurs élevées dans l'échantillon pour l'U. L'impact de l'Am et du Cs reste encore à vérifier expérimentalement. Enfin, la présence d'Y, d'Am et de Cm dans les échantillons reste plus problématique. S'il s'avère que l'Y présente une mobilité électrophorétique trop proche de celle du Dy pour permettre une séparation par le système d'électrolytes développé, sa présence ne génère pas d'interférences isobariques nuisibles à la mesure des rapports isotopiques. Dans le cas de l'Am et du Cm, les séparations de PF réalisées par différents groupes d'auteurs permettent de prévoir leur localisation entre les bandes du Nd et du Sm. Ces éléments étant de nature purement radioactive, seule une expérimentation sur échantillon réel permettrait de confirmer ces hypothèses.

Les exemples de séparation présentés ont été réalisés sur des systèmes de géométrie arbitraire. L'utilisation du système de capillaire 1 (tableau 2-2) permet le traitement de 1  $\mu$ L d'échantillon en une seule analyse, mais nécessite des concentrations importantes en échantillon (100 mg/L) pour parvenir à la détection de plateaux, ce qui correspond à l'injection d'une masse de 100 ng par lanthanide alors que seulement 5 ng sont nécessaires pour réaliser une mesure isotopique. Si cette quantité ne présente pas de contre-indication analytique, la réduction du débit de dose impose de fortement abaisser les quantités massiques traitées, ce qui implique une optimisation de la géométrie du système avant d'aborder la phase de conception du microsystème séparatif.

## Références bibliographiques

- [1] Madic, C., Lecomte, M., Baron, P., Boullis, B., *Comptes Rendus Physique* 2002, 3, 797-811.
- [2] Karol, P. J., *Journal of Chromatography* 1973, 79, 287-291.
- [3] Brennetot, R., Becquet, A.-L., Isnard, H., Caussignac, C., *et al.*, *J. Anal. At. Spectrom* 2005, 20, 500-507.
- [4] Isnard, H., Brennetot, R., Caussignac, C., Caussignac, N., Chartier, F., *International Journal of Mass Spectrometry* 2005, 246, 66-73.
- [5] Chartier, F., Aubert, M., Pilier, M., *Fresenius' Journal of Analytical Chemistry* 1999, 364, 320-327.
- [6] Li, S. F. Y., *capillary electrophoresis principles, practice and applications*, Elsevier, Amsterdam 1992.
- [7] Stagg, W. R., Powell, J. E., *Inorganic Chemistry* 1963, 3, 242-245.
- [8] Powell, J. E., Chughtai, A. R., Ingemanson, J. W., *Inorg. Chem.* 1969, 8, 2216-2218.
- [9] Janos, P., *Electrophoresis* 2003, 24, 1982-1992.
- [10] Rizkalla, E. N., Choppin, G. R., Gschneidner, K. A., Lander, G. H., *Handbook on the Physics and Chemistry of Rare Earths*, Elsevier 1994, pp. 529-558.
- [11] Wood, S. A., *Engineering Geology* 1993, 34, 229-259.
- [12] Raut, N. M., Jaison, P. G., Aggarwal, S. K., *Journal of Chromatography A* 2002, 959, 163-172.
- [13] Petit, J., Geertsen, V., Beaucaire, C., Stambouli, M., *Journal of Chromatography A* 2009, 1216, 4113-4120.
- [14] Petit, J., Aupiais, J., Topin, S., Geertsen, V., Beaucaire, C., Stambouli, M., *Electrophoresis* 2010, 31, 355-363.
- [15] Bocek, P., Gebauer, P., Deml, M., *Journal of Chromatography* 1981, 217, 209-224.
- [16] Stover, F. S., *Journal of Chromatography A* 1988, 445, 417-423.
- [17] Kaltsoyannis N., S. P., *the f elements*, Oxford science publications 1999.
- [18] Perna, L., Bocci, F., Aldave de las Heras, L., De Pablo, J., Betti, M., *Journal of Analytical Atomic Spectrometry* 2002, 17, 1166-1171.

## chapitre 3 Optimisation des conditions de séparation des lanthanides par ITP

La première phase du développement d'un protocole d'analyse par ITP des lanthanides a nécessité la définition d'un système d'électrolytes robuste capable de séparer l'ensemble des lanthanides, mais également d'étendre la séparation en présence d'éléments annexes potentiellement présents en relativement grande quantité et susceptibles de perturber la séparation. Ces conditions ont permis d'atteindre l'état quasi stationnaire pour la séparation de 13 lanthanides injectés à des quantités relativement importantes (100 ng par élément), ce qui ne respecte pas la volonté de réduire les quantités de rayonnement perçues lors du processus d'analyse.

Comme toute technique séparative, les performances de la méthode sont tributaires des dispersions du système. Bien que le schéma de fonctionnement simplifié de l'ITP présente la technique comme non dispersive, les sources de dispersion sont pourtant importantes et empêchent l'analyse de faible masse d'échantillon. L'optimisation de la séparation inclut donc un second aspect centré sur l'identification et la réduction des sources de dispersion. L'objectif annoncé de cette optimisation est d'atteindre les niveaux de sensibilité nécessaires en spectrométrie de masse, mais également de fournir un maximum d'informations pour le dimensionnement d'un microsystème dédié à l'analyse des lanthanides. Pour mener à bien cette étude, il est indispensable de se référer à la résolution qui est la seule valeur prenant en compte l'effet de la dispersion dès lors que l'état quasi stationnaire est atteint.

### 3.1 Définition et calcul de la résolution

Comme définie dans le paragraphe 1.3.5, la résolution est égale au rapport entre la quantité séparée  $Q_i^*$  et la quantité injectée  $Q_i$ . Elle augmente au fil de l'analyse, passant de 0 à l'état non séparé (injection) à 1 avec l'obtention de l'état quasi stationnaire et selon le modèle simplifié de l'ITP. Dans le modèle étendu qui prend en compte l'aspect diffusionnel de la séparation, la résolution du système s'écarte de l'unité et ceci en fonction de l'importance des sources de dispersion. Ces contributions se localisent exclusivement aux interfaces des bandes de migration, ce qui se manifeste expérimentalement par une décroissance de conductivité plus ou moins brutale entre les zones d'analytes séparées (Figure 3-1 A). A l'échelle de la séparation, cette transition permet de maintenir la densité de charge constante entre les bandes purifiées et à ce titre correspond à la disparition

progressive d'une espèce A conjointement à l'augmentation de la proportion de l'espèce B (Figure 3-1 B). La dérivée point par point du signal conductimétrique ITP (Figure 3-1 C) donne donc directement accès aux phénomènes de dispersion des analytes sous la forme de courbes gaussiennes. Leur distribution normale traduit, au travers de la variance, la probabilité de dispersion des analytes par rapport à la valeur moyenne donnée par le sommet de la courbe. Expérimentalement, les bandes de solutés sont définies par la grandeur  $Li$  qui correspond à la quantité totale de l'élément introduite dans le système. La grandeur  $Li^*$  quant à elle se limite à la zone pure du plateau et son domaine d'intégration est alors défini en fonction de la loi normale et du niveau de pureté exigé pour les bandes de soluté. Dans le cas de la mesure des rapports isotopiques, la présence même faible d'un ion interférent modifie la justesse des résultats. Par conséquent, pour ne sélectionner que la zone des bandes pures à 99.7% (cette limite étant fixée dans cette thèse comme valeur critique de pureté), le domaine d'intégration de la zone  $Li^*$  se doit d'exclure les zones situées à  $\pm 3\sigma$  des extrémités de la zone  $Li$ . En ITP, la vitesse de séparation du système étant constante, la définition de la résolution au travers de la largeur des bandes peut également être exprimée en fonction de la durée d'éluion de la fraction pure de la bande notée  $ti^*$  et de sa durée totale notée  $ti$ . L'expression de la résolution donnée par l'équation 1-30 devient :

$$Rs = \frac{Qi^*}{Qi} = \frac{Li^*}{Li} = \frac{ti^*}{ti} = 1 - \left( \frac{3\sigma_1 + 3\sigma_2}{ti} \right) \quad \text{Eq. 3-1}$$

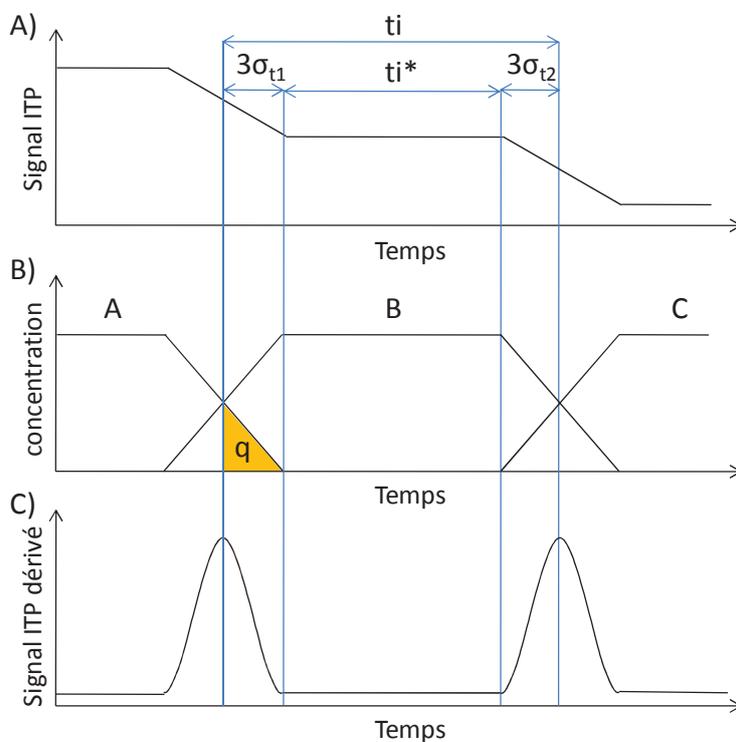


Figure 3-1 : mise en évidence des grandeurs intervenant dans le calcul de la résolution. A) signal conductimétrique ITP, B) évolution des concentrations en analytes, C) courbes de diffusion obtenues par dérivation du signal ITP.

Pour réaliser la mesure précise de rapports isotopiques, la pureté des bandes est certes importante, mais une contrainte supplémentaire doit également être satisfaite. Cette contrainte dépend de la méthode d'analyse utilisée. Avec un dispositif hors ligne utilisant une technique comme la TIMS, la masse collectable définie par la relation

$$Q_i^* = R_s \times Q_i \quad \text{Eq. 3-2}$$

doit être égale ou supérieure à 5 ng. Pour un dispositif en ligne utilisant le couplage ICP-MS, la période durant laquelle la concentration de l'élément est constante

$$t_i^* = R_s \times t_i \quad \text{Eq. 3-3}$$

doit dépasser une dizaine de secondes. Comme résumé dans la Figure 3-2, l'évolution de ces différents paramètres  $R_s$ ,  $Q_i^*$  et  $t_i^*$  sera suivie en fonction de la quantité injectée  $Q_i$ .

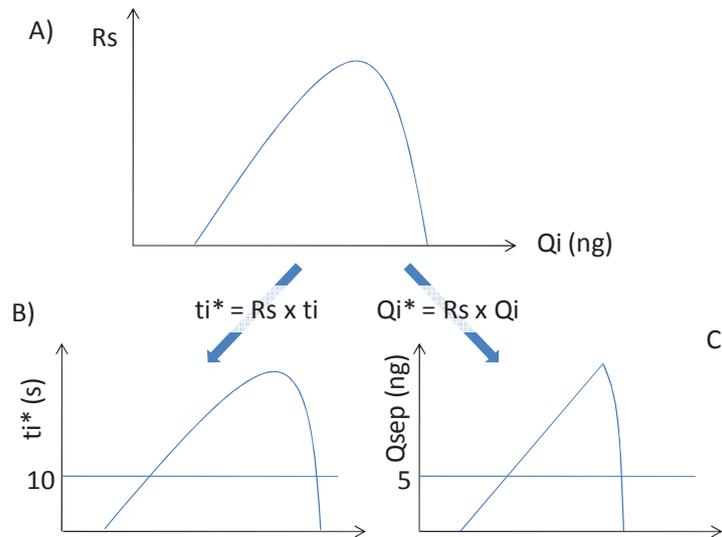


Figure 3-2 : A) profil de résolution en fonction de la quantité injectée, B) durée de plateau en fonction de la quantité injectée, C) quantité collectable en fonction de la quantité injectée.

### 3.2 Identification des paramètres d'influence

Si l'on se réfère à l'expression de la concentration des bandes dans le modèle simplifié (Eq 1-27), la largeur d'une bande de soluté  $L_i$  peut alors être exprimée par la relation :

$$L_i = \frac{Q_i}{C_i S} = \frac{Q_i}{S C_L} \frac{(1 + \mu_x / \mu_i)}{(1 + \mu_x / \mu_L)} \quad \text{Eq. 3-4}$$

où  $C_i$  représente la concentration injectée en soluté  $i$  et  $S$  la section du capillaire de séparation. Pour un mélange de deux solutés à l'état quasi stationnaire, la longueur occupée par l'échantillon notée  $L_{ech}$  est définie par la somme de chacune des longueurs de bandes d'analytes après séparation et compte tenu de l'équation 3-4 appliquée pour  $i = A$  et  $i = B$  :

$$L_{ech} = L_A + L_B = \frac{Q_B}{SC_L} \left[ \frac{(1 + \mu_X / \mu_B)}{(1 + \mu_X / \mu_L)} + \frac{Q_A (1 + \mu_X / \mu_A)}{Q_B (1 + \mu_X / \mu_L)} \right] \quad \text{Eq. 3-5}$$

D'après l'expression du critère de séparation énoncé par Boček [1], il est possible en associant les équations 1-31 et 3-5 de définir la quantité maximale séparable de soluté B pour un système de géométrie donnée :

$$Q_B \leq Q_{B_{\max}} = \alpha \frac{SC_L L_{sep} (1 + \mu_X / \mu_L)}{(1 + \mu_X / \mu_L) + \frac{Q_A}{Q_B} (1 + \mu_X / \mu_A)} \quad \text{Eq. 3-6}$$

Comme démontré par Boček et al.[2], la résolution devient maximale pour  $Q_B = Q_{B_{\max}}$  et la diffusion entre un couple de solutés A/B peut dès lors être exprimée par une quantité unitaire de dispersion notée  $q$  (Figure 3-1 B) et donnée par :

$$q = C_B S W_{AB} \quad \text{Eq. 3-7}$$

avec

$$W_{AB} = \frac{\ln(2) RT S C_B \mu_B (1 + \mu_X / \mu_B)}{\alpha l} \quad \text{Eq. 3-8}$$

Avec l'approximation d'une diffusion homogène entre les bandes, la résolution maximale de l'élément B est donnée par :

$$RS_{B_{\max}} = 1 - \frac{8q}{Q_{B_{\max}}} \quad \text{Eq. 3-9}$$

La combinaison des équations 3-6 à 3-9 permet de proposer une expression de la résolution de B en faisant figurer les caractéristiques du système de séparation :

$$RS_{B_{\max}} = 1 - 8 \ln(2) RTS \mu_B \frac{C_L}{I L_{sep}} \left[ 1 + \frac{Q_A (1 + \mu_X / \mu_A)}{Q_B (1 + \mu_X / \mu_B)} \right] \left[ \frac{1 + \mu_X / \mu_L}{\alpha^2} \right] \quad \text{Eq. 3-10}$$

Comme défini par l'équation 1-29, la vitesse de migration en ITP est constante pour tout le système dès l'obtention de l'état quasi stationnaire. La combinaison des équations 3-4, 3-6 et 1-29, traduit alors l'expression de la largeur de la bande en temps au maximum de résolution.

$$t_{B_{\max}} = \frac{\alpha L_{sep} C_L F}{I} \times \frac{(1 + \mu_X / \mu_L)}{1 + \frac{Q_A (1 + \mu_X / \mu_A)}{Q_B (1 + \mu_X / \mu_B)}} \quad \text{Eq. 3-11}$$

Les équations 3-6, 3-10 et 3-11 permettent de mettre en évidence les paramètres qui sont prépondérants dans le dimensionnement du système, à savoir : la longueur de séparation  $L_{sep}$ , la section du capillaire  $S$ , l'intensité du courant  $I$  et la concentration en ion leader  $C_L$ .

Le but de cette étude est donc de confirmer expérimentalement les tendances rassemblées dans ces relations afin de proposer une configuration du système capable de traiter de très faibles quantités d'échantillon dans le respect des limitations de fonctionnement des protocoles de mesure hors ligne ou en ligne.

### **3.3 Choix des échantillons**

Les dispersions liées au système sont équivalentes pour tous les ions séparés. Par conséquent, il n'est pas nécessaire d'étendre l'optimisation à l'ensemble des 13 lanthanides. En ITP, la séparation est effective dès lors que le critère de séparation défini pour le couple de plus faible sélectivité est respecté. L'étude doit donc être réalisée sur le couple Eu/Gd. Toutefois, l'utilisation de ces deux seuls éléments induirait une erreur dans les résultats dans la mesure où les sélectivités entre les couples ion leader/Eu et Gd/ion terminal sont importantes. Pour limiter cette contribution, deux autres éléments sont ajoutés au procédé d'optimisation, à savoir Nd et Sm. Le choix de ces deux éléments n'est pas aléatoire. Avant tout, les quatre éléments se suivent dans la classification. Nd et Sm disposent également des sélectivités les plus importantes sur l'ensemble de la période, ce qui permet de mettre indirectement en évidence le rôle de la sélectivité sur les capacités de séparation du système. Enfin, ces quatre éléments présentent les isotopies les plus étudiées pour la validation des codes de calculs, comme par exemple Nd qui sert d'indicateur pour le suivi du taux de combustion des combustibles dans les réacteurs. La résolution étant fonction de la quantité de chacun des solutés introduite dans le système, la comparaison des profils de résolution impose l'injection de quantités équivalentes en soluté. L'échantillon injecté est donc un mélange équimolaire des quatre éléments sélectionnés.

### **3.4 Conditions d'injection**

#### **3.4.1 Paramétrage de l'injection**

Visualiser les effets de la dispersion en fonction de la masse en élément analysé impose de maîtriser avec exactitude les volumes injectés. L'utilisation de la loi de Poiseuille permet de connaître les conditions théoriques d'injection. Bien que des capteurs régulent la pression d'injection en fonction de la consigne imposée par l'utilisateur, ces mesures ne font l'objet d'aucune calibration préalable, ce qui peut entraîner l'apparition d'une erreur expérimentale. Les conditions d'injection sont donc définies expérimentalement avant la réalisation de chaque profil de résolution. Après la phase de

conditionnement du capillaire, ce dernier est rempli d'électrolyte leader. Une petite quantité d'eau ultra pure est injectée dans le système à une pression fixe de 30 mBar. L'entrée du capillaire est de nouveau immergée dans le vial contenant l'électrolyte leader qui est à son tour poussé à la pression de 30 mBar dans le système. Le capteur conductimétrique, préalablement disposé à une distance connue de l'entrée du capillaire, détecte l'élution de la bande aqueuse, ce qui permet de déterminer le débit d'injection à une pression donnée. La répétition de cette démarche permet de vérifier la répétabilité de l'injection et de sélectionner les conditions de pression les plus stables.

### 3.4.2 Quantité injectée

La construction des profils de résolution impose d'analyser des quantités croissantes d'échantillon. Parmi les paramètres étudiés, figurent l'intensité du courant et la longueur de séparation. Faire varier le volume injecté pour augmenter la quantité analysée revient alors à modifier la longueur de séparation. En effet, la longueur totale du système doit être augmentée pour maintenir le paramètre  $L_{sep}$  constant, ce qui s'accompagne d'une augmentation de la résistance globale du système avec le risque de ne pouvoir satisfaire aux valeurs des champs électriques les plus élevées en fin de séparation. La modification du volume d'injection implique également de devoir recalibrer la phase d'injection. Par conséquent, la phase d'injection sera paramétrée pour une longueur d'échantillon fixée à 4 cm et l'augmentation de la quantité injectée sera réalisée par l'augmentation de la concentration des solutés dans l'échantillon.

## 3.5 Conditions de séparation

### 3.5.1 Composition des électrolytes

Toutes les mesures à l'exception de celles portant sur la concentration de l'ion leader sont réalisées à l'aide du système d'électrolytes de séparation précédemment optimisé et résumé dans le tableau 3-1.

**Tableau 3-1: récapitulatif de la composition des électrolytes après optimisation.**

électrolyte leader		
acide acétique	$10 \cdot 10^{-3}$	mol/L
HMBA	$14 \cdot 10^{-3}$	mol/L
pH	4,5 ajusté par $\text{NH}_4^+$	
électrolyte terminal		
acide acétique	$15 \cdot 10^{-3}$	mol/L
échantillon		
mise en solution dans l'eau pure		

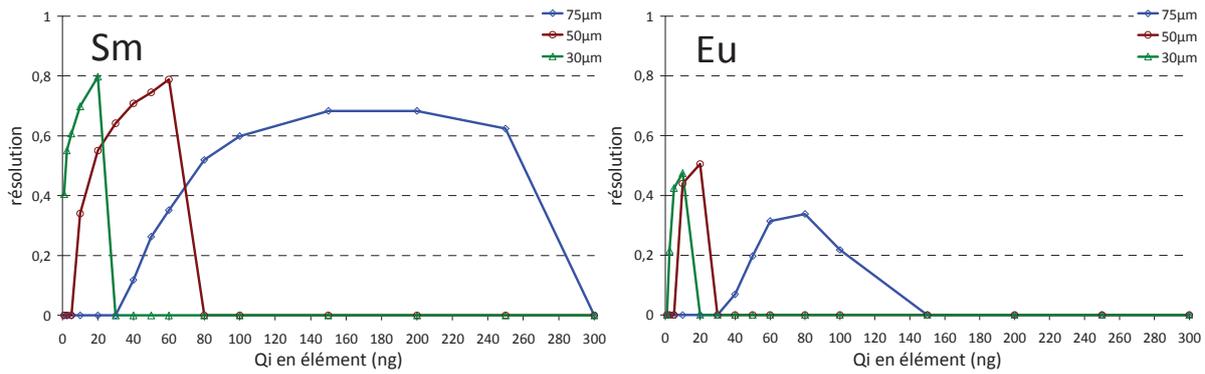
### 3.5.2 Système de séparation

Les caractéristiques des capillaires utilisés au cours de cette étude font l'objet de plusieurs modifications et leurs valeurs sont rappelées à chaque changement de paramètre. Toutefois, la longueur totale du capillaire se décompose en plusieurs segments : la longueur de l'échantillon fixe et égale à 4 cm, la longueur de séparation variable et une longueur dite électrique qui correspond à la distance entre la zone de détection et l'extrémité de sortie du capillaire, soit précisément 14 cm.

## 3.6 Etude des paramètres de séparation

### 3.6.1 Influence de la section du système de séparation

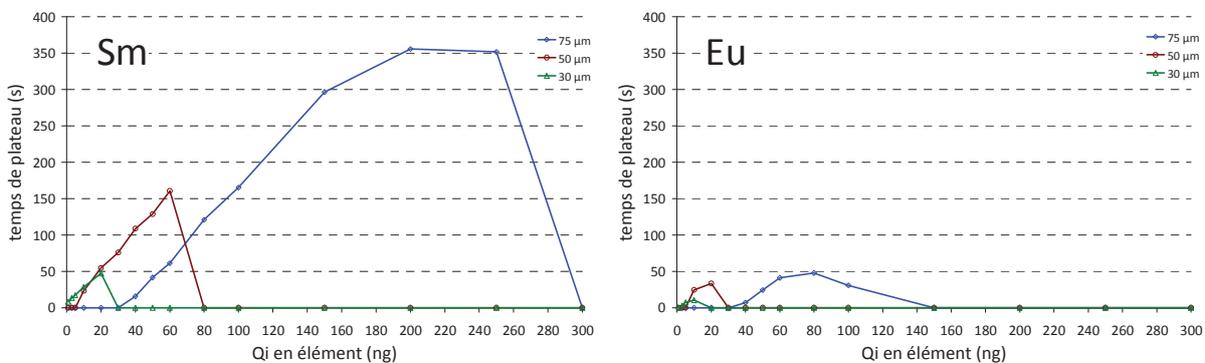
La section du système de séparation conditionne fortement le volume de ce dernier. La diminution de la capacité de traitement impose par conséquent de diminuer cette section. Cependant, ce paramètre peut également être responsable d'une modification de résolution. Afin de vérifier expérimentalement ces observations, les profils de résolution ont été construits pour trois capillaires de diamètres différents, à savoir 75, 50 et 30  $\mu\text{m}$ .



**Figure 3-3: Influence du diamètre interne du capillaire de séparation sur le profil de résolution de Sm et Eu.  $L_{sep} = 50$  cm,  $I = 3$  μA. Composition des électrolytes en tableau 3-1.**

Conformément à l'équation 3-6, la Figure 3-3 montre que l'obtention de la résolution maximale nécessite une quantité de soluté d'autant plus faible que la section du capillaire de séparation est petite. Le passage d'un capillaire de 50 à 30 μm de diamètre interne permet de diviser par 3 la quantité traitée. De plus, conformément à l'équation 3-10 la résolution maximale observée pour le capillaire de 75 μm est plus faible. Ce phénomène se trouve vraisemblablement amplifié par la diffusion générée par le gradient thermique radial qui s'établit inévitablement [3, 4] et qui n'est pas corrigé efficacement par le système de refroidissement dans le capillaire de grande section (75 μm de diamètre interne).

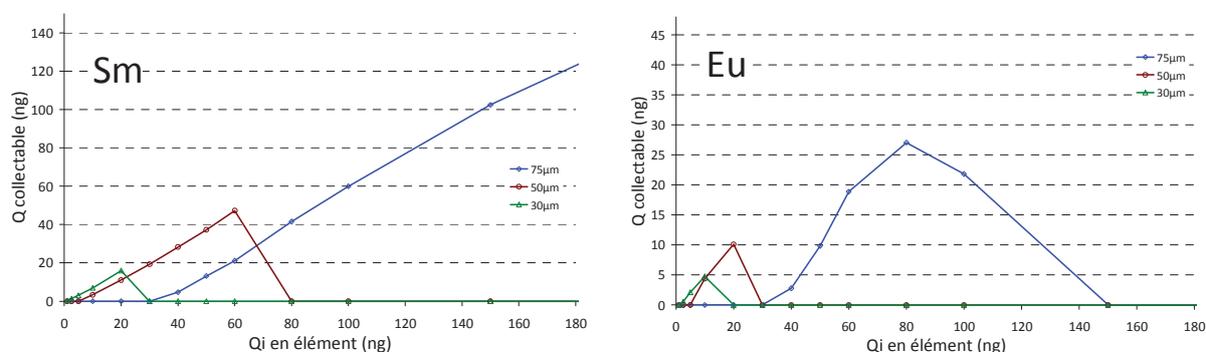
La Figure 3-4 montre, pour chacun des solutés Sm et Eu, les variations de la durée d'éluion du plateau  $t_i^*$  (correspondant à la collection du soluté pur et définie sur la Figure 3-2) en fonction de la quantité injectée en soluté et du diamètre interne du capillaire. Dans les conditions fixées ( $L_{sep} = 50$  cm,  $I = 3$  μA,  $C_L = 10 \cdot 10^{-3}$  mol/L.), pour l'élément limitant et un capillaire de 30 μm de diamètre interne, il est impossible de satisfaire la contrainte imposée par l'analyse isotopique en ligne (par couplage avec l'ICP-MS), à savoir l'obtention d'un plateau d'au moins 10 s.



**Figure 3-4: Variations de la durée d'éluion du plateau (notée  $t_i^*$ ) en fonction du diamètre du capillaire et de la quantité injectée pour Sm et Eu.  $L_{sep} = 50$  cm,  $I = 3$  μA. Composition des électrolytes en tableau 3-1.**

Pour revenir à la problématique de l'analyse isotopique hors ligne par TIMS, la Figure 3-5 montre les variations de la quantité collectable  $Q_i^*$  (calculée par l'équation 3-1) en fonction de la quantité injectée en élément  $Q_i$  et du diamètre du capillaire de séparation. En se référant à l'élément limitant Eu, on voit que l'utilisation d'un capillaire de 30  $\mu\text{m}$  de diamètre interne ne permet pas de purifier les 5 ng nécessaires.

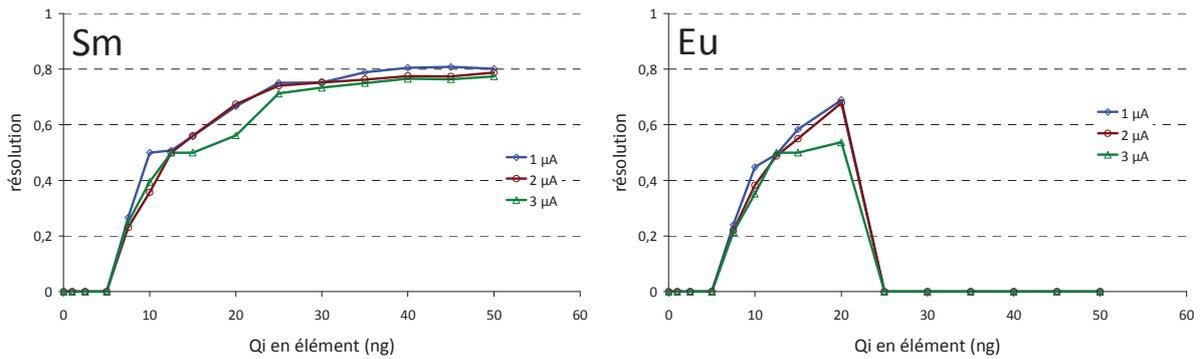
Si, quelle que soit la procédure envisagée (TIMS hors ligne ou ICP-MS en ligne), l'utilisation d'un capillaire de 30  $\mu\text{m}$  n'est pas envisageable dans les conditions fixées ( $L_{\text{sep}} = 50 \text{ cm}$ ,  $I = 3 \mu\text{A}$ ,  $C_L = 10 \cdot 10^{-3} \text{ mol/L}$ ), le remplacement d'un capillaire de 75  $\mu\text{m}$  par un capillaire de 50  $\mu\text{m}$  permet de réduire la quantité manipulée d'un facteur 5 tout en satisfaisant aux contraintes d'un système en ligne ou hors ligne.



**Figure 3-5 : Variations de la quantité collectable  $Q_i^*$  en fonction de la quantité injectée  $Q_i$  et du diamètre interne du capillaire de séparation.  $L_{\text{sep}} = 50 \text{ cm}$ ,  $I = 3 \mu\text{A}$ . Composition des électrolytes en tableau 3-1.**

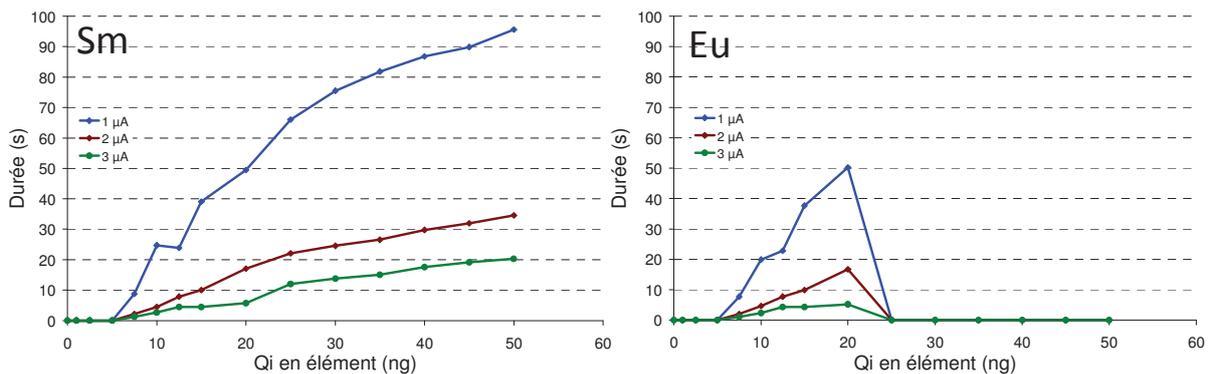
### 3.6.2 Influence de l'intensité du courant

Selon le modèle diffusionnel exposé par Boček [2], plus le temps passé par les solutés dans le système de séparation est faible, moins les bandes d'élution seront sujet à la diffusion. L'intensité du courant de séparation apparaît donc comme un paramètre à maximiser afin de réduire le temps d'analyse. Cette considération s'oppose au modèle de migration soutenu par Everaerts [5]. Selon ce dernier, seule une quantité donnée de Coulomb est nécessaire à l'établissement de l'état quasi stationnaire. L'intensité appliquée aux bornes du système n'a d'influence que sur le temps d'analyse et toute dégradation de la qualité de séparation ( $R_s$ ) est liée à un accroissement de la température dans le système.



**Figure 3-6 : Influence de l'intensité du courant de séparation sur le profil de résolution de Sm et Eu. Diamètre interne du capillaire = 50  $\mu\text{m}$ ,  $L_{\text{sep}}$  = 57 cm. Composition des électrolytes en tableau 3-1.**

Les profils de résolution (Figure 3-6) obtenus ici pour trois intensités différentes de courant (1, 2 et 3  $\mu\text{A}$ ) sont quasiment superposés, ce qui confirme la théorie d'Everaerts. L'élévation de la température avec l'augmentation de l'intensité du courant conduit à une légère réduction de la résolution.



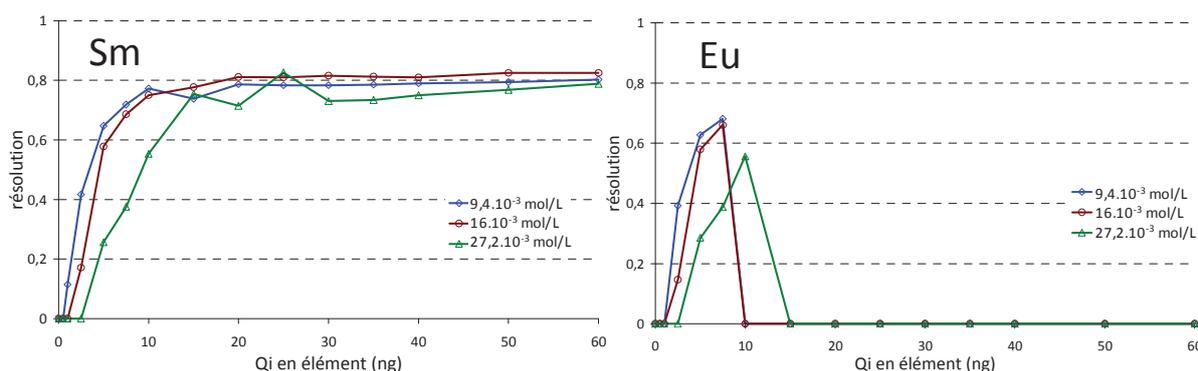
**Figure 3-7: Variations de la durée d'éluion du plateau (notée  $t_i^*$ ) en fonction de l'intensité du courant et de la quantité injectée pour Sm et Eu. Diamètre interne du capillaire = 50  $\mu\text{m}$ ,  $L_{\text{sep}}$  = 57 cm. Composition des électrolytes en tableau 3-1.**

La réduction de l'intensité engendre une réduction de la vitesse de migration des solutés, ce qui se traduit par un allongement du temps d'éluion des bandes qui se répercute sur la durée d'éluion du plateau  $t_i^*$  (Figure 3-7). Le temps disponible pour réaliser la mesure isotopique dans le cas d'un système en ligne est donc allongé avec l'utilisation d'une intensité de faible valeur, ce qui dans le cas de Eu abaisse la quantité minimale d'injection à environ 7,5 ng pour l'obtention d'un plateau d'approximativement 10 s. La contribution de l'intensité se limitant à l'augmentation du temps d'analyse sans perte de résolution par effet thermique, il apparaît envisageable d'appliquer une intensité importante en début d'analyse, jusqu'à l'obtention de l'état quasi stationnaire, et de réduire ensuite fortement cette intensité afin de diminuer la vitesse de migration et d'allonger la durée de plateau au moment de la détection. Il sera ainsi possible de satisfaire à la condition de

mesure en ligne sans sacrifier le temps d'analyse. A l'inverse, du point de vue mesure de la collection de fractions indépendantes et de la mesure isotopique hors ligne, l'intérêt de réduire l'intensité de séparation reste limité : les différences thermiques obtenues pour des faibles intensités ne génèrent pas de différences notables de la résolution et donc des quantités collectables.

### 3.6.3 Influence de la concentration en ion leader

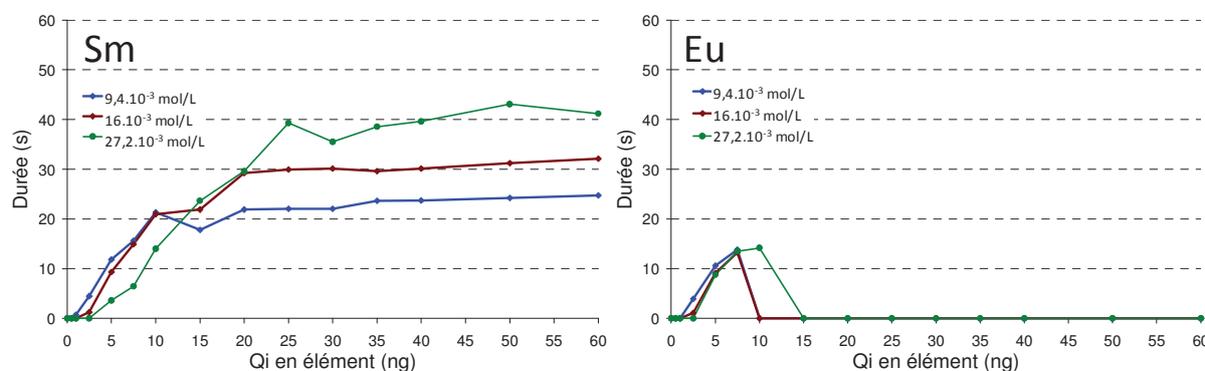
Le rôle de l'électrolyte leader en ITP se limite à conduire le déplacement des ions dans le système. Sa mobilité électrophorétique impose la vitesse de migration des solutés tandis que sa concentration influence celle des ions séparés dans leur bande respective. Ainsi, d'après le modèle non diffusionnel, si la concentration en ion leader diminue, celle des analytes diminue également. A masse injectée et section de capillaire constantes, cette réduction engendre une augmentation du volume de la bande et donc de sa longueur. La Figure 3-8 présente l'évolution de la résolution pour Sm et Eu pour trois concentrations différentes en ion leader.



**Figure 3-8 : influence de la concentration en ion leader sur le profil de résolution de Sm et Eu. Diamètre interne du capillaire = 30  $\mu$ m,  $L_{sep}$  = 70 cm,  $I$  = 1  $\mu$ A. Lors de la préparation de ces électrolytes, l'excès d'ammoniac a été compensé par l'apport d'acide chlorhydrique afin de conserver le pH de l'électrolyte à la valeur optimale de 4,5.**

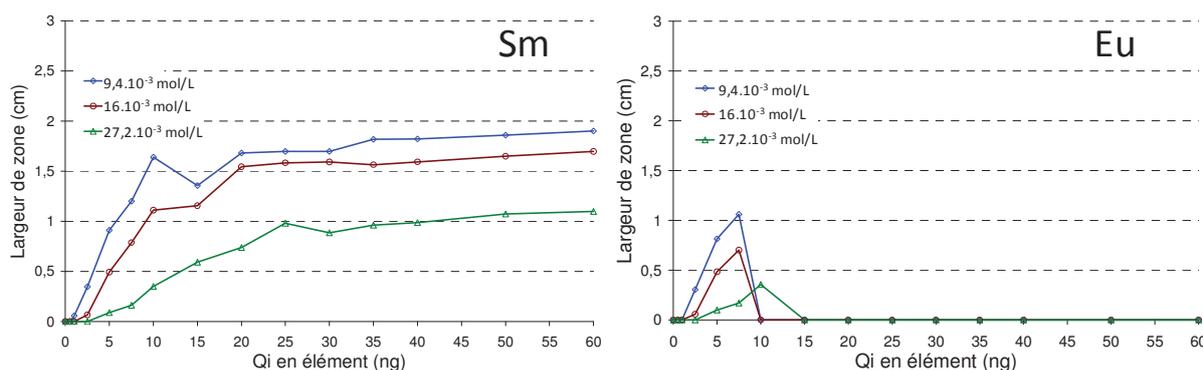
La réduction de la concentration en ion leader semble avoir principalement un impact sur la résolution pour les faibles masses injectées. Dans le cas de l'Eu, la réduction de la concentration de l'ion leader permet un gain conséquent de la résolution pour de très faibles quantités injectées, avec une valeur de résolution qui passe de 0 à 0,4 pour une quantité injectée de 2,5 ng quand la concentration en ion leader passe de 27.10<sup>-3</sup> à 9,4.10<sup>-3</sup> mol/L. Bien que moins prononcée, la réduction de la concentration en ion leader de 16.10<sup>-3</sup> à 9,4.10<sup>-3</sup> mol/L assure une augmentation de la résolution à masse injectée fixe ce qui confirme les prévisions de l'équation 3-10.

La forte sélectivité du Sm vis-à-vis de ses éléments voisins lui permet de disposer d'un critère de séparation faible, d'où la forme de son profil de résolution qui tend progressivement vers une constante. Par contre, l'Eu dont la sélectivité est plus faible, démontre une réduction de la capacité de traitement du système pour les faibles concentrations en ion leader. Là encore cette tendance respecte l'équation 3-6. Lorsque la concentration en ion leader diminue, la longueur de l'échantillon dans le système augmente, ce qui dans le cas d'un élément de faible sélectivité comme Eu se traduit par un non respect du critère de séparation (Equation 1-32) et l'impossibilité d'atteindre l'état quasi stationnaire pour la longueur de séparation du système utilisé. La Figure 3-9 ci-dessous représente l'évolution des durées d'élution des plateaux en fonction des différentes concentrations en ions leaders. Deux zones se distinguent : la première aux faibles masses (0 à 12,5 ng) montre une augmentation de la durée des plateaux pour de faibles teneurs en ion leader en lien avec le gain en résolution constaté précédemment. La seconde lorsque la résolution tend à se stabiliser témoigne de l'allongement du temps d'élution des bandes avec l'augmentation de la concentration en ion leader comme prévue par l'équation 3-11. Observable uniquement sur le profil de Sm (profil de Eu étant saturé dès les faibles masses injectées), ce phénomène est lié à l'augmentation de la force ionique du milieu avec l'accroissement de la concentration en ion leader, ce qui conduit à une réduction des mobilités électrophorétiques apparentes des analytes et électroosmotique du support.



**Figure 3-9 : influence de la concentration en ion leader sur le temps d'élution des bandes de Sm et Eu. Diamètre interne du capillaire = 30  $\mu$ m, L<sub>sep</sub> = 70 cm, I = 1  $\mu$ A. Composition des électrolytes en tableau 3-1.**

Afin de rendre compte de l'influence de la concentration en ion leader sur la concentration des bandes de solutés il est nécessaire d'accéder à la longueur physique occupée par les bandes de soluté dans le système. Pour ce faire, les durées des plateaux d'élution présentées en Figure 3-9 sont corrigées par la vitesse de migration de chaque système. Cette vitesse est déterminée expérimentalement en fonction de l'intervalle de temps nécessaire à l'élution de l'ensemble de l'électrolyte leader du système.



**Figure 3-10 : influence de la concentration en ion leader sur la largeur des bandes de Sm et Eu. Diamètre interne du capillaire = 30  $\mu$ m, Lsep = 70 cm, I = 1  $\mu$ A. Composition des électrolytes en tableau 3-1.**

Les profils obtenus et présentés en Figure 3-10 permettent effectivement d'illustrer l'allongement des bandes avec la réduction de la concentration en ion leader. Ces résultats mettent en évidence deux aspects : i) pour un électrolyte leader de concentration donnée, l'augmentation de la quantité injectée se traduit par un allongement du plateau de migration afin de maintenir la concentration globale de la bande à une valeur inchangée. ii) comme prévue, la réduction de la concentration en ion leader entraîne un allongement du plateau de migration. La section du capillaire étant constante pour chacun des profils, à une masse injectée donnée, l'augmentation de la largeur du plateau occasionne une augmentation du volume de la bande et donc un abaissement de sa concentration en lien avec celle de l'électrolyte leader.

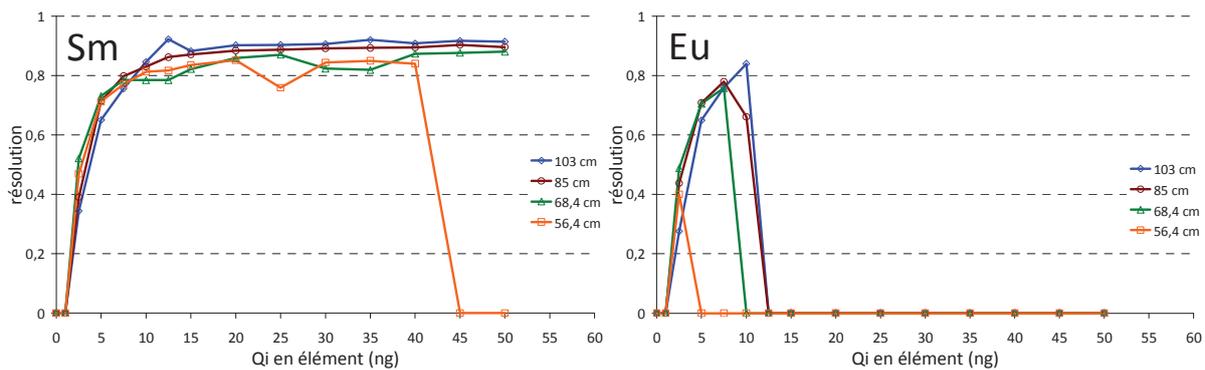
Ces observations permettent d'ores et déjà de faire un bilan confrontant les possibilités de miniaturisation apportées par l'ITP et les limites de fonctionnement des spectromètres de masse TIMS ou ICP-MS. Les TIMS demeurent des détecteurs massiques dont la limite actuelle pour effectuer la mesure à quelques pour mille d'incertitude des rapports isotopiques est de l'ordre de 5 ng. Dans l'approximation d'une résolution unitaire et d'une phase de collection idéale la réduction de la quantité massique manipulée ne peut être inférieure à cette valeur. A l'inverse, les techniques de détection par ICP-MS sont sensibles à la variation de la concentration des analytes. Pour des questions de précision des mesures, les rapports isotopiques sont intégrés sur un laps de temps de plusieurs secondes. Une quantité massique inférieure à 5 ng par élément peut convenir à la mesure des rapports isotopiques dans la mesure où la concentration de la bande demeure supérieure à la limite de quantification de ces dispositifs soit environ 0,1 mg/L. D'après les résultats présentés dans la figure 3-10 pour l'élément Eu, à la masse injectée de 5 ng une bande de 0,80 cm se forme ce qui conduit à l'élution d'une bande monoélémentaire de concentration constante d'environ 900 mg/L pendant un laps de temps d'approximativement 10 s conformément aux données présentées en figure 3-9. De telles concentrations ne sont cependant pas nécessaires voire même problématiques car trop intenses pour réaliser une mesure (une dilution en ligne avant introduction dans l'ICP-MS est

cependant nécessaire pour palier à la différence des débits de fonctionnement entre la séparation et la détection)

En conclusion, la réduction de la concentration en ion leader permet d'abaisser la concentration des bandes et donc d'accroître leur largeur. L'ion leader étant introduit dans le système afin d'ajuster le pH de l'électrolyte, sa concentration ne peut être réduite au delà d'une certaine limite, soit  $9,6 \cdot 10^{-3}$  mol/L. L'augmentation de la vitesse de séparation liée à la réduction de ce paramètre abaisse la durée d'élution des bandes pures ce qui s'écarte des besoins d'un protocole en ligne et complexifie la phase de collecte pour un protocole hors ligne. L'utilisation d'un générateur capable de réguler le courant électrique à des intensités plus faibles que  $1 \mu\text{A}$  compenserait cette évolution et permettrait l'analyse de masses proches de la limite de collecte pour une analyse par TIMS. Néanmoins la capacité de réduction des masses d'échantillons manipulées en TIMS est limitée à des valeurs supérieures ou égales à 5 ng par élément. Une détection par ICP-MS en revanche s'accorde parfaitement avec le principe de reconcentration de l'ITP. En effet, les résultats montrent que pour des quantités injectées inférieures à la limite de manipulation du TIMS (5ng) les concentrations des bandes sont nettement supérieures à la limite de détection des ICP-MS. Conjointement à la thématique développée dans ce manuscrit, la mesure des rapports isotopiques par ICP-MS est donc préférable à la TIMS.

#### 3.6.4 Influence de la longueur de séparation

La longueur de séparation constitue probablement un des paramètres les plus importants dans l'optimisation d'une séparation en ITP. Si cette longueur est insuffisante, la séparation des solutés en bandes monoélémentaires adjacentes n'est pas atteinte et des zones mixtes apparaissent entre les plateaux. Inversement, une surévaluation de la longueur de séparation entraîne une augmentation de la résistance équivalente du système conduisant à l'augmentation du champ électrique moyen et à la formation d'un gradient thermique nuisible à la séparation. Les profils de résolution de Sm et Eu obtenus pour quatre longueurs de séparation différentes sont présentés sur la Figure 3-11. A l'exception de la longueur de séparation sur laquelle porte l'étude, les autres conditions expérimentales sont sélectionnées dans le respect des précédentes optimisations.



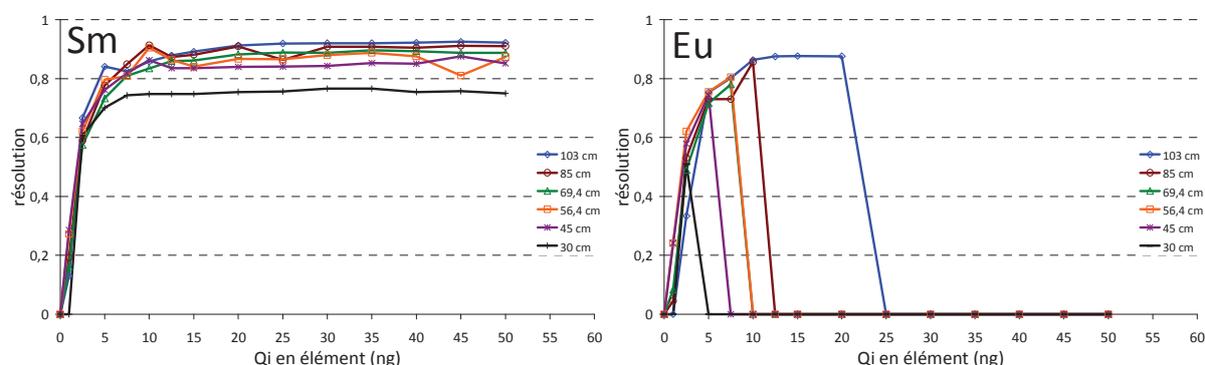
**Figure 3-11: influence de la longueur de séparation sur le profil de résolution de Sm et Eu. Diamètre interne du capillaire = 30  $\mu\text{m}$ ,  $I = 1 \mu\text{A}$ . Composition des électrolytes en tableau 3-1.**

Les résultats obtenus sont conformes aux tendances décrites par les équations 3-6 et 3-10 déduites du modèle diffusionnel. La quantité maximale injectable  $Q_{i,\text{max}}$  au-delà de laquelle les zones mixtes apparaissent et la résolution chute, augmente avec la longueur de séparation (Equation 3-4) : cette tendance est très visible pour Eu ; dans le cas de Sm, pour une longueur de séparation de 56,4 cm, la saturation du système est observée pour une quantité injectée de 40 ng ; pour les longueurs de séparation plus grandes,  $Q_{i,\text{max}}$  se situe au-delà de 50 ng qui est la plus grande masse injectée dans nos expériences. Pour une même longueur de séparation, la quantité maximale injectable est d'autant plus grande que la sélectivité est grande (Equation 3-4) : pour  $L_{\text{sep}} = 56,4 \text{ cm}$ , elle est égale à 40 ng pour Sm et environ 2,5 ng pour Eu qui correspond à une sélectivité beaucoup plus faible. La résolution maximale est une fonction croissante de la longueur de séparation et cette tendance est d'autant plus marquée que la sélectivité est faible (Equation 3-8) : pour Eu,  $R_{s,\text{max}}$  passe de 0,4 à 0,8 lorsque  $L_{\text{sep}}$  augmente de 56,4 cm à 103 cm ; pour Sm qui correspond à une sélectivité beaucoup plus grande, l'influence de  $L_{\text{sep}}$  sur  $R_{s,\text{max}}$  n'est quasiment pas visible.

### 3.6.5 Importance de la mobilité électroosmotique

Dans les conditions de l'électrolyte leader ( $\text{pH} = 4,5$ ), la présence de groupements silanols partiellement ionisés ( $\text{pK}_a \text{ Si-OH} = 5 \text{ à } 6$ ) sur la surface interne du capillaire conduit à la formation d'un écoulement électroosmotique dans le capillaire ainsi que l'adsorption des lanthanides. Ces deux phénomènes sont responsables de diffusions supplémentaires qu'il convient de limiter par un traitement de surface. De plus amples informations sur l'intérêt et l'optimisation du traitement des capillaires utilisés dans cette étude est disponible en annexe II. L'influence de la longueur de séparation comme paramètre d'optimisation est donc de nouveau évaluée, mais cette fois-ci sur un capillaire de silice préalablement traité au PVA (traitement (e)) (voir annexe II). Les profils de

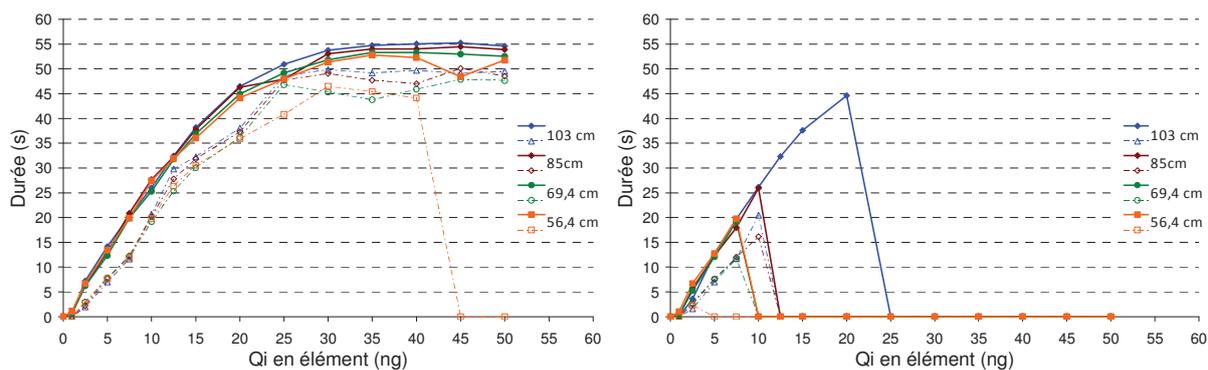
résolution des éléments Sm et Eu sont déterminés pour des longueurs de séparation et des électrolytes similaires aux conditions du paragraphe 3.6.5.1.



**Figure 3-12 : évolution du profil de résolution en fonction de la longueur de séparation pour un capillaire de silice traité au PVA. Diamètre interne du capillaire = 30  $\mu$ m,  $I = 1 \mu$ A. Composition des électrolytes en tableau 3-1.**

Pour l'élément Eu, la masse maximale analysable augmente progressivement avec l'allongement de la longueur de séparation jusqu'à observer pour la première fois la formation d'un palier de résolution. Concernant Sm, une augmentation de la résolution maximale est effectivement constatée lorsque la longueur de séparation augmente à une masse injectée donnée. La suppression de la mobilité électroosmotique du support par traitement PVA permet donc d'observer les tendances prévues par l'Equation 3-8. La capacité de séparation du système est également augmentée après traitement. Pour preuve, en présence d'écoulement électroosmotique, la capacité séparation pour Sm est limitée à 40 ng injecté pour un capillaire de 56,4 cm de longueur de séparation (Figure 3-11) tandis qu'après réduction du flux électroosmotique, le système est capable de séparer plus de 50 ng ( $Q_{i,max}$  n'a pas été atteinte) avec une longueur de séparation de 30 cm (Figure 3-13). Le même phénomène s'observe avec Eu pour lequel la capacité de séparation pour une longueur de séparation de 103 cm ne dépasse pas 10 ng sur capillaire non traité (Figure 3-11) contre 20 ng sur capillaire traité (Figure 3-13), soit un gain d'un facteur 2.

Sur capillaire non traité, la mobilité électroosmotique intervient comme une composante de la mobilité apparente des lanthanides. L'optimisation des conditions de complexation a été réalisée en présence de cette composante afin de définir les conditions limite de séparation des lanthanides par ITP et ce quelle que soit la nature du support utilisé. Par conséquent, la suppression ou du moins la réduction de la mobilité électroosmotique devrait améliorer la capacité de traitement du système et faciliter la séparation des analytes en réduisant les dimensions des zones diffuses au profit d'un allongement des bandes monoélémentaires.



**Figure 3-13 : évolution de la durée d'éluion des plateaux  $t_i^*$  en fonction de la quantité injectée pour différentes longueurs de séparation. Traits pleins : mesures réalisées sur un capillaire traité PVA, traits pointillés : mesures réalisées sur un capillaire non traité. Diamètre interne du capillaire =  $30 \mu\text{m}$ ,  $I = 1 \mu\text{A}$ . Composition des électrolytes en tableau 3-1.**

La Figure 3-13 compare la durée d'éluion des plateaux  $t_i^*$  pour des capillaires traités et non traités. Il apparait que le traitement des capillaires permet d'allonger significativement la durée de détection des plateaux, ce qui facilite la phase de mesure en ligne des rapports isotopiques : par exemple, pour Sm et Eu, des plateaux de plus de 12 s sont obtenus pour des quantités injectées de seulement 5 ng par élément et ceci pour une longueur de séparation faible (56,4 cm). La suppression de l'écoulement électroosmotique est donc nécessaire à l'optimisation du protocole d'analyse car elle procure une amélioration de la stabilité de la séparation, accroît la capacité de traitement du système, facilite l'obtention de résolutions élevées pour de faibles quantités injectées et réduit la longueur de séparation du système. En d'autres termes, la suppression de l'écoulement électroosmotique du support d'analyse permettra de réduire la quantité de dose en réduisant, d'un coté, la quantité de matériel nucléaire nécessaire à la réalisation de la séparation, et de l'autre, le temps de séparation soit, la durée d'exposition.

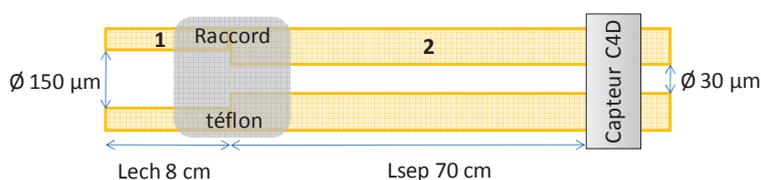
### 3.6.6 Réduction de la concentration des échantillons

Suite au procédé d'optimisation, il apparait que la quantité minimale requise par analyte ne peut être inférieure à :

- 5 ng dans le cas du couplage avec l'ICP-MS, ce qui permet d'avoir un temps d'éluion de plateau d'environ 12 s (Figure 3-13)
- 7,5 ng dans le cas de la mesure hors ligne par TIMS : avec une longueur correctement ajustée (70 cm) d'un capillaire de séparation traité au PVA, ceci permet l'obtention d'une résolution égale à 0,8 (Figure 3-13) et par conséquent d'une quantité collectable égale à 6 ng (Equation 3-2) dans l'approximation d'une collecte parfaite.

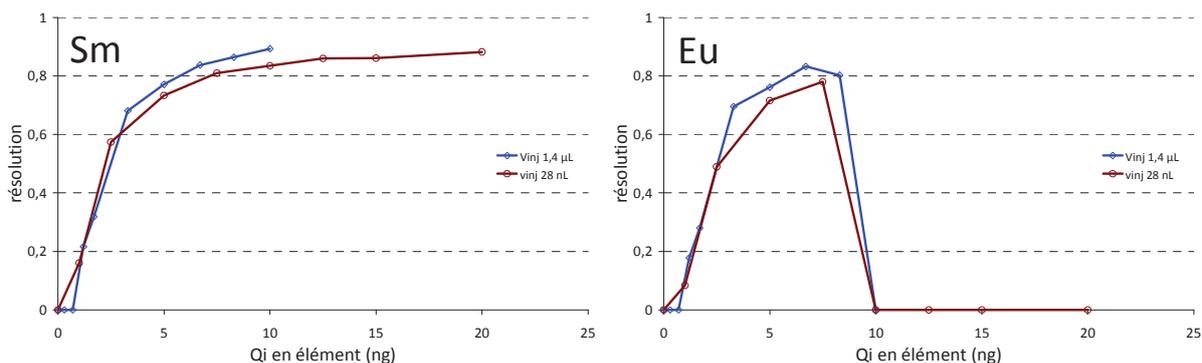
Toutefois, cette démarche d'optimisation a été réalisée en injectant un volume extrêmement faible, à savoir 28 nL. Ce volume d'injection ne représente qu'une faible fraction du volume dans lequel l'échantillon est récupéré à l'issue de la première étape du processus d'analyse des PF (fractionnement sur cartouche jetable) et qui est approximativement de 10  $\mu\text{L}$ . Or dans la pratique, la quantité de rayonnement perçue par les utilisateurs ne se limite pas à la seule quantité injectée en ITP mais prend en compte tout le matériel actif manipulé. Pour injecter 5 ng dans 28 nL (soit la concentration de 179  $\text{ng}/\mu\text{L}$ ) en ITP, il est donc nécessaire de partir d'un échantillon contenant 1,8  $\mu\text{g}$  d'élément. Il faut noter que, dans un échantillon réel, la proportion des analytes n'est pas homogène : ainsi ces 1,8  $\mu\text{g}$  ne représentent que la quantité de l'élément limitant. Pour diminuer la quantité de matériel radioactif manipulée, il est donc très important de réduire la concentration injectée en ITP tout en conservant la quantité injectée : le volume injecté doit donc être augmenté et ceci est possible grâce à l'effet de reconcentration de la technique : en effet, la concentration de l'analyte dans les bandes mono-élémentaires étant fixée par la concentration de l'ion leader (Equation 1-30), l'analyte fortement concentré dans l'échantillon est dilué lors de la séparation tandis que l'analyte à l'état de trace est quant à lui reconcentré.

Augmenter le volume d'injection sur un capillaire de faible diamètre interne est difficilement envisageable car cela oblige d'augmenter la longueur totale du capillaire et par la même occasion le temps de séparation, la résistance globale du système, les effets thermiques et le volume de déchets solides. Afin de réduire la longueur de la zone d'injection tout en augmentant fortement son volume, un capillaire de 150  $\mu\text{m}$  de diamètre interne et 8 cm de longueur a donc été connecté au capillaire de séparation de 30  $\mu\text{m}$  de diamètre interne et 70 cm de longueur (longueur de séparation) à l'aide d'un tube de téflon de 325  $\mu\text{m}$  de diamètre interne. Tous les capillaires du système sont traités au PVA selon le protocole de traitement (e) précédemment décrit. Les caractéristiques du système sont montrées sur la Figure 3-14.



**Figure 3-14 : schéma du dispositif de séparation à deux capillaires (1 et 2). Les capillaires de 375  $\mu\text{m}$  de diamètre externe sont introduits de force dans le raccord en téflon, ce qui permet au système de résister à des pressions de plusieurs bars sans générer de volume mort.**

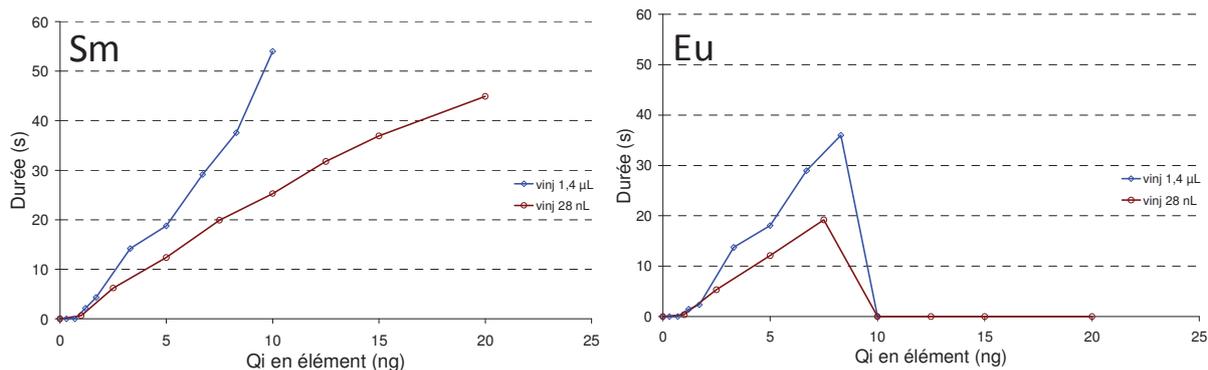
Dans cette configuration, le volume d'injection atteint 1,4  $\mu\text{L}$ , ce qui correspond à une dilution des échantillons par un facteur 50 par rapport au système à capillaire unique de 30  $\mu\text{m}$  de diamètre interne précédemment utilisé (volume d'injection : 28 nL). Les profils de résolution de ces deux systèmes sont comparés pour les deux éléments Sm et Eu sur la Figure 3-15.



**Figure 3-15 : comparaison des profils de résolution de Sm et Eu obtenus avec le système double capillaire (volume d'injection : 1,4µL) et le système mono capillaire (volume d'injection : 28 nL). Longueur de séparation = 70 cm, diamètre interne du capillaire de séparation = 30 µm, intensité du courant = 1 µA, électrolytes de compositions optimisées. Traitement PVA de tous les capillaires des systèmes. Composition des électrolytes en tableau 3-1.**

Pour chacun des éléments, les profils de résolution obtenus avec les systèmes mono capillaire et double capillaire présentent de fortes similitudes. Une légère augmentation de la résolution avec le système double capillaire est cependant à noter. Ceci peut probablement être lié à l'augmentation du volume de séparation consécutif à l'augmentation du volume car, bien que ce dernier soit considéré comme un paramètre indépendant, les ions contenus dans l'échantillon débutent leur séparation dans la zone mixte injectée. Dans le cas de la mesure isotopique hors ligne par TIMS et la nécessité de collecter 5ng, le système double capillaire permet de travailler à une résolution de 0,8 avec 6,3 ng (au lieu de 7,5 ng avec le système mono capillaire).

Bien que les résolutions restent similaires entre les deux systèmes, la quantité d'ions contenue dans le dispositif à deux capillaires est plus importante. La quantité de Coulomb nécessaire à la mise en mouvement des bandes jusqu'à la zone de détection est donc plus grande que dans le système mono capillaire. Les séparations étant cependant réalisées à intensité constante, l'apport de cette quantité de charge nécessite une durée plus importante qui se traduit par une réduction de la vitesse de migration et donc un allongement de la durée d'élution des bandes de solutés. Ceci est démontré sur la Figure 3-16 qui permet de comparer les durées d'élution des plateaux  $t_i^*$  obtenues avec les deux systèmes.



**Figure 3-16 : évolution de la durée d'éluion des plateaux  $t_i^*$  en fonction de la quantité injectée pour le système double capillaire (volume d'injection : 1,4µL) et le système mono capillaire (volume d'injection : 28 nL). Longueur de séparation = 70 cm, diamètre interne du capillaire de séparation = 30 µm, intensité du courant = 1 µA, électrolytes de compositions optimisées. Traitement PVA de tous les capillaires des systèmes. Composition des électrolytes en tableau 3-1.**

Comme annoncé, la durée de détection des bandes de soluté se trouve augmentée avec le système à deux capillaires. Ce système répond très favorablement à la contrainte du protocole de mesure en ligne (couplage avec l'ICP-MS) : une durée d'éluion des plateaux de 10 s est obtenue pour des quantités injectées en Sm et Eu de 2,5 ng, ce qui surpasse les attentes fixées en début d'optimisation du système de séparation. L'augmentation du volume d'injection liée à l'utilisation du système double capillaire (volume injecté : 1,4 µL) et l'effet de reconcentration de l'ITP permettent finalement de réduire considérablement la concentration nécessaire (qui n'est plus que de 2,5 ng dans 1,4 µL, soit 1,8 ng/µL) et par suite la quantité d'élément nécessaire à l'analyse : 18 ng suffisent au lieu de 1,8 µg, soit 100 fois moins.

### 3.7 Séparation des lanthanides dans les conditions optimisées

Afin de conclure ce chapitre sur l'optimisation des paramètres du système, les conditions de séparation des lanthanides avant et après optimisation sont résumées dans le Tableau 3-2.

**Tableau 3-2 : récapitulatif des conditions opératoires et des résultats obtenus avant et après leur optimisation.**

conditions analytiques	système initial	système optimisé pour la mesure hors ligne par TIMS	système optimisé pour la mesure en ligne par ICP-MS
diamètre interne des capillaires	75 µm	150 µm (injection) 30 µm (séparation)	150 µm (injection) 30 µm (séparation)
réduction EOF	non	oui	oui
longueur de séparation	92 cm	70	70
intensité de séparation	9 µA	1 µA	1 µA
volume injecté	1 µL	1,4 µL	1,4 µL
concentration des lanthanides	100 ng/µL	4,5 ng/µL	1,8 ng/µL
quantité injectée par élément	100 ng	6,3 ng	2,5 ng
concentration de l'ion leader	Ajustée*	$9,5 \cdot 10^{-3}$ mol/L	$9,5 \cdot 10^{-3}$ mol/L
<b>résultats moyen par élément</b>			
résolution	0,62	0,78	0,7
quantité collectable	62 ng	5 ng	1,8 ng
durée d'élution d'un plateau	13 s	30 s	10 s
quantité en élément limitant après séparation sur colonne ouverte	1000 ng	45 ng	18 ng

\* apport de  $\text{NH}_4^+$  sous forme d'acétate d'ammonium combiné à un ajustement du pH par une solution d'ammoniac qui rend difficile l'estimation de sa quantité finale

Les isotachophorégrammes obtenus pour la séparation des 13 lanthanides avec le système avant optimisation et le système optimisé pour l'analyse hors ligne par TIMS sont présentés sur la Figure 3-17.

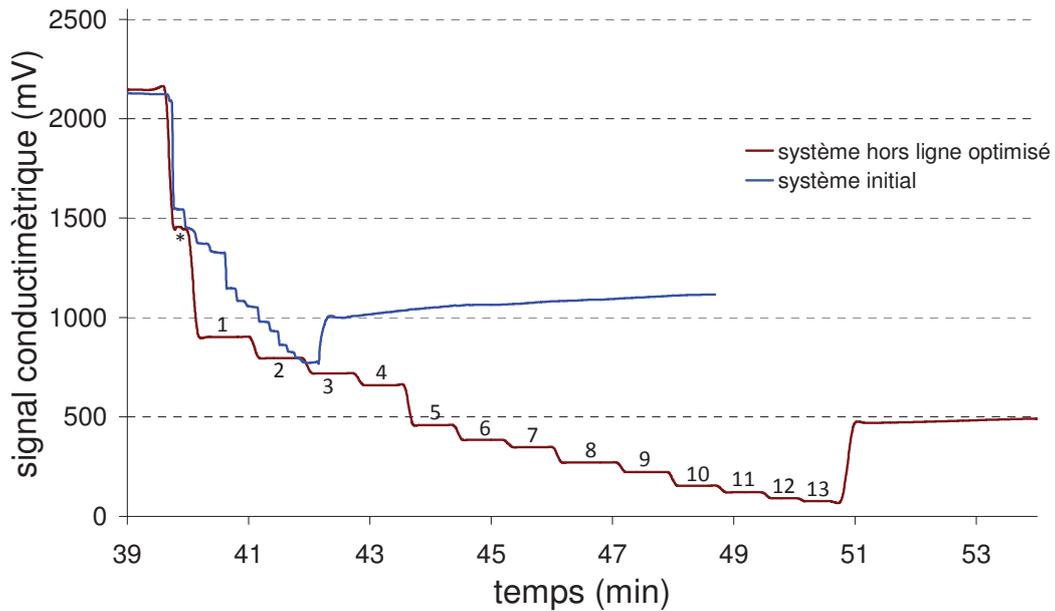


Figure 3-17 : comparaison des isotachoporégrammes d'un mélange de 13 lanthanides avant et après optimisation pour la mesure isotopique hors ligne. Les conditions opératoires de chacun des systèmes sont données dans le Tableau 3-2. \* impureté, 1 La, 2 Ce, 3 Pr, 4 Nd, 5 Sm, 6 Eu, 7 Gd, 8 Tb, 9 Dy, 10 Er, 11 Tm, 12 Yb, 13 Lu. Composition des électrolytes en tableau 3-1.

### 3.8 Conclusion

L'exploitation du modèle diffusional développé par Bocek et al. nous a permis d'identifier les paramètres matériels responsables de la dispersion aux interfaces des bandes de solutés. Ces paramètres ont pu être successivement étudiés en fonction de leur influence sur la résolution. La méthode graphique de détermination de la résolution utilisée permet de définir d'après le profil en escalier du signal ITP, la proportion de la bande d'élution présentant une pureté minimale de 99,7%. Initialement limité à l'injection de 100 ng de matière par élément et une résolution moyenne de 0,62, le procédé d'optimisation a finalement permis de réduire la quantité injectée à une masse de 5 ng par élément pour une résolution moyenne de 0,8 dans le cas le plus difficile, à savoir la détermination des rapports isotopiques par TIMS après collection en sortie d'ITP. Parmi les paramètres étudiés, il semble que la réduction de la section du canal de séparation n'apporte pas d'amélioration de la résolution maximale de séparation. Cependant, cette réduction de section oblige les bandes de solutés à s'allonger dans le système, ce qui profite à la résolution pour les faibles masses injectées. N'intervenant pas dans la séparation des analytes, la concentration de l'ion leader conditionne la concentration des bandes de solutés et sa réduction provoque une réduction de la concentration des bandes de solutés et leur allongement dans le système, ce qui contribue à

l'amélioration de la résolution pour les faibles masses injectées (comme la réduction de section du capillaire). Le contrôle de ces deux paramètres (section du capillaire et concentration de l'ion leader) combiné au contrôle de l'intensité du courant permet de répondre parfaitement aux attentes des protocoles de mesure des rapports isotopiques qu'ils soient de type hors ligne (TIMS) ou en ligne (ICP-MS). En effet, l'intensité se limitant à la mise en mouvement des ions sans influencer sur la résolution, sa modulation au cours de la séparation pourrait permettre la réduction du temps d'analyse tout en simplifiant les phases de détection et de collection. La réduction de la mobilité électroosmotique du support par traitement de surface au PVA améliore visiblement la capacité de séparation du système permettant de réduire la longueur de séparation sans perte de résolution. Enfin, grâce au phénomène de reconcentration de l'échantillon lors de la séparation par ITP, il est également possible de réduire la concentration des échantillons injectés, ce qui permet d'abaisser la quantité de dose délivrée par l'échantillon tout en injectant la quantité massique minimale nécessaire à la détection ou à la collection des ions d'intérêt.

Si l'optimisation de tous les paramètres a permis de satisfaire aux contraintes de détection par spectrométrie de masse, la nature du protocole de mesure (TIMS ou ICP-MS) suscite des interrogations. Dans le cas d'un protocole hors ligne par TIMS, l'injection d'une masse minimale de 6.3 ng de matière par élément permet après optimisation la collection de 5 ng d'élément et, même dans l'hypothèse d'une phase de collection parfaite, cette opération semble délicate à réaliser techniquement. De plus, la conception d'une plateforme analytique jetable intégrant un micro-collecteur intégré alourdira le coût unitaire du système. L'utilisation du protocole en ligne par couplage avec l'ICP-MS s'avère plus facilement réalisable, mais également mieux adapté à la problématique. Ce protocole est en effet totalement automatisable, ce qui réduirait les manipulations à la seule phase d'injection. Les contraintes de détection avec l'ICP MS imposent d'obtenir après séparation une bande d'analyte de concentration constante pendant une durée de 10 s. D'après les résultats acquis à l'issue du procédé d'optimisation, l'injection de 5 et 2,5 ng d'élément permet de disposer respectivement de plateaux de détection de 30 et 10 s. Une augmentation du volume d'injection combinée à une réduction de l'intensité de séparation lors de la phase de mesure permettrait encore d'abaisser la quantité minimale à injecter.

La formulation des électrolytes et la définition des paramètres de séparation étant désormais optimisées, la conception du microsystème séparatif peut désormais débiter.

## Références bibliographiques

- [1] Gebauer, P., Bocek, P., *Journal of Chromatography A* 1985, 320, 49-65.
- [2] Gebauer, P., Bocek, P., *Electrophoresis* 1995, 16, 1999-2007.
- [3] Brown, J. F., Hickley, J. O. N., *Journal of Chromatography A* 1975, 109, 218-224.
- [4] Brown, J. F., Hickley, J. O. N., *Journal of Chromatography A* 1975, 109, 225-231.
- [5] Mikkers, F. E. P., Everaerts, E. M., Peek, J. A. F., *Journal of Chromatography A* 1979, 168, 293-315.
- [6] Gilges, M., Kleemiss, M. H., Schomburg, G., *Analytical Chemistry* 1994, 66, 2038-2046.

## chapitre 4 Séparations sur microsysteme

L'étude précédemment réalisée de l'influence des sources de dispersion sur les conditions de travail permet désormais de proposer une géométrie de microsysteme adaptée à la séparation des lanthanides par ITP. Ces résultats ont également mis en évidence les avantages d'un protocole en ligne, tant du point de vue limitation des volumes de déchets que de celui de l'automatisation du protocole ainsi que de la réduction des débits de doses. Dans un premier temps, il convient de présenter les différentes étapes de conception d'un microsysteme, puis dans un second temps, d'établir un protocole d'utilisation de l'ITP qui soit extensible au couplage avec l'ICP-MS et compatible avec une utilisation en BAG pour le maniement d'échantillons actifs. Deux générations de microsystemes ont ainsi été conçues. La première, de géométrie non optimisée, est destinée à identifier les besoins de conception liés à ce nouvel instrument et à transposer la séparation des lanthanides par ITP sur un support miniaturisé. Le deuxième prototype correspond quant à lui à un dispositif opérationnel, optimisé pour la séparation des lanthanides par ITP et compatible avec une utilisation en couplage direct avec un spectromètre ICP-MS dans une boîte à gants.

### 4.1 Matériel

#### 4.1.1 Nature du substrat

Parmi la multitude de polymères utilisés pour la conception de microsystemes séparatifs, notre choix s'est porté sur le copolymère d'oléfine cyclique (COC) de type Zeonor 1020R (ZEON, Maison-Laffitte, France).

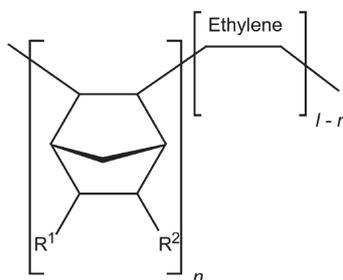


Figure 4-1 : structure moléculaire du COC ZEONOR.

Les caractéristiques mécaniques de ce matériau le prédisposent aux techniques d'usinage et de fabrication par pressage à chaud (hot embossing). Ses propriétés électriques lui permettent de résister à des champs électriques élevés. Son inertie chimique et son hydrophobicité le rendent

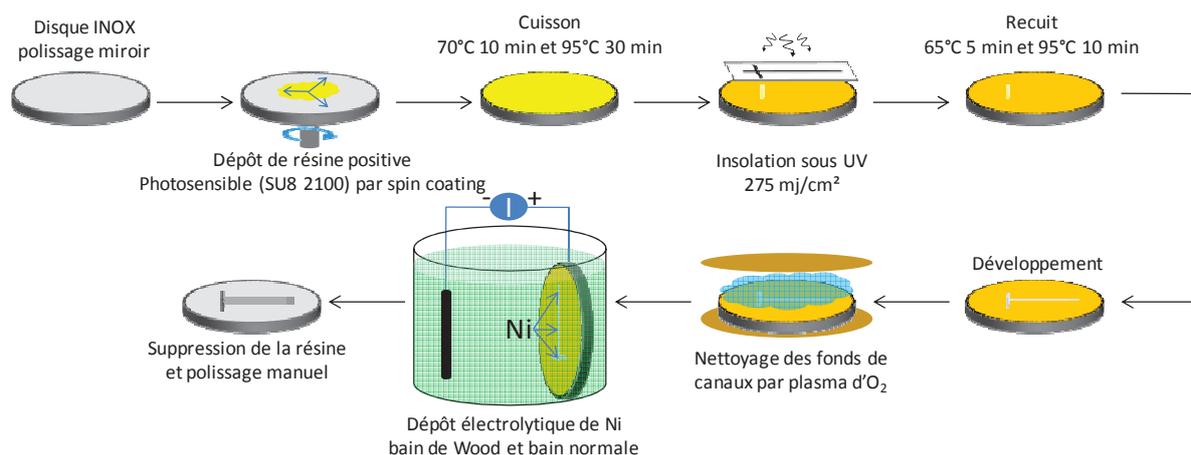
compatible avec une grande majorité des solvants organiques sans crainte de modification de ses propriétés de surface lors de l'analyse. Enfin, le faible coût de cette matière première coïncide avec les besoins d'un système jetable [1].

## 4.1.2 Procédé de fabrication

La conception d'un microsysteme par hot embossing nécessite de disposer au préalable d'un moule de répliation qui présente une structure inverse à celle du systeme visé. La fabrication d'un moule impose l'utilisation des techniques de photolithographie. Il s'agit d'une démarche de conception longue et coûteuse : un moule est dédié à une seule géométrie de microsysteme. Dès la réalisation du moule achevée, la face structurée du microsysteme peut toutefois être répliquée en un minimum de temps et ceci presque indéfiniment. L'usinage de cette face et son collage avec la face non structurée viennent clore le procédé de fabrication du microsysteme.

### 4.1.1.1 Fabrication du moule de répliation

Afin d'accroître la résistance du moule à l'usure, il est indispensable d'utiliser des matériaux capables de supporter de fortes contraintes mécaniques. Pour cette raison, le moule se compose d'un disque inox sur lequel est construit le réseau de canaux par électrodéposition de nickel. Le procédé de fabrication développé par l'Institut des Nanotechnologie de Lyon (INL) comporte une série d'étapes unitaires qui sont schématiquement représentées sur la Figure 4-1.



**Figure 4-2 : processus de fabrication du moule de répliation.**

La première étape consiste à polir manuellement un disque d'INOX de 65 mm de diamètre à la pâte diamant afin d'obtenir une finition miroir. Ce disque est ensuite rincé par immersion dans différents bains (acétone, puis alcool) afin d'éliminer les résidus d'abrasion et les dépôts graisseux. Dès lors, le

support inox est introduit en salle blanche pour subir un procédé de photolithographie afin de localiser les zones de fixation du nickel. Par spin coating avec le dispositif Delta RC80 (SUSS MicroTec S.A.S., Lyon, France), une résine époxy photosensible positive de type SU8 2100 (Chimie Tech Services, Antony, France) est déposée au centre du disque. Une programmation de la vitesse de rotation à 500 tour/min pendant 15 s assure dans un premier temps une diffusion de la résine sur l'ensemble du disque. En fonction des recommandations du distributeur, la seconde phase de rotation permet d'obtenir le dépôt d'un film homogène et d'épaisseur approximativement contrôlée. Dans le cas d'un film d'épaisseur de 150  $\mu\text{m}$ , les consignes de vitesse de la seconde phase sont 2300 tour/min pendant 30 s. Le dépôt de résine achevé, une première cuisson de la pièce permet de faire légèrement durcir la résine et la préparer ainsi à la phase d'insolation. La cuisson s'effectue sur plaque chauffante programmée à la température de 70°C pendant 10 min. La pièce est ensuite retirée jusqu'à ce que la plaque atteigne 95°C, température à laquelle la pièce est de nouveau chauffée pendant 30 min. La résine utilisée est une résine positive, ce qui signifie qu'elle polymérise sous l'effet d'un rayonnement UV. Afin de soustraire de l'emplacement futur des canaux, la polymérisation de la résine est donc empêchée en intercalant un photomasque entre la source de rayonnement et la résine. Ce photomasque qui reprend le design du système, est imprimé à l'échelle 1 : 1 sur un support plastique transparent avec une résolution minimale d'impression de 2400 DPI. L'insolation utilise un aligneur SET MA701 (SUSS MicroTec S.A.S., Lyon, France) équipé d'une lampe à vapeur de mercure. Un système de filtre supprime les longueurs d'ondes inférieures à 350 nm qui nuisent à la polymérisation verticale de la résine en se réfléchissant sur le support solide. La durée d'exposition est paramétrée en fonction de la puissance transmise par la lampe afin de délivrer entre 270 et 280  $\text{mJ}/\text{cm}^2$ . Une seconde étape de cuisson sur plaque chauffante à 65°C pendant 5 min, puis 95°C pendant 10 min achève la solidification complète de la résine. La pièce est désormais prête pour la phase de développement qui consiste à solubiliser la résine non polymérisée par immersion dans un bain de SU8 Developer (Chimie Tech Services, Antony, France) sous ultra-sons. La solubilisation de la résine non polymérisée n'est cependant pas parfaite et des résidus subsistent dans les fonds des canaux : aussi, après différents rinçages (à l'isopropanol et à l'eau ultra pure) et séchage sous azote, la pièce est exposée pendant quelques secondes à un plasma d'oxygène et de nouveau rincée à l'isopropanol pour éliminer les résidus de résine oxydée à la surface de la pièce mais également dans les canaux. A la suite de ces différentes étapes de dépôt, cuisson et suppression de la résine photosensible, les canaux se dessinent de façon négative sur la pièce avec pour limite de profondeur le support INOX. Leur largeur est contrôlée au profilomètre en plusieurs points.

La méthode d'électrodéposition est une technique d'élaboration de couche mince sur support conducteur. Le dispositif se compose d'une anode inerte de platine et d'une cathode reliée à la pièce, le tout immergé dans une solution d'électrolyte. Lorsqu'un potentiel électrique est appliqué

entre les deux électrodes, un procédé d'oxydoréduction s'engage avec la formation d'une couche de métal sur la cathode et un dégagement gazeux à la contre électrode. La localisation de ce dépôt dans le fond des canaux dépourvus de résine impose de masquer toutes les surfaces conductrices de la cathode par une résine isolante. L'électrodéposition permet la formation de film métallique de Ni dont l'épaisseur peut atteindre plus de 100  $\mu\text{m}$ . La phase de dépôt est mieux contrôlée avec l'application d'un potentiel électrique constant, mais demande le dépôt préalable d'un film conducteur de même nature que celui à réaliser. Pour ce faire, la phase d'électrodéposition du moule comporte l'utilisation de deux bains d'électrolytes de nickel différents. Le premier, dit bain de Wood, permet d'accrocher le Ni à la surface du support en inox après une passivation des surfaces apparentes par immersion pendant 10 s dans une solution d'acide sulfurique à 10%. La seconde phase de dépôt consiste à venir fixer une couche plus importante par l'utilisation d'un second bain de Ni. L'épaisseur du film est contrôlée par l'intermédiaire du potentiel électrique appliqué et du temps. La composition des deux bains d'électrodéposition ainsi que les conditions expérimentales pour un dépôt de 150  $\mu\text{m}$  d'épaisseur, sont rassemblées en annexe III. Une fois l'étape d'électrodéposition achevée, la pièce est de nouveau rincée par immersion dans l'eau, puis l'isopropanol et finalement dans un bain de Remover PG (Chimie Tech Services, Antony, France) porté à 50°C sous ultra-sons jusqu'à dissolution complète de la résine polymérisée. La hauteur du relief correspondant aux futurs canaux est finalement mesurée au profilomètre, puis ajustée par polissage afin d'enlever le surplus de matière et d'assurer un bon état de surface du fond des canaux. Le microsystème comporte deux faces : la face supérieure qui contient le réseau de canaux et la face inférieure qui se compose d'une plaque de COC non structurée. La fabrication de ces pièces nécessite l'utilisation de deux moules différents. Toutefois, la fabrication du moule de la plaque inférieure se limite à la première étape qui consiste à polir manuellement le disque d'inox et supprimer toute impureté par rinçages.

#### 4.1.1.2 Hot embossing

La réplique du microsystème par hot embossing est un procédé simple et rapide qui ne nécessite que l'utilisation d'une presse chauffante. Le processus de réplique est identique quelle que soit la face du microsystème fabriquée. Ainsi, le moule sélectionné est monté sur la presse et environ 13 g de granules amorphes de COC sont disposées à sa surface (cette quantité permet d'obtenir un disque de COC de 6.5 cm de diamètre et 5 mm d'épaisseur). La température du système est alors portée à une température de 120°C qui est légèrement supérieure à la température de transition vitreuse du COC ( $T_g = 105^\circ\text{C}$ ) [1]. Le choix de cette consigne en température est basé sur les travaux de Shadpour et al. [2] et a pour intérêt de limiter les écarts de réplique entre le système moulé et la géométrie

du moule. La pression des mors est portée à 40 Bar pendant 2 min, puis le refroidissement du système est enclenché jusqu'à atteindre la température de 87°C en laissant la pression décroître librement durant ce laps de temps. Une fois la consigne atteinte, le moule est enlevé de la presse et la face du microsysteme est démoulée.

#### 4.1.1.3 Usinage

Pour répondre au besoin de fonctionnement de l'ITP, le microsysteme doit disposer d'entrées et de sorties usinées. Cette étape utilise une unité d'usinage de précision telle que l'unité OpticMac5 spécialement conçue par l'un des partenaires de ces travaux de thèse et commercialisée par la société Advanced REsearch MACHines for Polymer (AREMAC-Polymer) en cours de création. Les usinages sont exclusivement réalisés sur la face structurée du microsysteme (face supérieure), ce qui évite les erreurs d'alignement lors de la phase de collage. Dans sa configuration finale (2<sup>ème</sup> génération), le microsysteme intègre trois types de connexions :

##### Connexion pompe péristaltique – microsysteme (Figure 4-3 A) :

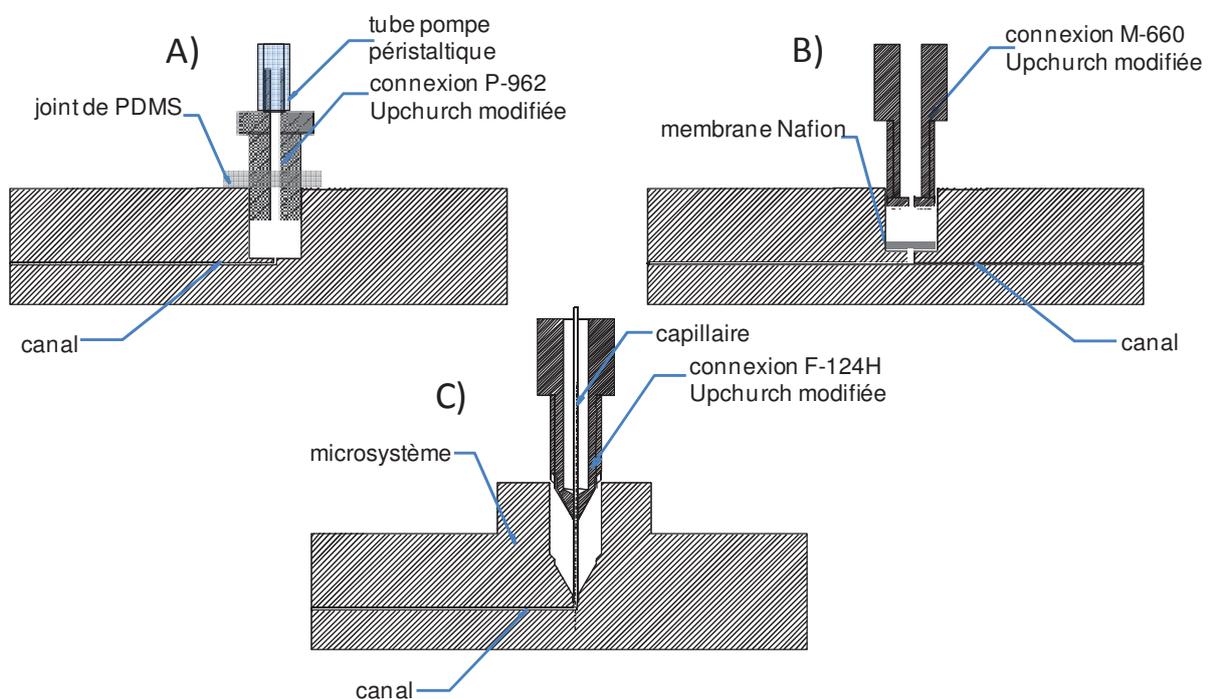
A l'extrémité des canaux de remplissage, un trou traversant est réalisé à l'aide d'une fraise cylindrique de 2 mm. La partie supérieure du trou est taraudée sur une profondeur de 2 mm pour recevoir une connexion P-962 Upchurch modifiée (Cluzeau info labo, St Foy la Grande, France) qui fait la liaison entre le microsysteme et une pompe péristaltique ISMATEC Reglo Digital équipée d'un tube de Tygon de 180 µm de diamètre interne (Cluzeau info labo, St Foy la Grande, France). L'étanchéité entre le microsysteme et la connexion est réalisée par une rondelle de poly diméthyl siloxane (PDMS).

##### Connexion membrane – microsysteme (Figure 4-3 B) :

Comme il sera discuté prochainement, il est indispensable de réaliser le contact électrode / électrolyte à l'extérieur du canal de séparation. Pour ce faire, dans les microsystemes de 2<sup>ème</sup> génération, une connexion intégrant une membrane poreuse est créée à l'aide de deux fraisages concentriques. Le premier d'un diamètre de 2 mm et fileté, sert de logement à une membrane de Nafion (Sigma Aldrich, St Quentin Fallavier, France) de 50 µm d'épaisseur. Le second fraisage de 200 µm de diamètre met en relation la membrane avec le canal de séparation et permet le transfert électrique. L'herméticité du système est assurée par compression de la membrane avec une connexion M-660 Upchurch modifiée dont la partie supérieure sert de réservoir d'électrolyte et de logement pour l'électrode.

### Connexion capillaire – microsysteme (Figure 4-3 C) :

Il s'agit de la connexion la plus complexe du système car elle nécessite la réalisation de trois fraisages concentriques. Le premier utilise une fraise conique d'un diamètre de 1 mm : le cône obtenu sert de butée de serrage à une connexion F-124H (Cluzeau info labo, St Foy la Grande, France) dont le filetage a été modifié. Le fraisage conique accueille en son centre un fraisage cylindrique d'un diamètre de 400  $\mu\text{m}$  sur l'équivalent de 1 mm de profondeur. Ce deuxième usinage permet l'insertion du capillaire de silice et son alignement de façon concentrique à un troisième fraisage cylindrique de 200  $\mu\text{m}$  de diamètre qui relie le canal de séparation au capillaire. Dans cette configuration, la connexion capillaire – microsysteme permet l'utilisation d'un capillaire de 360  $\mu\text{m}$  de diamètre externe (mais de tout type de diamètre interne) et ceci sans volume mort.



**Figure 4-3: représentation des différentes connexions intégrées au microsysteme. A) pompe péristaltique - microsysteme, B) membrane (électrode) - microsysteme, C) capillaire - microsysteme.**

#### 4.1.1.4 Collage

Pour réaliser le collage du microsysteme, la face non structurée du système est maintenue au dessus d'un bain de méthyl cyclohexane pendant 30 s et immédiatement mise en contact avec la face structurée coté canaux. Les deux pièces sont maintenues l'une contre l'autre sous presse à 20 Bar et 87°C pendant 3 min.

## 4.2 Microsystème de première génération : transposition de la séparation des lanthanides par ITP sur système miniaturisé fermé

### 4.2.1 Présentation générale du dispositif

Le transfert de la séparation sur capillaire à un microsystème jetable implique de concevoir un dispositif de géométrie simple, peu onéreux et qui offre les mêmes fonctionnalités qu'un appareil commercial d'un point de vue facilité d'utilisation. Une des difficultés d'un protocole de séparation par ITP est d'arriver à emprisonner l'échantillon entre les électrolytes leader et terminal lors de l'étape d'injection. Avec un échantillon radioactif, tous les électrolytes en contact avec l'échantillon doivent être considérés comme contaminés et leur élution hors du microsystème est interdite. D'autre part, pour parvenir à réaliser des analyses répétables, le volume injecté doit être maîtrisé. Des contraintes de séparation imposent également le maintien de l'équilibre de complexation entre les éléments à séparer et l'agent complexant qui migre en sens inverse depuis l'électrolyte leader. Toutes ces recommandations ont été prises en compte afin de proposer une première géométrie de microsystème. Ce travail a été réalisé en parallèle de l'étude d'optimisation présentée en chapitre 3 et afin de mettre en évidence les difficultés rencontrées lors de l'analyse les sections des canaux ont été volontairement augmentées par rapport aux dimensions présentées dans le Tableau 3-2. Le schéma du microsystème de première génération est présenté sur la Figure 4-4.

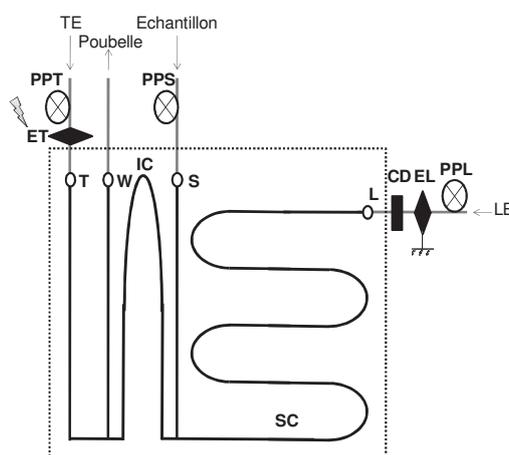


Figure 4-4 : schéma du microsystème de première génération. Largeur/hauteur des canaux : 300/150  $\mu\text{m}$ . Longueurs respectives des canaux d'injection IC et de séparation SC : 30 et 120 mm. T et S : connexions permettant le remplissage en électrolyte terminal TE et en échantillon par l'intermédiaire des pompes péristaltiques PPT et PPS. W : connexion tube péristaltique-microsystème reliée à un réservoir poubelle. L : connexion à un capillaire de 75  $\mu\text{m}$  de diamètre interne et 20 cm de longueur permettant le positionnement du détecteur conductimétrique CD et le remplissage en électrolyte LE à l'aide de la pompe péristaltique PPL. ET et EL : emplacement des électrodes du générateur.

## 4.2.2 Fonctionnement du dispositif

Les dimensions réduites des canaux et les débits de remplissage utilisés ( $< 10\mu\text{L}/\text{min}$ ) garantissent un régime d'écoulement laminaire des électrolytes [3] : le nombre de Reynolds à un débit de  $2\mu\text{L}/\text{min}$  n'excède pas 150. L'utilisation de pompes péristaltiques inspirée du système développé par Kaniansky et al. [4] permet de travailler en système clos : lorsque les pompes péristaltiques sont à l'arrêt, la compression des tubes par les galets joue le rôle d'une vanne fermée. L'incompressibilité des liquides et le régime laminaire d'écoulement réduisent les diffusions aux intersections des canaux. Le protocole de fonctionnement du microsystème présenté sur la Figure 4-4 est résumé dans le Tableau 4-1.

**Tableau 4-1 : protocole de fonctionnement du microsystème de 1ère génération.**

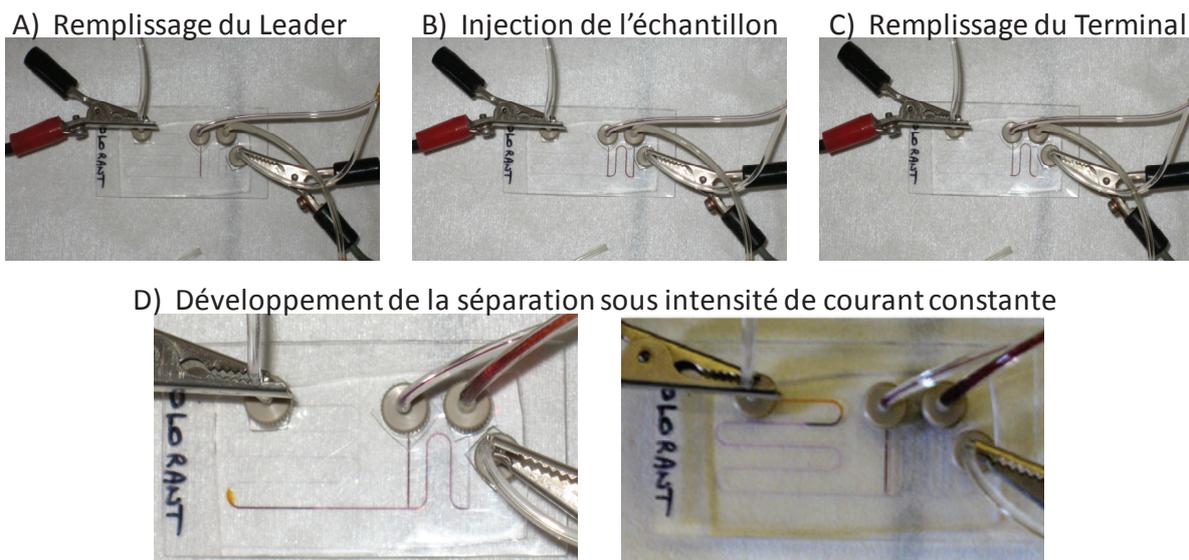
étape	intensité ( $\mu\text{A}$ )	état des pompes		
		PPT	PPS	PPL
1 injection du leader injection de	0	■	■	□
2 l'échantillon	0	■	□	■
3 injection du terminal	0	□	■	■
4 séparation	X	■	■	■

□ en fonctionnement

■ à l'arrêt

Un fonctionnement alterné des pompes de remplissage permet d'introduire successivement dans le système l'électrolyte leader, l'échantillon et l'électrolyte terminal. L'échantillon se retrouve finalement emprisonné entre les deux électrolytes. Les pompes péristaltiques utilisées étant paramétrables en volume, ceci permet de réduire la quantité de déchets liquides. Toutefois, pour plus d'exactitude sur la quantité injectée, le volume d'échantillon est fixé par le volume du canal d'injection IC, le surplus étant évacué vers la poubelle de stockage.

Afin de visualiser le procédé de séparation par ITP et les éventuels phénomènes de diffusion à l'intersection des canaux, un mélange de deux colorants cationiques, le violet de méthyle et la rhodamine 6G, a été séparé avec le système d'électrolytes optimisé pour la séparation des lanthanides (Figure 4-5). Dans cette expérience, les contacts électriques étaient réalisés directement par l'intermédiaire de tubes métalliques incorporés sur les tubes péristaltiques en position ET et EL (Figure 4-5). De cette façon l'intensité de séparation délivrée par un générateur SL50 (SPELLMAN, Pulborough West Sussex, Royaume-Uni) est directement appliquée au sein du canal de séparation.

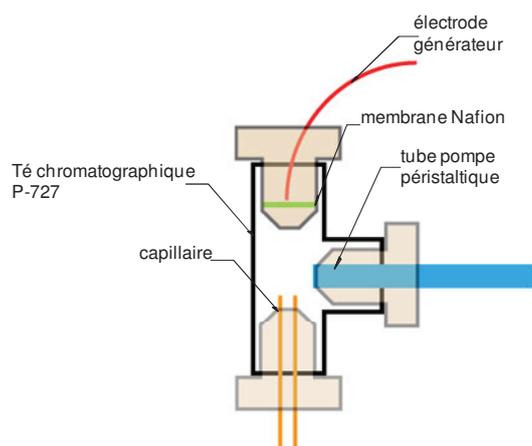


**Figure 4-5 : séparation d'un mélange de deux colorants (méthyle violet et rhodamine 6G) par ITP sur microsysteme de première génération. Electrolytes : optimisés pour la séparation des lanthanides. Intensité : 9  $\mu$ A.**

Le système utilisé ne disposait pas de la connexion capillaire – microsysteme permettant la détection par conductimétrie. Mais la différence de couleur entre les colorants permet la visualisation de la séparation à l'œil nu (Figure 4-5). Les photographies A à C permettent d'observer le processus de remplissage et de constater l'emprisonnement de l'échantillon dans la boucle d'injection. Le canal de remplissage de l'échantillon et le drain vers la poubelle n'étant reliés à aucune électrode, se trouvent isolés électriquement et l'application du courant électrique constant entre les extrémités du système provoque uniquement la mise en mouvement de l'échantillon situé dans la boucle d'injection. Conformément à la théorie de l'ITP, la séparation des analytes se développe en fonction de leur mobilité électrophorétique et conduit à la formation d'une succession de bandes monoélémentaires (Figure 4-5 D). Ce système démontre aussi l'absence de diffusion aux intersections des canaux.

#### 4.2.3 Conception d'une électrode en ligne pour la séparation des lanthanides

Un dispositif similaire au système précédent mais équipé en plus d'une connexion capillaire – microsysteme a été utilisé pour réaliser la séparation d'un mélange de 13 lanthanides. Cependant, la faible mobilité des lanthanides complexés conduit à une élévation du champ électrique local et à l'électrolyse des solutions au contact des électrodes métalliques. Les bulles formées s'accumulent dans le canal de séparation jusqu'à en occuper complètement la section et provoquer la rupture du circuit électrique. Ces anomalies de fonctionnement ont imposé le développement d'une nouvelle électrode (Figure 4-6).



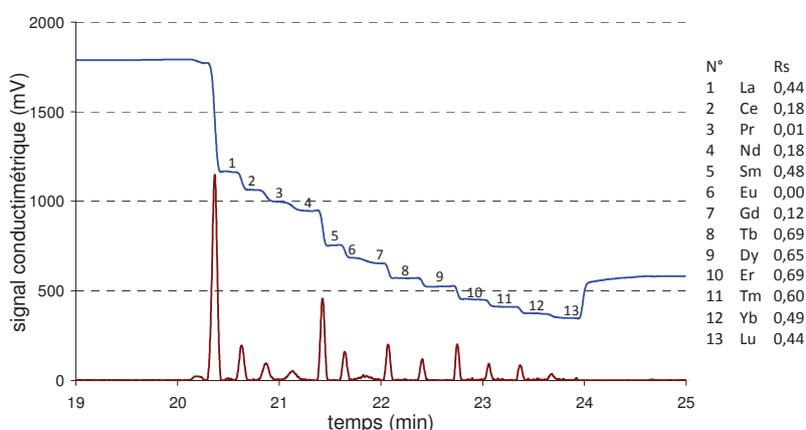
**Figure 4-6 : électrode en ligne pour microsysteme.**

Dans cette nouvelle configuration, les électrodes (anode et cathode) se composent d'un té chromatographique 1/16 de pouce en PEEK. Une membrane de Nafion de 50  $\mu\text{m}$  d'épaisseur est insérée entre la fêrle et la connexion chromatographique supérieure. Le haut de la connexion est rempli d'électrolyte dans lequel l'électrode du générateur est plongée : ainsi le contact électrode/électrolyte est déporté à l'extérieur des canaux. L'électrolyse n'est pour autant pas supprimée, mais les bulles formées sont contenues dans la partie supérieure de la connexion et ne peuvent pas franchir la membrane de Nafion qui par ailleurs présente une perméabilité suffisante pour que le contact électrique soit assuré. La connexion directe d'une pompe péristaltique sur l'entrée horizontale du té assure un remplissage du système sans modification du protocole établi dans le Tableau 4-2. Le positionnement de ce type d'électrode aux points ET et EL du microsysteme (Figure 4-4) permet de réaliser la séparation des 13 lanthanides.

#### 4.2.4 Application à la séparation des lanthanides sur microsysteme de première génération

L'isotachoporégramme obtenu (Figure 4-7) présente effectivement un profil en "escaliers" caractéristique d'une séparation par ITP, ce qui indique que la séparation est bien effective et que les conditions expérimentales d'injection et d'application du courant électrique sont suffisamment maîtrisées pour mener à bien la séparation. Le calcul des résolutions à partir du signal dérivé (voir paragraphe 3.1) affiche cependant des résultats faibles, avec notamment des résolutions quasiment nulles pour les éléments Eu et Pr. Il faut tout d'abord noter que ces mesures ont été obtenues sur le microsysteme de 1<sup>ère</sup> génération qui n'a pas été optimisé (quantité injectée relativement importante (environ 100 ng par élément) pour un volume de séparation faible (5,4  $\mu\text{L}$ ). D'autre part, il faut mentionner que les conditions ne sont pas réunies pour travailler avec un système fermé : à pH

acide, la présence d'un écoulement électroosmotique cathodique à la surface du COC a été mise en évidence [5, 6] et, le système étant hydrodynamiquement clos dans la direction de l'écoulement par les galets de la pompe péristaltique PPL (qui est à l'arrêt durant la séparation), cette situation génère une augmentation de pression en amont de la pompe et par suite un contre-courant hydrodynamique (en sens inverse de l'écoulement électroosmotique) qui contribue à la dispersion des bandes et à la diminution des résolutions. L'amélioration des résultats implique donc de concevoir une deuxième génération de microsystème qui tiendra compte des études d'optimisation réalisées au Chapitre 3 et qui fonctionnera en système ouvert (le bon fonctionnement d'un système fermé réclame en effet la suppression totale de tout écoulement électroosmotique).



**Figure 4-7 : séparation par ITP de 13 lanthanides (100 mg/L) sur le microsystème de 1ère génération. Electrolytes : optimisés. Intensité de séparation : 9  $\mu$ A. Détection : conductimétrique réalisée sur capillaire de 75  $\mu$ m de diamètre interne connecté au microsystème. Tracé bleu : signal conductimétrique, tracé brun : signal dérivé.**

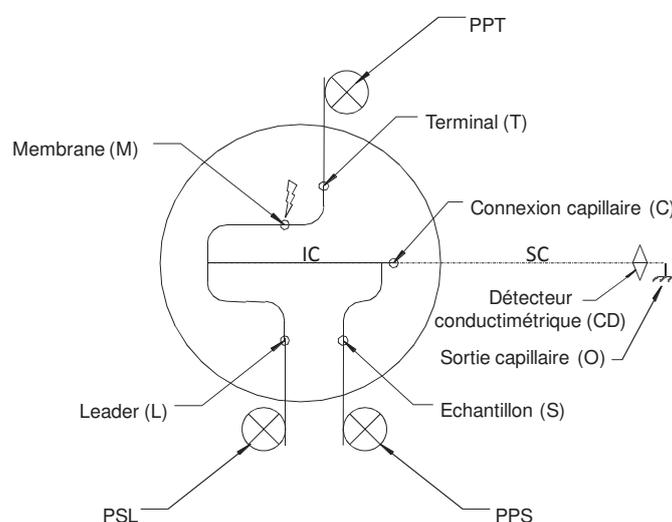
## 4.3 Microsystème de seconde génération

### 4.3.1 Présentation générale

La réduction de la dispersion dans le microsystème impose d'utiliser un canal de séparation de faible section et d'une longueur de plusieurs dizaines de centimètres. Pour minimiser les dimensions du microsystème, le canal de séparation devra donc prendre la forme d'un serpentifère présentant de nombreux virages. Les travaux de Griffiths [7] et de Fu [8] ayant montré les effets néfastes des virages sur la dispersion, cette solution semble difficilement envisageable.

Pour contourner ce problème d'origine technologique, il a été décidé de dissocier les phases d'injection et de séparation en envisageant la fabrication d'un système "mixte" : l'étape d'injection est réalisée dans un premier module constitué d'un microsystème en COC qui assure aussi le contact

électrique tandis que la séparation se développe dans un capillaire de silice fondue et de géométrie interchangeable, relié au microsysteme par une connexion capillaire – microsysteme sans volume mort. Conformément aux résultats de l'optimisation obtenus dans le chapitre 3, la séparation est réalisée dans un capillaire de silice de 30  $\mu\text{m}$  de diamètre interne et de 70 cm de longueur de séparation. A l'inverse du microsysteme de première génération, le dispositif présenté sur la Figure 4-8 a été spécialement conçu pour permettre à la fois une utilisation avec détection conductimétrique mais également son couplage avec l'ICP-MS à l'aide d'une interface de nébulisation commerciale [9]. Son fonctionnement n'est donc plus en mode fermé car le contenu du capillaire doit pouvoir migrer hors du système pour être analysé en masse. L'extrémité de sortie du capillaire n'est par conséquent plus fermée par une pompe péristaltique.



**Figure 4-8 : représentation schématique du microsysteme de seconde génération. Largeur/hauteur des canaux : 150  $\mu\text{m}$  / 120  $\mu\text{m}$ , longueur du canal d'injection IC : 4,5 cm. Diamètre externe/diamètre interne/longueur du capillaire de séparation SC : 360  $\mu\text{m}$  / 30  $\mu\text{m}$  / 70 cm. PPT et PPS : pompes péristaltiques permettant le remplissage, respectivement, de l'électrolyte terminal et de l'échantillon. PSL : pousse seringue permettant le remplissage de l'électrolyte leader. L, T et S : connexions pompe péristaltique-microsysteme. C : connexion capillaire-microsysteme. M : connexion membrane – microsysteme. CD : détecteur conductimétrique.**

Dans sa configuration finale, ce microsysteme de 2<sup>ème</sup> génération permet l'analyse d'un volume de 0,8  $\mu\text{L}$  d'échantillon (au lieu de 1,4  $\mu\text{L}$  avec le système double-capillaire). Cette diminution du volume d'injection est motivée par la volonté de réduire la valeur du champ électrique en fin de séparation. Bien que la connexion électrode–microsysteme équipée d'une membrane assure un transfert efficace du courant électrique, une faible concentration de matière dans l'échantillon nécessite une tension de séparation plus importante, ce qui peut dans certains cas provoquer la formation d'arcs électriques entre le microsysteme et les tubes péristaltiques des canaux L et S dont les masses sont flottantes pendant l'analyse. La réduction du volume d'injection et l'augmentation de la

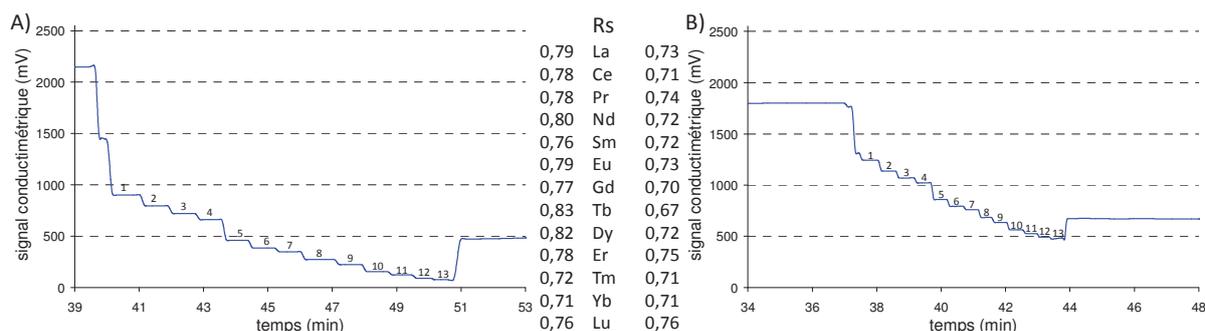
concentration injectée (pour maintenir la quantité injectable fixée par le volume de séparation) permettent de conserver une marge de sécurité quant à l'apparition de ces phénomènes.

#### 4.3.2 Fonctionnement du dispositif

A terme, le système devant être mis en ligne avec un spectromètre ICP-MS, l'introduction de l'électrolyte leader ne peut donc pas être réalisée par l'extrémité de sortie du capillaire de séparation. Qui plus est, le débit minimal des pompes péristaltiques est limité à 1,7  $\mu\text{L}/\text{min}$ , ce qui correspond à une pression de remplissage de plus de 14 Bar. Afin de satisfaire cette dernière contrainte, la pompe péristaltique est remplacée par un pousse seringue (Harvard apparatus, les Ullis, France, seringue de 2 mL en polypropylène) qui permet de réduire le débit de remplissage de l'électrolyte leader à 0,1  $\mu\text{L}/\text{min}$  (la pression générée au remplissage est désormais inférieure à 1 bar). Le remplissage du capillaire de séparation avec l'électrolyte leader nécessite alors une quinzaine de minutes. Le tube de remplissage de l'électrolyte leader qui est en Tygon, est ensuite sectionné pour servir de voie poubelle et collecter les surplus d'échantillon et d'électrolyte terminal élués lors des deux étapes suivantes de remplissage. Les pompes péristaltiques sont conservées pour réaliser les phases de remplissage en échantillon et électrolyte terminal avec des conditions opératoires similaires à celles du microsysteme de première génération. Finalement, la séparation est développée en appliquant une intensité de courant constante entre la connexion membrane-microsysteme (M) et l'extrémité de sortie du capillaire de séparation.

#### 4.3.3 Séparation d'un mélange de lanthanides

Afin d'évaluer le potentiel séparatif de ce nouveau design de microsysteme, la Figure 4-9 compare les profils obtenus pour la séparation des 13 lanthanides avec le système à double capillaire (Figure 4-9 A) qui sert de référence et le microsysteme de 2<sup>ème</sup> génération (Figure 4-9 B). Pour chacun des dispositifs, la quantité injectée par lanthanide est identique (6,5 ng) et les conditions expérimentales utilisées sont résumées dans le Tableau 4-3.



**Figure 4-9 : comparaison des isotachoporégrammes et des résolutions obtenus pour la séparation des lanthanides avec les deux dispositifs optimisés. A) système à deux capillaires, B) microsystème de 2<sup>ème</sup> génération. Les conditions expérimentales sont rassemblées dans le Tableau 4-3.**

**Tableau 4-2 : conditions expérimentales et résultats moyens avec les deux dispositifs de séparation après optimisation.**

conditions analytiques	système à 2 capillaires	microsystème de 2 <sup>ème</sup> génération
diamètre ou section interne des capillaires ou canaux	d = 150 µm (injection) d = 30 µm (séparation)	Lxh150 x 120 µm (injection) d = 30 µm (séparation)
réduction EOF	Traitement PVA	Traitement PVA
longueur de séparation	70 cm	70 cm
intensité de séparation	1 µA	1 µA
volume injecté	1,4 µL <sup>1</sup>	0,8 µL <sup>2</sup>
concentration des lanthanides	4,6 mg/L	8,1 mg/L
quantité injectée par élément	6,5 ng	6,5 ng
concentration de l'ion leader	9,5.10 <sup>-3</sup> mol/L	9,5.10 <sup>-3</sup> mol/L
<b>résultats moyen par élément</b>		
résolution	0,78	0,72
quantité collectable	5 ng	4,7 ng
durée d'élution d'un plateau	85 s	30 s

<sup>1</sup>injecteur capillaire de 4 cm pour 150 µm de diamètre interne

<sup>2</sup>boucle d'injection dans le microsystème en COC

La séparation obtenue avec le microsystème de 2<sup>ème</sup> génération (Figure 4-9 B) est de meilleure qualité que celle obtenue sur le microsystème de 1<sup>ère</sup> génération (Figure 4-7), ce qui confirme l'intérêt de l'étape d'optimisation. Les séparations obtenues avec les deux dispositifs optimisés, double capillaire (figure 4-9 A) et microsystème mixte (Figure 4-9 B) sont tout à fait comparables. Dans l'absolu, les performances du microsystème mixte sont légèrement plus faibles que celles du système double capillaire : résolution moyenne de 0,72 au lieu de 0,78 et, par suite, on obtient une quantité collectable de 4,7 ng au lieu de 5 ng et une durée moyenne d'élution d'un plateau de 20 s au lieu de 30 s. Cette dernière différence s'explique en partie par la différence de volume injecté entre les deux dispositifs qui induit une différence de la quantité d'électricité (nombre de Coulombs) nécessaire à la réalisation de la séparation. L'intensité entre les deux protocoles étant maintenue

constante, ceci se traduit par une réduction du temps d'analyse avec le microsysteme. Des conditions experimentales contribuent également aux résultats obtenus comme la différence de nature et donc de chimie de surface entre l'injecteur en COC et le capillaire de séparation en silice traitée PVA. La connexion entre ces deux modules peut également constituer une source de dispersion supplémentaire face à un système tout capillaire.

## 4.4 Conclusion

Après la fabrication de seulement deux prototypes en COC, le microsysteme ITP conçu a été réduit au seul injecteur. Ce nouveau dispositif affiche des performances analytiques comparables à celles obtenues avec un dispositif d'ITP sur capillaire classique. En pratique, il faut se rappeler que, malgré des performances de séparation légèrement inférieures sur microsysteme mixte, ce dispositif présente un énorme avantage : le système à double capillaire implique l'utilisation d'un appareil d'électrophorèse commerciale dont le mode de fonctionnement empêche sa nucléarisation alors que le microsysteme mixte, avec un principe de fonctionnement simplifié à l'extrême, respecte les contraintes d'utilisation en BAG. Ces résultats confortent la possibilité d'appliquer les résultats obtenus ici au développement à court terme d'une solution miniaturisée alternative au procédé actuel de séparation par chromatographie ionique.

Si la fabrication du moule nécessaire à la création d'une nouvelle géométrie de dispositif reste une opération complexe, la réplication du microsysteme se résume à quelques opérations simples et l'usinage des connexions fait appel à une console de fraisage de précision entièrement automatisée. Les connexions développées simplifient la conduite de la séparation en ne nécessitant que trois pompes à microdébit (1 pousse seringue et 2 pompes péristaltiques) et un générateur externe dont les électrodes ne sont jamais en contact avec le matériel radioactif. En termes de volumes de déchets générés, les gains apportés par ce système sont notables : compte tenu de son caractère intégralement jetable, les phases de rinçage sont supprimées. Tous ces aspects concourent également à la réduction des débits de doses qui devrait être amplifiée avec le développement de la mesure en ligne des rapports isotopiques par ICP-MS. Les conditions de couplage ITP/ICP-MS doivent être spécialement étudiées afin de proposer un dispositif complet et un protocole d'utilisation compatible. Ce thème fait l'objet du prochain chapitre.

## Références bibliographiques

- [1] Yamazaki, M., *Journal of Molecular Catalysis A: Chemical* 2004, 213, 81-87.
- [2] Shadpour, H., Musyimi, H., Chen, J., Soper, S. A., *18th International Symposium on MicroScale Bioseparations* 2006, 1111, 238-251.
- [3] Darwin, R. R., Iossifidis, D., Auroux, P. A., Manz, A., *Analytical Chemistry* 2002, 74, 2623-2636.
- [4] Ölvecká, E., Masár, M., Kaniánsky, D., Jöhnck, M., Stanislawski, B., *Electrophoresis* 2001, 22, 3347-3353.
- [5] Mela, P., Berg, A. v. d., Fintschenko, Y., Cummings, E. B., Simmons, B. A., Kirby, B. J., *Electrophoresis* 2005, 26, 1792-1799.
- [6] Beattie, J. K., *Lab on a Chip* 2006, 6, 1409-1411.
- [7] Griffiths, S. K., Nilson, R. H., *Analytical Chemistry* 2000, 72, 5473-5482.
- [8] Fu, L.-M., Yang, R.-J., Lee, G.-B., *Electrophoresis* 2002, 23, 602-612.
- [9] Pitois, A., Aldave de Las Heras, L., Betti, M., *International Journal of Mass Spectrometry* 2008, 270, 118-126.

## chapitre 5    Couplage ITP/ICP-MS

Deux protocoles peuvent être envisagés pour la mesure des rapports isotopiques: le protocole hors-ligne avec collecte des fractions purifiées, traitement des échantillons et analyse en TIMS ou le protocole en ligne avec un couplage ITP-ICPMS. Techniquement, la miniaturisation du protocole hors ligne impose de concevoir un dispositif de collection des bandes monoélémentaires intégré au microsysteme. Or en ITP, le temps de séparation et la longueur des bandes dépendent du contenu ionique de l'échantillon. Le pilotage du micro-collecteur impose donc d'intégrer au dispositif un module de détection conductimétrique au plus près de la zone de collecte, ce qui complique le protocole d'analyse et, de fait, augmente le coût du système d'analyse jetable. De plus, ce protocole ne satisfait que partiellement à la problématique car il ne réduit pas la génération de déchets liquides et solides annexes produits post collection. Les quantités actuellement nécessaires à la mesure TIMS restent importantes mais il faut noter que des travaux portent actuellement sur la diminution des masses analysées (nature des dépôts sur filaments, rampes de chauffage, type de détecteurs etc...). Un couplage "en ligne" micro-système – filaments pourrait ainsi également se concevoir.

A l'inverse avec le protocole en ligne, les phases de séparation et de détection sont intégralement automatisables et pilotées à distance : la période d'exposition est ainsi limitée à la phase d'injection de l'échantillon dans le système. Dans la littérature, les exemples de protocole d'analyse en ligne se multiplient, avec notamment la mesure du taux de combustion des réacteurs par couplage entre la chromatographie ionique et l'ICP-MS [1]. Ces méthodes permettent de réaliser, dans un minimum de temps, les inventaires isotopiques des combustibles usés et des mesures quantitatives par dilution isotopique qui soient acceptables en terme de précision par rapport aux méthodes classiques de TIMS [2, 3]. Cependant des grands volumes de déchets liquides sont générés.

La réalisation de couplages microsysteme/ICP-MS reste minoritaire du fait de la différence des débits de fonctionnement entre les deux dispositifs et du nombre encore réduit d'études portant sur la séparation des éléments en micro-système [4, 5].

Combiné avec un système de nébulisation commerciale pour couplage CE/ICP-MS, le microsysteme de seconde génération précédemment présenté, offre une alternative intéressante au protocole de séparation actuellement en vigueur et pourrait être la base d'un nouvel outil analytique miniaturisé en lien avec la problématique. Dans la littérature aucun exemple de couplage entre l'ITP et l'ICPMS n'a été reporté, on peut noter uniquement un exemple de couplage avec un spectromètre à temps de vol et ionisation par électrospray pour l'analyse de composés organiques [6]. La réalisation de ce nouveau couplage (ITP-ICPMS) présente donc plusieurs intérêts :

- la visualisation du profil de séparation en bandes adjacentes, ce qui est une caractéristique de l'ITP ,
- la comparaison des résolutions calculées en conductimétrie et en spectrométrie de masse
- la mesure en ligne des rapports isotopiques sur des éléments séparés sous forme de bandes (et non de pics transitoires de forme généralement gaussienne) par ITP.

Le comportement de ce nouveau couplage face à la problématique du fractionnement isotopique est une donnée d'importance. En effet, la validation des codes de calculs neutroniques nécessite une détermination précise des rapports isotopiques. Une étude bibliographique menée sur ce sujet dans le cadre des techniques couplées montrent que des phénomènes de dérive des rapports isotopiques sont souvent observés. En comparant les résultats obtenus en chromatographie liquide et en FIA, Günther-Leopold [7] a observé l'existence d'une dérive des rapports isotopiques durant l'élution des solutés. Ce phénomène a également été constaté par Wehmeier et al. [8] ainsi que par Krupp et al. en chromatographie en phase gazeuse [9-12]. Bien que l'origine de la dérive des rapports isotopiques reste encore à élucider, deux hypothèses sont formulées [10] la première soutient l'existence d'un fractionnement isotopique généré par la méthode de séparation [7, 8] ; la seconde privilégie l'existence d'un biais de masse instrumentale provenant de la variation du ratio soluté/matrice le long des pics d'élution (augmentation et diminution de ce ratio respectivement le long de la montée et de la descente des pics) non compensée par les spectromètres de masses en raison d'un temps de réponse élevé des détecteurs classiques à cages de Faradays [12]. D'après l'auteur, la validation de cette deuxième hypothèse peut être obtenue avec l'utilisation d'une technique de séparation capable de fournir l'élution de solutés séparés à des concentrations stables pendant un court laps de temps. Ces caractéristiques laissent entrevoir un intérêt supplémentaire à la réalisation d'un protocole de mesure en ligne avec l'ITP.

## 5.1 Instrumentation

### 5.1.1 Séparation par ITP

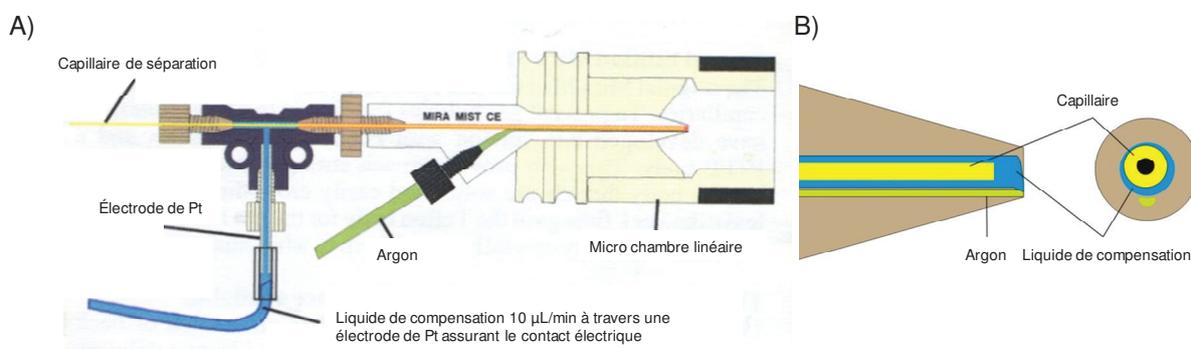
Le système d'électrolytes de séparation des lanthanides par ITP a été conçu avec l'objectif d'une détection par spectrométrie de masse (TIMS ou ICP-MS). Les électrolytes sont par conséquent exempts de composés à faible potentiel d'ionisation comme le sodium ou des sels inorganiques qui, en ICP-MS et à fortes concentrations, peuvent être responsables d'effets de matrice et de l'obstruction des cônes d'extraction. Le traitement dynamique de l'écoulement électroosmotique à

l'aide d'additifs organiques, a également été remplacé par un traitement statique de la paroi interne du capillaire, ce qui supprime tout apport carboné supplémentaire aux électrolytes.

## 5.1.2 Interface ITP/ICP-MS

### 5.1.1.1 Système de nébulisation

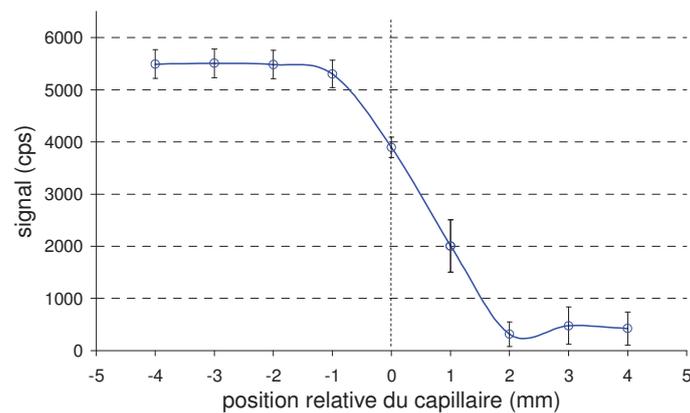
La difficulté de coupler l'ITP avec un ICP-MS réside dans la nécessité de compenser la différence de débit entre la sortie du capillaire de séparation (1 à 100 nL/min) et l'entrée du spectromètre (20 à 1000 µL/min), tout en fermant le circuit électrique en sortie de capillaire de séparation. Pour ce faire, le système de nébulisation utilisé est l'interface Mira Mist CE (Bürgener Research, Mississauga, Ontario, Canada) présentée sur la Figure 5-1.



Le capillaire de séparation est inséré au travers d'une connexion en T et son extrémité est positionnée au niveau du nez du nébuliseur de façon très précise. Le contenu du capillaire est gainé en sortie par un débit de liquide additionnel coaxial qui assure la fermeture du circuit électrique à l'aide d'une électrode de Pt située en amont sur la connexion. Délivré à un débit nominal de 10 µL/min par un pousse seringue (Harvard apparatus, les Ullis, France, seringue de 10 mL en polypropylène), le liquide de compensation n'est autre que l'électrolyte leader, ce qui permet de préserver l'équilibre de séparation en fournissant au système l'agent chélatant durant tout le temps de l'analyse. La nébulisation est assurée par un flux d'argon. La géométrie particulière du nez du nébuliseur (Figure 5-1 B) permet la formation d'un spray homogène, sans effet de succion qui dégraderait la séparation par la formation d'un écoulement parasite et la vidange du capillaire. La chambre de nébulisation est une micro chambre linéaire en Téflon (Bürgener Research, Mississauga, Ontario, Canada) offrant un taux de transfert de l'aérosol annoncé total et un temps de séjour réduit (données constructeur).

### 5.1.1.2 Positionnement du capillaire

L'optimisation de l'interface impose d'étudier l'influence du positionnement du capillaire dans le nébuliseur. Pour ce faire, l'intensité du signal ICP pour l'isotope  $^{142}\text{Nd}$  est mesurée pour différentes distances entre les extrémités du capillaire et du nébuliseur (Figure 5-2). La mesure de la distance est assurée en fixant le capillaire sur une vis micrométrique. Selon le sens de rotation de la vis, le capillaire est soit tiré soit poussé dans le nébuliseur. La position zéro correspond à la valeur pour laquelle l'extrémité du capillaire est positionnée dans l'alignement du nez du nébuliseur. Le liquide de compensation est réglé à un débit nominal de 10  $\mu\text{L}/\text{min}$ . La solution échantillon est délivrée au travers d'un capillaire de 30  $\mu\text{m}$  de diamètre interne et de 100 cm de longueur totale installée sur l'instrument HP3D (Agilent technologies, Waldbronn, Allemagne) en configuration couplage. D'après la loi de Poiseuille (Equation 2-5), une pression de 30 mBar est appliquée à l'entrée du capillaire pour générer un écoulement hydrodynamique comparable au débit d'éluion de l'ITP, soit approximativement 32  $\text{nL}/\text{min}$ .



**Figure 5-2 : variation de l'intensité de signal sur l'isotope  $^{142}\text{Nd}$  en fonction de la position du capillaire dans le nébuliseur.**

Selon la position du capillaire, l'intensité et la stabilité du signal sont modifiées. Pour une position interne (entre -4 et -1 mm), le capillaire est parfaitement gainé par le liquide de compensation et entraîné en direction du flux d'Ar pour être nébulisé de façon continue. Les faibles débits utilisés et les faibles distances entre les extrémités de sortie du capillaire et du nébuliseur (4 mm au maximum) limite le nombre de Reynold à une valeur de 250, ce qui assure un écoulement laminaire à l'interface. Le contenu du capillaire élué ainsi que le liquide de compensation progressent parallèlement jusqu'à la zone de nébulisation sans se mélanger et donc sans risque de dispersion des bandes monoélémentaires après séparation. Lorsque la distance entre les extrémités du capillaire et du nébuliseur diminue jusqu'à devenir positive (0 à +4 mm), une diminution du signal apparaît ainsi qu'une perte de stabilité. Dans cette configuration, l'extrémité du capillaire dépasse le nez du nébuliseur. Le liquide de compensation ne gaine plus le contenu élué du capillaire qui s'accumule à

l'extrémité du capillaire. Lorsque cette accumulation est trop volumineuse, le spray de liquide de compensation formé en position 0 décroche et nébulise une fraction de ce volume, ce qui explique la perte de signal observée sur la Figure 5-2. Ce phénomène empêche de plus la fermeture du circuit électrique, ce qui est incompatible avec la réalisation d'une séparation par ITP. Dans ces conditions, la position optimale du capillaire correspond à une distance d'approximativement -1 mm par rapport au nez du nébuliseur. En effet, cette configuration est préférée aux positions plus internes afin de réduire le délai de nébulisation des bandes après leur sortie du capillaire de séparation.

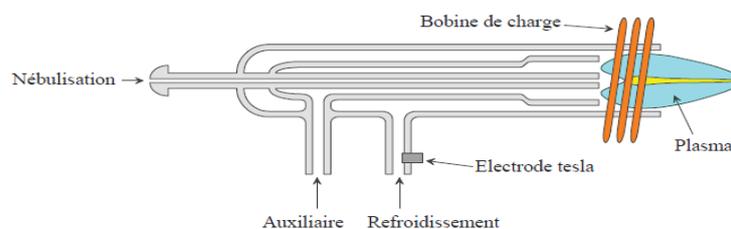
### 5.1.3 Spectromètre de masse ICP-MS

#### 5.1.1.3 Principe de fonctionnement d'un ICP

##### La torche à plasma

Le principe de la torche à plasma est celui de la décharge électrique dans un gaz à pression atmosphérique, entretenue par les hautes fréquences issues d'un générateur de radiofréquences. Le gaz utilisé est communément l'argon car son énergie d'ionisation est particulièrement élevée (15,76 eV), ce qui permet d'ioniser tous les éléments dont la première énergie d'ionisation est inférieure à cette valeur.

Le plasma est généré à l'extrémité d'une torche en quartz d'une dizaine de centimètres constituée de trois tubes concentriques où circulent trois flux distincts d'argon gazeux (Figure 5-3).



**Figure 5-3 : schéma d'une torche à plasma.**

Dans le tube externe, le gaz plasmagène (nommé "refroidissement" sur la figure 5-3) permet de créer du plasma d'argon. Dans le tube intermédiaire, le gaz auxiliaire d'un débit moyen de  $1 \text{ L}\cdot\text{min}^{-1}$  est utilisé pour former, stabiliser le plasma et empêcher la fusion du sommet du tube intermédiaire. Enfin, le flux d'argon circulant dans le tube interne sert au transport de l'échantillon depuis la chambre de nébulisation jusque dans le cœur du plasma (zone jaune).

La bobine de charge, disposée à l'extrémité de la torche, est constituée d'une spire en cuivre refroidie intérieurement par circulation d'eau. Son alimentation par une haute fréquence de 27 MHz délivrée par le générateur RF crée un champ magnétique longitudinal parallèle à l'axe de la torche.

Une décharge électrique sous forme d'étincelle est initiée par une électrode tesla disposée dans le flux de gaz plasmagène ; elle permet la production d'électrons libres. Ceux-ci sont entraînés dans une orbite circulaire par le champ magnétique et l'énergie électrique délivrée par la bobine de charge est transmise aux électrons sous forme d'énergie cinétique. La collision entre les électrons libres et les atomes d'argon permet d'initier et d'entretenir le plasma par transfert d'énergie. Le plasma atteint des températures de l'ordre de 10000 K. Le gaz porteur et les gouttelettes de l'échantillon sont chauffés à une température de l'ordre de 7000 K, ce qui permet la dissociation, l'atomisation et l'ionisation des éléments de l'échantillon avec un rendement proche de 100 %. Les ions obtenus par cette méthode sont des cations.

### Les "lentilles" d'extraction

La principale difficulté de l'extraction des ions du plasma est due au passage entre la torche à plasma à pression atmosphérique et le vide poussé de l'optique ionique du spectromètre de masse. En pratique, un étage de pression intermédiaire est établi entre deux cônes de nickel (Figure 5-4). Le premier cône ou cône d'échantillonnage dont le sommet est percé d'un orifice de l'ordre de 1 mm de diamètre, est placé au contact direct du plasma dans la zone la plus chaude où sont formés les ions. Le deuxième cône ou cône écreteur (d'épluchage sur la figure 5-4) a un orifice de diamètre un peu plus petit (0.7 mm) et est placé à moins d'un centimètre du premier cône, ce qui lui permet de prélever principalement les ions du plasma provenant de l'échantillon. Une lentille placée en aval du cône d'épluchage et portée à un potentiel négatif permet l'extraction des ions positifs vers l'optique ionique. L'accélération des ions entre ces deux cônes entraîne la formation d'un cône d'expansion par rapport à l'axe d'entrée du cône écreteur. Les isotopes légers étant d'avantage sujet à ces variations de trajectoires que ne le sont les isotopes lourds. Il se forme une discrimination isotopique appelée biais de masse. La réalisation de mesures isotopiques impose donc de corriger ce phénomène par le calcul d'un facteur de biais.

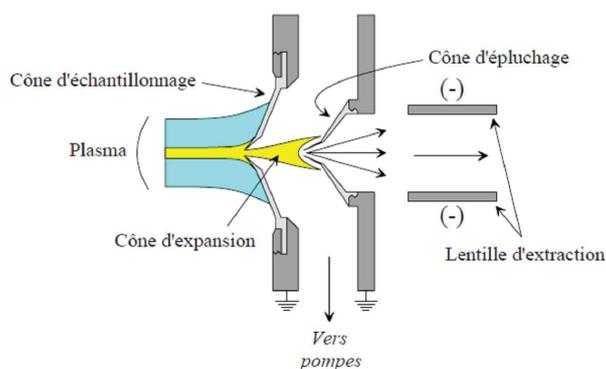


Figure 5-4 : schéma d'une interface d'extraction des ions du plasma.

## L'optique ionique

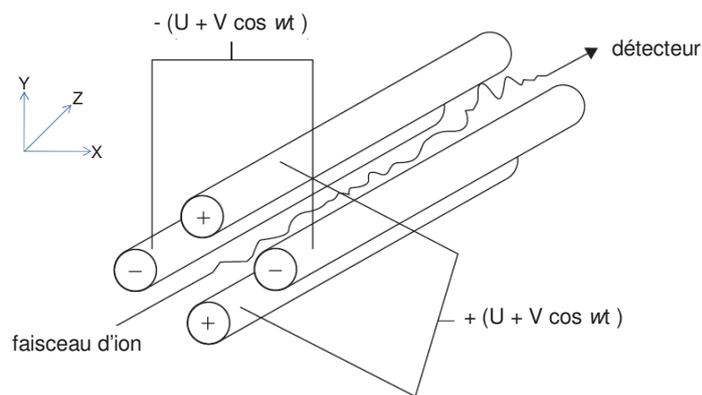
En sortie de l'interface, un jeu de lentilles électrostatiques permet le transport et la focalisation du faisceau d'ions vers l'analyseur. Une de ces lentilles est de type "photon stop". Portée à un potentiel positif, elle dévie momentanément la trajectoire des ions positifs. Ceci permet d'arrêter la majorité des photons provenant du plasma et ainsi réduire le bruit de fond au niveau du détecteur. Il faut noter que de nombreuses configurations différentes existent au niveau de l'extraction et de l'optique ionique en fonction des appareils et des constructeurs.

### 5.1.1.4 Les analyseurs

Deux spectromètres de masse ICP-MS présentant des analyseurs (séparateurs de masse) de nature différente, ont été utilisés au cours de ce travail : un ICP-MS X series 2 (Thermo Electron, Thermo Fisher Scientific, Wyman, Massachusetts, USA) à analyseur quadripolaire (noté ICP-QMS) et un ICP MS Isoprobe (GV Instruments, Manchester, UK) à simple secteur magnétique et multi collecteur (noté MC-ICP-MS).

#### Analyseur quadripolaire : présentation

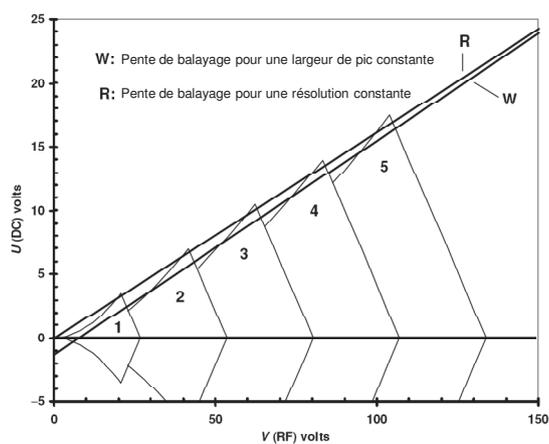
L'analyseur quadripolaire se compose de quatre cylindres métalliques parfaitement parallèles reliés deux à deux à une tension continue de signes opposés ( $\pm U$ ) et des tensions de radiofréquences de phases opposées ( $\pm V \cos \omega t$ ). (Figure 5-5) [13].



**Figure 5-5 : schéma d'un analyseur quadripolaire.**

Les ions qui pénètrent dans l'analyseur selon l'axe Z se retrouvent soumis à un régime oscillant selon les axes X et Y. La tension positive trie les ions pour ne focaliser que les cations. Le champ de radiofréquences accélère les ions en augmentant leur amplitude de vibration selon les équations de Mathieu [14]. Concrètement, ces équations traduisent des domaines de stabilité des ions en fonction de leur masse pour des valeurs de U et V données (Figure 5-6). Les ions qui sont compris dans ce

domaine de stabilité traversent l'analyseur en direction de détecteur. A l'inverse, les ions qui ne n'appartiennent pas au domaine de stabilité entrent en résonance jusqu'à venir percuter l'un des tubes cylindriques de l'analyseur et finalement retrouver leur état élémentaire.



**Figure 5-6 : domaine de stabilité des ions dans un analyseur quadripolaire avec 1 à 5 cations de masses croissantes [14].**

Comme illustré sur la Figure 5-6, un balayage suivant une droite maintenant le rapport  $U/V$  constant permet de stabiliser successivement la traversée des ions de différentes masses. La résolution sera d'autant plus élevée que la pente sera importante et cela tant que la droite continue de traverser les zones de stabilité. L'analyseur quadripolaire est donc un analyseur séquentiel dont le temps nécessaire pour passer d'une masse à l'autre doit être minimal tout en étant suffisamment important pour permettre quelques oscillations de la tension alternative responsable du tri en masse.

#### Analyseur quadripolaire : Optimisation des réglages instrumentaux

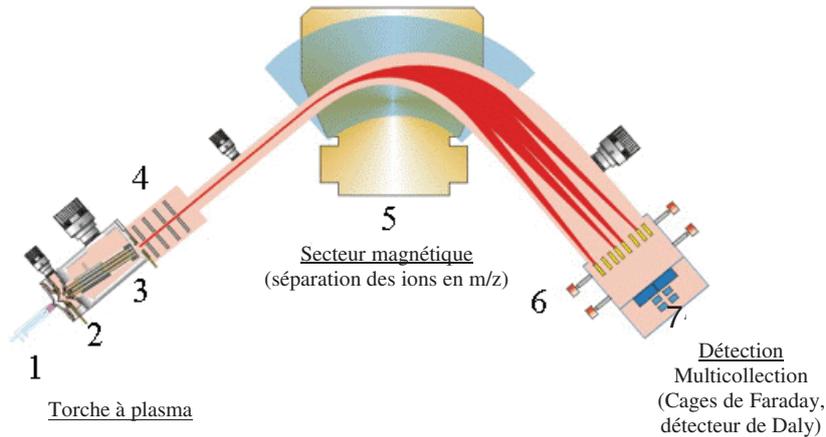
L'optimisation des paramètres expérimentaux du spectromètre ICP-QMS est réalisée en injectant une solution de Nd dans des conditions similaires à celles présentées au paragraphe 5.1.4. Les réglages du positionnement de la torche, des débits de gaz et des lentilles ioniques sont optimisés quotidiennement. Les réglages moyens pour la mesure du signal sur l'isotope  $^{142}\text{Nd}^+$  sont consignés dans le Tableau 5-1. Après une optimisation de l'intensité du signal, la stabilité de ce dernier a été contrôlée pour 10 acquisitions consécutives par l'écart type relatif autour de 5%. Le niveau de formation des oxydes a été contrôlé par la mesure du rapport moyen  $^{142}\text{Nd} \text{ }^{16}\text{O}^+ / ^{142}\text{Nd}^+$ . Le taux de formation d'oxyde est inférieur à 2%.

**Tableau 5-1 : paramètres expérimentaux du couplage ITP/ICP-QMS.**

	valeur/description
système d'introduction de l'échantillon	
Nébuliseur Mira Mist CE	10 $\mu$ L/min
Micro chambre linéaire	
paramètres expérimentaux ICP-QMS	
puissance du plasma	1100 W
gaz de nébulisation	0,7-0,8 L/min
gaz auxiliaire	0,9 L/min
gaz plamagène	15 L/min
paramètres d'acquisition	
largeur pic à 10% de la hauteur	0,82 uma
mode de balayage	Peak jumping
dwell time	50 ms

Analyseur à secteur magnétique et collection multiple : Présentation

L'analyseur à secteur magnétique repose sur la propriété de déviation des ions sous l'effet d'un champ magnétique. Cette déviation est perpendiculaire au sens de déplacement des ions et conduit à l'adoption d'une trajectoire circulaire. A l'issue de leur extraction par les cônes de l'interface (Figure 5-7) sur l'MC-ICPMS utilisé, les ions sont accélérés, focalisés dans l'espace par des lentilles électrostatiques, filtrés en énergie à l'aide d'une cellule de collisions (en lieu et place d'un secteur électrostatique traditionnellement utilisé), puis les ions du faisceau sont séparés en fonction de leur rapport masse sur charge par un secteur magnétique [13]. La déviation des ions dans l'analyseur magnétique est d'autant plus importante que la masse est faible. Ainsi, en disposant des détecteurs sur la trajectoire des ions déviés, il devient possible d'acquérir simultanément plusieurs signaux correspondant chacun à une masse (un isotope) donnée.



**Figure 5-7 : schéma simplifié d'un spectromètre ICP à secteur magnétique et collection multiple (MC-ICP-MS) de type ISOPROBE (GV Instrument). 1 torche à plasma, 2 lentille d'extraction, 3 cellule de collision hexapolaire, 4 lentille de focalisation, 5 secteur magnétique, 6 cages de Faraday, 7 électrode de Daly.**

Analyseur à secteur magnétique et collection multiple : Optimisation des réglages instrumentaux

Le couplage en zone nucléarisée est réalisé sur le spectromètre MC-ICP-MS de type Isoprobe. Pour des questions de sécurité, cet instrument a été spécialement modifié afin de permettre le maniement et l'analyse d'échantillons radioactifs en boîte-à-gants (BAG). Comme pour l'ICP-QMS, le réglage des paramètres expérimentaux est effectué quotidiennement. Les valeurs de référence sont présentées dans le Tableau 5-2. Le MC-ICP-MS dispose de 9 cages de Faraday (L2 située en position basse par rapport à la cage axiale AX, et H1 à H7 situées en position haute). Leur positionnement est réalisé en injectant une solution de standards contenant les isotopes d'intérêt. Un exemple de positionnement des cages correspondant à l'acquisition des isotopes de Nd et Sm est présenté dans le Tableau 5-2.

**Tableau 5-2 : paramètres expérimentaux du couplage ITP/MC-ICP-MS.**

	valeur/description	
système d'introduction de l'échantillon		
Nébuliseur Mira Mist CE	10 $\mu$ L/min	
Micro chambre linéaire		
paramètres expérimentaux ICP-QMS		
puissance du plasma	1350 W	
gaz de nébulisation	0,78 L/min	
gaz auxiliaire	1,2 L/min	
gaz plasmagène	14 L/min	
paramètres d'acquisition		
mode de balayage	multicollection	
temps d'intégration par mesure	300 ms	
période d'intégration	100 ms	
positionnement des collecteurs	Nd	Sm
L2	$^{142}\text{Nd}$	
Ax	$^{143}\text{Nd}$	
H1	$^{144}\text{Nd}$	$^{144}\text{Sm}$
H2	$^{145}\text{Nd}$	
H3	$^{146}\text{Nd}$	
H4		$^{147}\text{Sm}$
H5	$^{148}\text{Nd}$	$^{148}\text{Sm}$
H6		$^{149}\text{Sm}$
H7	$^{150}\text{Nd}$	$^{150}\text{Sm}$

#### 5.1.4 Dispositif expérimental d'injection

Le dispositif expérimental présenté sur la Figure 5-8 a pour objectif de générer un plateau de concentration constante en soluté, comme le permet l'ITP, mais sans phénomène de séparation.

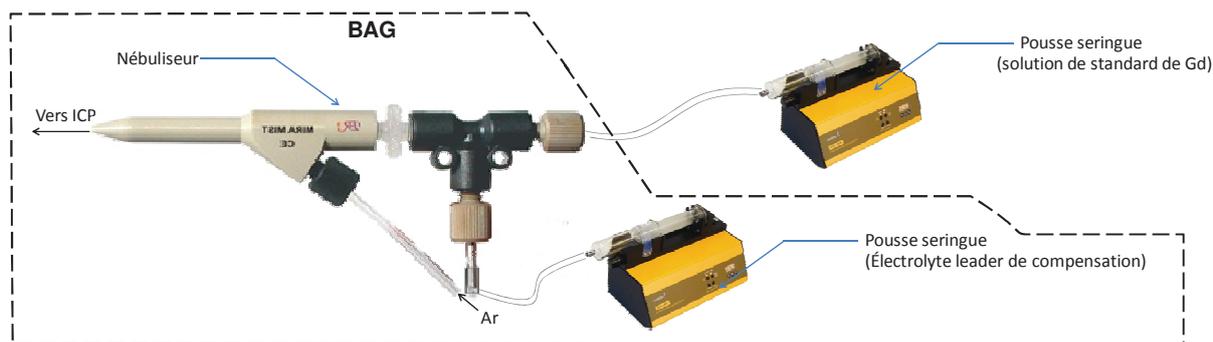


Figure 5-8 : dispositif d'injection pour générer un palier de concentration.

La configuration de ce dispositif permet de conserver le principe de nébulisation utilisé lors du couplage ITP/ICP-MS, avec un apport d'électrolyte leader comme liquide de compensation à un débit de 10  $\mu\text{L}/\text{min}$ . L'interface de nébulisation placée à l'intérieur de la BAG est connectée par un tube capillaire à un pousse seringue extérieur qui délivre une solution de Gd naturel. Une voie d'entrée positionnée sur la paroi de la boîte à gant préserve l'étanchéité et assure la connexion directe du pousse seringue au nébuliseur.

### 5.1.5 Choix des échantillons

Dans la continuité de l'optimisation des conditions de séparation, l'optimisation du couplage est réalisée sur un mélange de 4 lanthanides (Nd, Sm, Eu et Gd) à des concentrations définies en fonction de la géométrie du système de séparation. La simplicité de l'échantillon utilisé permet de limiter le nombre d'isotopes à intégrer, ce qui dans le cas de l'ICP-QMS permet d'augmenter la fréquence de balayage et dans le cas de l'MC-ICP-MS permet la mesure de plusieurs isotopes par élément. La liste des isotopes et leur abondance dans un standard naturel sont données dans le Tableau 5-3 avec mise en évidence des interférences isobariques possibles.

**Tableau 5-3 : contenu isotopique des échantillons à 4 lanthanides. En rouge : les interférences élémentaires, en vert : les interférences par formation d'oxydes [15].**

Masse (u.m.a)	Nd	Sm	Eu	Gd
142	142 (27,16%)			
143	143 (12,18%)			
144	144 (23,83%)	144 (3,07%)		
145	145 (8,30%)			
146	146 (17,17%)			
147		147 (14,99%)		
148	148 (5,74%)	148 (11,24%)		
149		149 (13,81%)		
150	150 (5,62%)	150 (7,37%)		
151			151 (47,81%)	
152		152 (26,74%)		152 (0,20%)
153			153 (52,19%)	
154		154 (22,752%)		154 (2,18%)
155				155 (14,79%)
156				156 (20,46%)
157				157 (15,65%)
158	142+O16			158 (24,83%)
159				
160	144+O16	144+O16		160 (21,86%)

## 5.2 Couplage ITP/ICP-QMS

La conduite d'une analyse par ITP en mode couplage avec un ICP-MS impose de satisfaire à un certain nombre de conditions, à savoir :

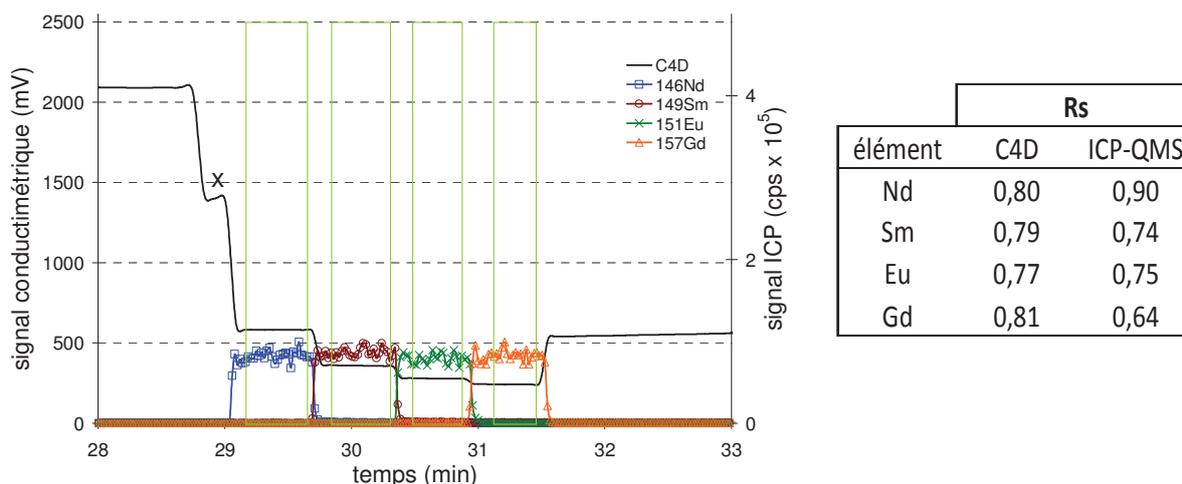
- compensation entre les débits de séparation (<0.1µL/min) et de détection (> 10 µL/min)
- formation d'un aérosol homogène, sans effet de succion du contenu du capillaire
- fermeture du circuit électrique
- immersion de la sortie du capillaire dans l'électrolyte leader afin de permettre la remontée dans le capillaire de l'agent chélatant et, de fait, la préservation de l'équilibre de séparation
- réduction des volumes morts pour conserver une bonne restitution du profil en plateaux.

L'interface de nébulisation présentée précédemment (cf : 5.1.2) a été choisie pour respecter ces différents points. Avant de procéder à la séparation d'un mélange de lanthanides avec un

microsystème couplé à l'ICP-MS, l'efficacité du couplage a été testée avec l'instrument d'électrophorèse HP3D et différentes géométries de capillaires.

### 5.2.1 Couplage avec le système double capillaire

Avant de procéder au couplage microsystème / ICP-QMS proprement dit, la géométrie du microsystème de seconde génération est simulée à l'aide d'un système à deux capillaires mis bout à bout et maintenus par une connexion Téflon sans volume mort. Il est composé de 8 cm d'un capillaire de 150  $\mu\text{m}$  de diamètre interne (ce qui correspond à un volume d'injection de 1,4  $\mu\text{L}$ ) et de 94 cm d'un capillaire de 30  $\mu\text{m}$  de diamètre interne (qui joue le rôle de capillaire de séparation). L'analyse est pilotée avec l'instrument d'électrophorèse HP3D et réalisée avec le système d'électrolytes précédemment optimisé. L'échantillon injecté est une solution standard de quatre lanthanides (Nd, Sm, Eu et Gd) à la concentration de 3,6 ng/ $\mu\text{L}$  par élément, ce qui correspond à une quantité injectée de 5 ng pour chaque élément. Une double détection est mise en œuvre en plaçant le capteur C4D sur le capillaire de séparation 14 cm en amont de l'interface de nébulisation. La longueur de séparation est donc de 80 cm jusqu'au détecteur conductimétrique et de 94 cm jusqu'au détecteur ICP-QMS. La Figure 5-9 présente la comparaison des signaux obtenus en conductimétrie et en spectrométrie de masse. La différence des longueurs de séparation génère un délai de détection entre le capteur C4D et l'ICP-QMS et, pour simplifier la comparaison des profils obtenus, les signaux acquis ont été artificiellement translatés dans le temps. La détection par ICP-QMS a bien été réalisée pour l'ensemble des isotopes du Tableau 5-3, mais seul un isotope non interféré par élément est représenté sur la Figure 5-9, ceci après correction de l'intensité du signal en fonction de l'abondance relative de l'isotope.



**Figure 5-9 : séparation d'un mélange de 4 lanthanides avec un système double capillaire de 150 puis 30  $\mu\text{m}$  de diamètre interne. Comparaisons des signaux C4D et ICP-QMS et des résolutions de séparation correspondantes. Les conditions de séparation sont identiques à celles du tableau 4-3. Quantité injectée par élément : 5 ng. En vert : les intervalles de temps dans lesquels sont mesurés les rapports isotopiques. X : impureté.**

Le suivi en masse de la séparation permet de mettre en évidence la formation de plateaux monoélémentaires. S'agissant d'un échantillon de concentrations équi-massiques en élément, l'uniformité des largeurs des plateaux vérifie la proportionnalité qui lie ces deux grandeurs en ITP. De plus, après correction de l'intensité des plateaux par l'abondance relative de l'isotope sélectionné, il apparaît une égalité des signaux, ce qui vérifie également la fixation de la concentration des bandes de soluté par celle de l'ion leader. Enfin, la comparaison avec le signal conductimétrique justifie l'attribution des plateaux à la présence d'un seul élément, comme cela avait été supposé lors de l'étude d'optimisation du système de séparation et pour le calcul des résolutions. Une bonne correspondance est en effet observée entre les plateaux du signal C4D et les bandes de chaque élément visualisées par ICP-MS. Les chutes de conductivité entre les plateaux correspondent également aux zones d'interfaces entre les solutés, permettant de délimiter précisément  $\text{Li}^*$  par rapport à Li. Le couplage permet donc de visualiser les bandes de diffusion qui dans les conditions optimales testées ici (Tableau 3-2) apparaissent comme particulièrement réduites.

Chacun des deux détecteurs permet un calcul de la résolution selon la méthode explicitée dans le Chapitre 3 (voir paragraphe 3.1). Les résultats obtenus et donnés dans la Figure 5-9 montrent des différences entre les résolutions mesurées sur le signal conductimétrique et les signaux d'ICP /QMS. Ces différences sont vraisemblablement dues au fait que les deux modes de détection ont des sélectivités différentes. La détection conductimétrique, par principe, n'est pas une méthode sélective et l'intensité du signal mesuré correspond à la somme des conductivités individuelles de chacun des

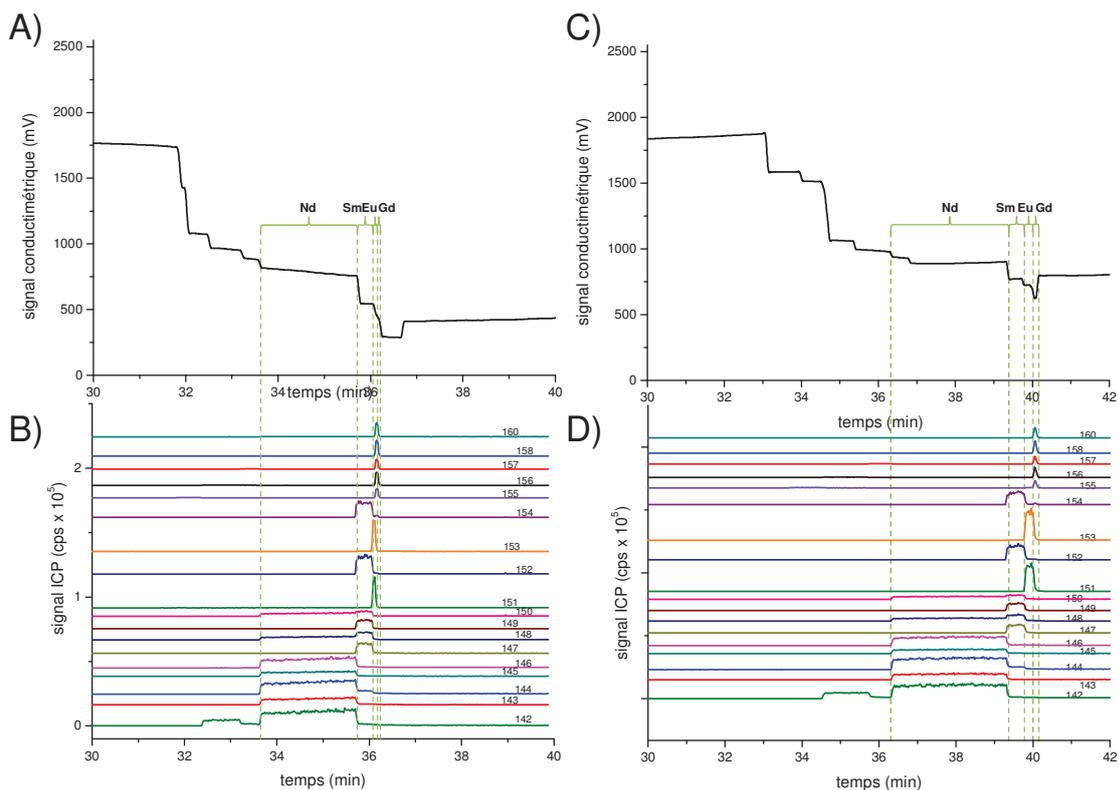
ions contenus dans une section de capillaire à un instant donné. A l'inverse, la détection ICP-QMS est très sélective et visualise à chaque endroit et chaque instant les composés cibles individuellement. Pour un soluté d'intérêt donné, la prise en compte des solutés adjacents n'est donc pas la même avec les deux modes de détection et, par suite, les résolutions calculées sont dépendantes du détecteur considéré. La résolution "ICP-QMS" n'est pas systématiquement (pour tous les solutés) inférieure à la résolution "conductimétrique", ce qui semble montrer que la dispersion générée par l'interface de nébulisation est faible.

Il est également important de constater que les résolutions "C4D" calculées en mode couplage (Figure 5-9) sont analogues à celles obtenues lors de la phase d'optimisation du système, c'est à dire sans couplage dans des conditions analytiques similaires (Figure 3-18) : ceci démontre l'absence de dispersion générée par un écoulement hydrodynamique éventuellement induit par l'interface de nébulisation.

Le calcul de la résolution à partir des signaux obtenus par ICP-QMS permet de définir les intervalles de temps correspondant à l'élution des solutés purs. Encadrés par un rectangle vert sur la Figure 5-9, ces zones visualisent les portions de chaque plateau les plus adaptées à la mesure des rapports isotopiques. Cependant, ces mesures ne peuvent pas être réalisées avec une précision suffisante compte tenu du fonctionnement séquentiel de l'analyseur quadripolaire. En effet, les rapports isotopiques sont définis comme les rapports des intensités des signaux entre deux isotopes. Durant l'analyse, sur un plateau de concentration, il y a inévitablement des fluctuations qui se produisent sur tous les signaux. L'acquisition séquentielle (et non pas simultanée) des signaux ne permet pas de corriger ces instabilités, ce qui altère beaucoup la précision des mesures des rapports isotopiques. Il faut également noter que pour définir le profil d'élution avec un maximum de points de mesures le temps d'intégration (dwell time) a été fixé à une valeur basse ce qui ne favorise pas la stabilité du signal.

### 5.2.2 Analyse de combustibles reconstitués UOX et MOX

Afin de remplacer à terme le protocole de chromatographie ionique dans le laboratoire, Le protocole de séparation par ITP doit permettre la séparation de l'ensemble des lanthanides et ceci en présence d'une multitude d'autres éléments qui sont encore présents en solution après la phase de séparation sur colonne ouverte. Cette capacité de l'ITP a été vérifiée en réalisant l'analyse de combustibles d'Oxydes d'Uranium (UOX) et d'Oxydes Multiples (MOX) reconstitués, dont les compositions sont disponibles en annexe IV. Ces solutions de combustibles sont injectées sans dilution dans le système double capillaire. Les résultats de la double détection sont présentés sur la Figure 5-10.



**Figure 5-10 : séparation de combustibles reconstitués par ITP/C4D/ICP-QMS sur système double capillaire. A) signal conductimétrique obtenu pour un UOX, B) signaux ICP-QMS obtenus pour un UOX, C) signal conductimétrique obtenu pour un MOX, D) signaux ICP-QMS obtenus pour un MOX. Volume injecté : 800 nL. Les conditions de séparation sont identiques à celles du tableau 4-3.**

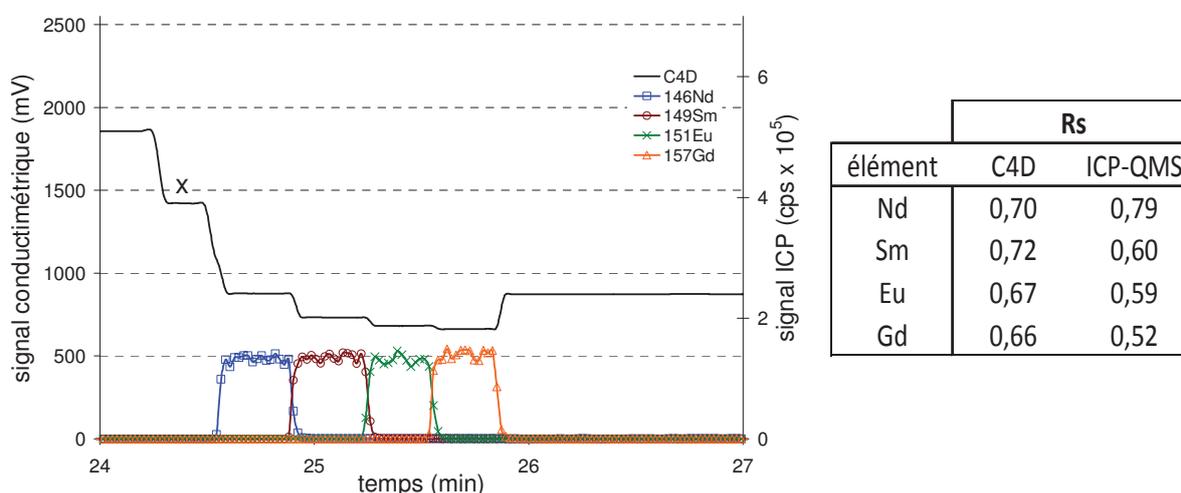
Le récapitulatif du contenu élémentaire des combustibles reconstitués (MOX et UOX) en annexe IV relate la présence de 29 éléments dans chaque échantillon. L'absence de correspondance entre le nombre d'analytes dans l'échantillon et le nombre de plateaux visibles en conductimétrie montre que la séparation ITP de tous les éléments n'est pas complète, ce qui s'explique, d'une part, par la quantité insuffisante de certains éléments pour constituer une bande de migration suffisamment large par rapport à la dispersion, et d'autre part, avec la formation de zones mixtes contenant plusieurs éléments non séparés. Ce dernier point est observable en comparant les Figures 5-10 C et 5-10 D au niveau du plateau correspondant à Nd : les signaux des masses montrent la formation d'un plateau non interféré pour l'ensemble des isotopes de Nd tandis que le signal conductimétrique indique la formation de deux plateaux pour cette zone. Pour les autres éléments (Sm, Eu et Gd), il y a une bonne correspondance entre les signaux C4D et ICP-QMS. Cependant, la faible quantité de ces éléments, notamment Eu et Gd, ne permet pas la formation de plateaux. Cette observation est plus prononcée pour un combustible UOX (Figures 5-10 A et B) pour lequel les plateaux d'Eu et de Gd sont pratiquement confondus en raison de leur faible abondance.

Il est à noter que les combustibles reconstitués ont été directement injectés et séparés en ITP. Le protocole de séparation actuel par chromatographie ionique inclut une étape de reconcentration de l'échantillon à l'issue de la séparation sur colonne ouverte, ce qui n'a pas été réalisé dans les expériences de la Figure 5-10. Ainsi, la condition massique de 5 ng injectés pour l'élément limitant n'a pas été respectée, ce qui laisse présager une amélioration possible des profils de séparation dans les conditions réelles de séparation.

En conclusion, l'objectif principal de séparation d'une solution synthétique de combustible a été atteint. Cependant, ce protocole d'analyse par ITP/ICP-MS utilisant les conditions de séparation retenues lors de la phase d'optimisation du dispositif, sont en mesure de supporter la présence d'une multitude d'éléments, tout en préservant la formation de bandes d'éluion exemptes d'interférences isobariques pour les quatre principaux éléments que sont Nd, Sm, Eu et Gd. L'extension du suivi des masses à d'autres éléments permettrait de compléter l'étude ; cependant, l'intérêt de ces éléments pour la validation des codes de calculs reste limité et l'étude n'a pas été réalisée.

### 5.2.3 Couplage avec le microsysteme de seconde generation

La Figure 5-11 présente la séparation du mélange de 4 lanthanides obtenue avec le microsysteme de seconde generation. Les conditions de séparation sont analogues à celles utilisées avec le systeme à double capillaire (paragraphe 5.2.1.).



**Figure 5-11 : séparation d'un mélange de 4 lanthanides sur microsysteme de seconde generation en mode couplage. Comparaisons des signaux C4D et ICP-QMS et des résolutions de séparation correspondantes. Les conditions de séparation sont identiques à celles du tableau 4-3. Quantité injectée par élément : 5 ng. X : impurété.**

La correspondance des profils entre la mesure conductimétrique et les mesures spectrométriques (ICP-QMS) est bonne, comme cela avait déjà été observé avec le systeme double capillaire. Il faut

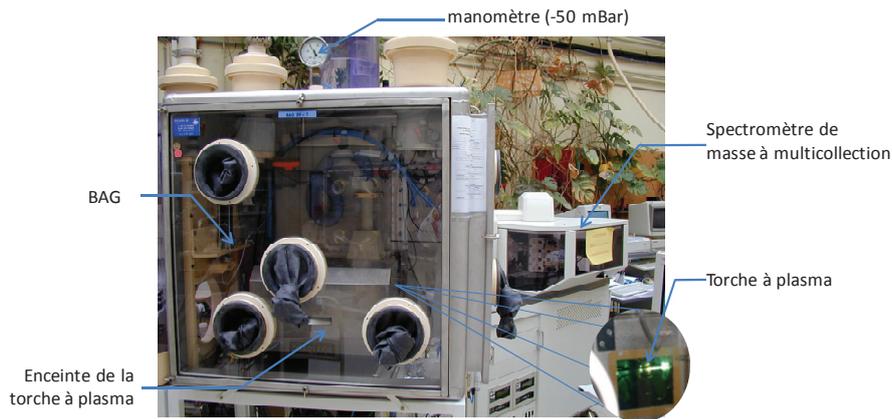
également remarquer qu'en couplage ITP-ICPMS, les résolutions obtenues avec le microsysteme sont légèrement plus faibles que celles obtenues avec le systeme double capillaire (qu'elles soient calculées sur le signal conductimétrique ou sur les signaux d'ICP-QMS). De telles différences avaient déjà été observées sur les résolutions "C4D" lorsque les dispositifs étaient utilisés sans couplage (Figure 4-8). La dispersion responsable de la légère chute de résolution enregistrée avec le microsysteme pourrait être induite par la connexion entre la structure en COC et le capillaire de silice fondue.

Malgré cela, en mode couplage, le microsysteme de seconde génération permet d'atteindre des niveaux de résolution intéressants. De plus, sa simplicité et son caractère jetable devraient faciliter sa nucléarisation et son utilisation en zone réglementée, dans une BAG, en couplage avec un spectromètre de masse à secteur magnétique et disposant d'un systeme multi-collection (MC-ICP-MS) pour permettre la mesure simultanée du faisceau d'ion et ainsi accroître la précision sur la mesure des rapports isotopiques.

### **5.3 Nucléarisation du microsysteme et couplage ITP/MC-ICP-MS**

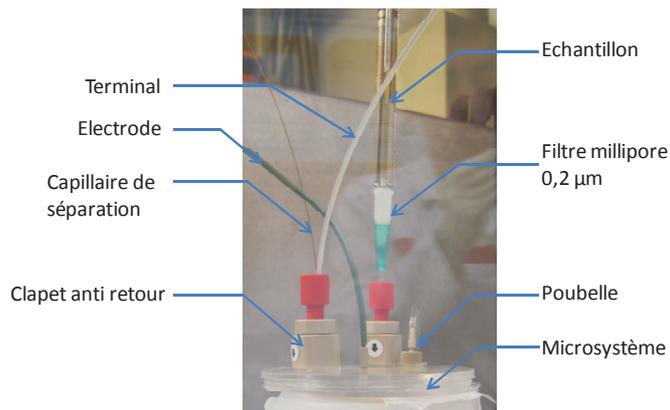
#### **5.3.1 Adaptation du protocole à l'environnement en BAG**

Afin d'empêcher la contamination par des éléments radioactifs, la manipulation d'échantillons nucléaires est réalisée dans des enceintes confinées en dépression (BAG). Pour répondre à cette condition, les spectromètres de masse sont spécialement modifiés. Ainsi, la torche à plasma est placée à l'intérieur de la BAG tandis que les cônes d'échantillonnage et d'épluchage (Figure 5-4) sont disposés au travers de la paroi interne de la BAG. Les analyseurs ne nécessitent pas de nucléarisation car leur fonctionnement implique déjà l'utilisation de vides plus ou moins importants ( $10^{-5}$  à  $10^{-7}$  mbar selon leur nature). Parmi les instruments à disposition, le laboratoire compte un ICP-MS à multicollection Isoprobe (GV Instruments, Manchester, UK) modifié pour une utilisation en zone réglementée (Figure 5-12).



**Figure 5-12 : photographie de la BAG autour de la source du spectromètre de masse MC-ICP-MS en zone réglementée.**

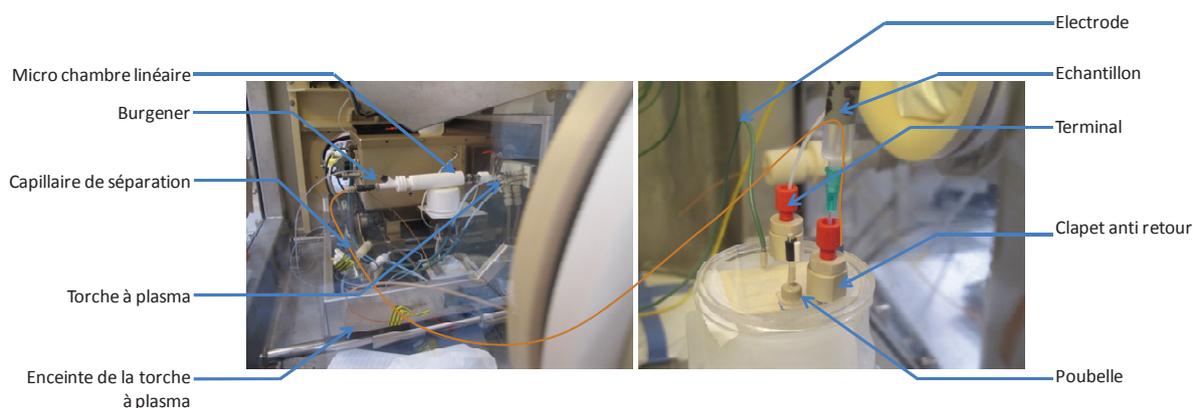
Toute modification de la BAG étant impossible, le couplage du microsysteme avec le spectrometre MC-ICP-MS impose d'ajuster le protocole de fonctionnement du microsysteme avec la configuration actuelle de la BAG. Dans sa version actuelle, pour fonctionner, le microsysteme de seconde generation necessite deux pompes peristaltiques et un pousse seringue (Tableau 4-2), ce qui demanderait un nombre d'entrees electriques et un encombrement superieurs a ce qui etait disponible. La modification du systeme sera a optimiser par la suite. Le role des pompes peristaltiques se limite a delivrer l'electrolyte terminal et l'echantillon, puis a comprimer les tubes pour empêcher la diffusion des contenus des canaux apres leur remplissage. Pour assurer les memes fonctions, des connexions a clapet anti-retour CV-3301 Upchurch (Cluzeau info labo, St Foy la Grande, France) modifiees ont ete integrees au niveau des entrees T et S du microsysteme (voir Figure 4-8).



**Figure 5-13 : photographie du microsysteme nucléarisé.**

Comme ceci est observable sur la Figure 5-13, cette modification permet de substituer l'utilisation des pompes peristaltiques par celle de seringues actionnees manuellement. En prevision du maniemment de materiel nucleaire, la seringue d'electrolyte terminal peut etre eloignee de celle delivrant l'echantillon, ce qui permet de reduire les doses d'exposition par allongement de la

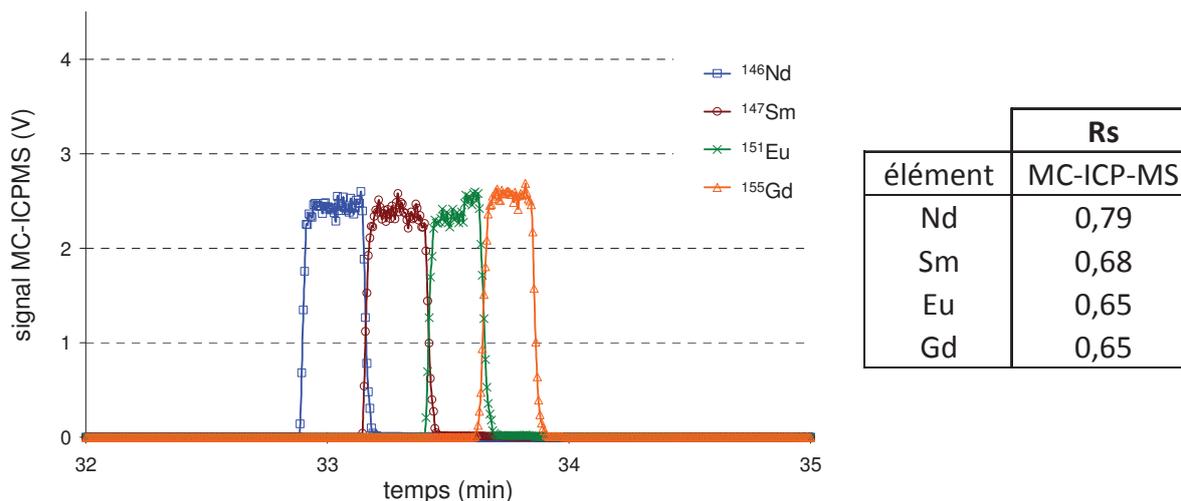
distance. Un filtre seringue Millex-GV 0,2 $\mu$ m (Interchim SA, Montluçon, France) est également intercalé entre le clapet anti-retour et la seringue d'échantillon pour éviter l'injection de particules solides (éventuellement contenues dans l'échantillon) dans le microsysteme et se protéger contre les risques d'obturation. La nucléarisation du pousse seringue demeure cependant indispensable, mais son utilisation est double : dans un premier temps, une seringue d'électrolyte leader est connectée au microsysteme pour la phase de remplissage, puis cette voie d'entrée est déconnectée pour servir de poubelle (Figure 5-13). Une seconde seringue d'électrolyte leader connectée au nébuliseur est alors placée sur le pousse seringue pour délivrer le liquide de compensation à un débit de 10  $\mu$ L/min. La figure 5-14 présente des photographies du microsysteme et de l'interface en BAG.



**Figure 5-14 : photographies du microsysteme de seconde génération nucléarisé en mode couplage. Les légères modifications apportées au microsysteme permettent désormais de procéder au couplage ITP/MC-ICP-MS en BAG, sans modification du protocole de commande précédemment établi et résumé dans le Tableau 4-2.**

### 5.3.2 Séparation en BAG

Comme pour les précédents essais de couplage, les performances de séparation du microsysteme couplé en BAG sont évaluées par l'intermédiaire des résolutions obtenues pour le mélange des 4 lanthanides (Nd, Sm, Eu et Gd) qui sont injectés à hauteur de 5 ng par élément (Figure 5-15).

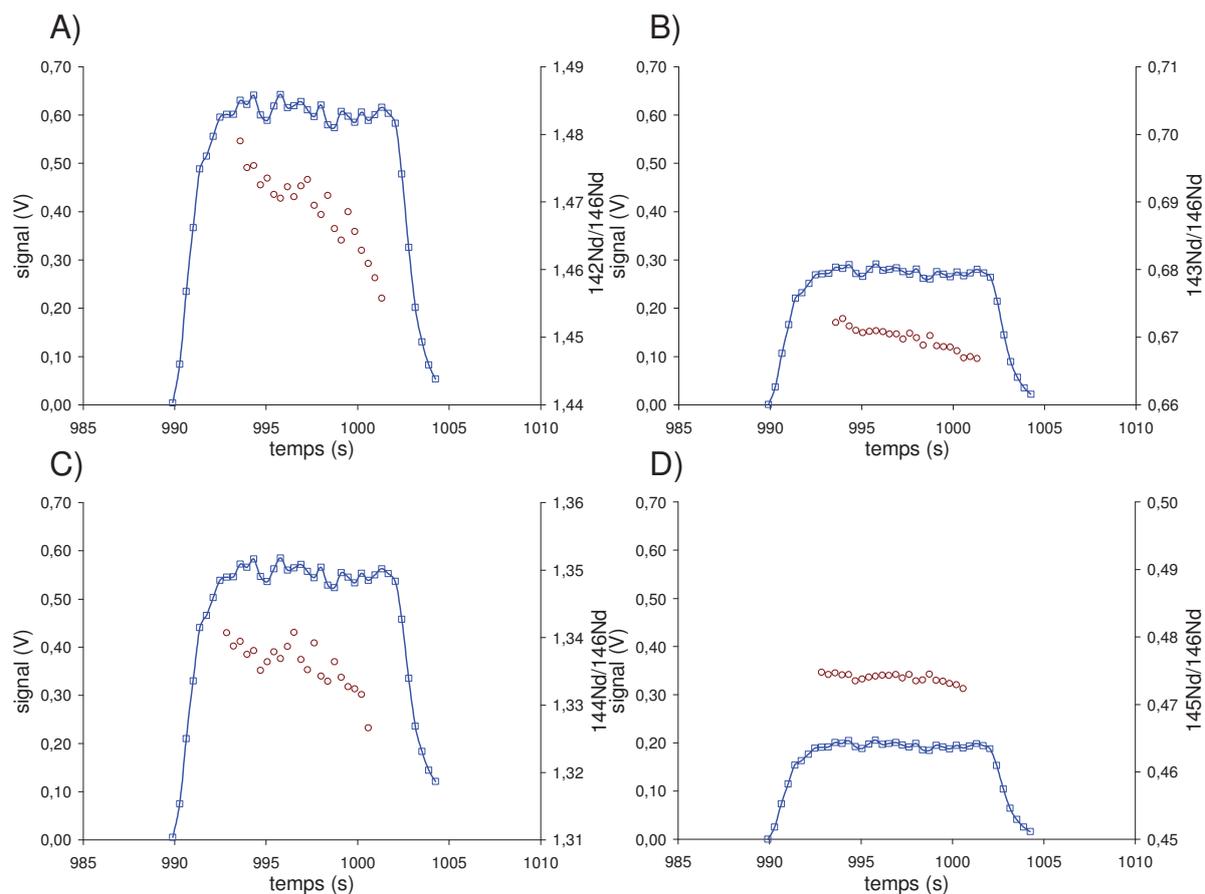


**Figure 5-15 : séparation d'un mélange de 4 lanthanides sur un microsysteme de seconde génération en couplage ITP/MC-ICP-MS. Les conditions de séparation sont identiques à celles du tableau 4-3. Quantité injectée 5 ng par élément.**

Les résolutions mesurées en MC-ICP-MS (Figure 5-15) sont en moyenne supérieures à celles mesurées en ICP-QMS (Figure 5-11). Ceci peut s'expliquer par la simultanéité de l'acquisition des données en MC-ICP-MS, ce qui permet de définir les bandes de soluté par plus de points, notamment les zones de diffusion (montée et descente des bandes). La qualité de la séparation obtenue montre que les clapets anti-retour sont une solution viable pour la mise en œuvre du microsysteme en BAG. Cependant, en plus de leur coût unitaire élevé, ces connexions présentent un volume mort de plusieurs dizaines de microlitres, ce qui semble en contradiction avec la problématique de réduction du volume de déchets. Leur miniaturisation, voire leur intégration dans le microsysteme constitue une nécessité pour aboutir à l'optimisation complète du microsysteme.

### 5.3.3 Mesure de rapports isotopiques sur signaux transitoires

L'utilisation d'un spectromètre de masse à multi collection offre la possibilité de réaliser en ligne des mesures isotopiques sur des signaux transitoires issus d'une séparation par ITP. La séparation des quatre lanthanides présentée sur la Figure 5-15 a été répétée dans des conditions expérimentales analogues et en plaçant les collecteurs (cages de Faraday) dans une configuration visant à la mesure de l'ensemble des isotopes du Nd., (Tableau 5-2). Les rapports  $X_{Nd}/^{146}Nd$  ont été mesurés dans l'intervalle de temps correspondant à la zone d'élution du soluté pur sur le plateau de Nd. Cet intervalle a été défini à partir du calcul de la résolution. Les variations des rapports isotopiques en fonction du temps sont présentées sur la Figure 5-16 pour les isotopes de Nd les plus abondants.



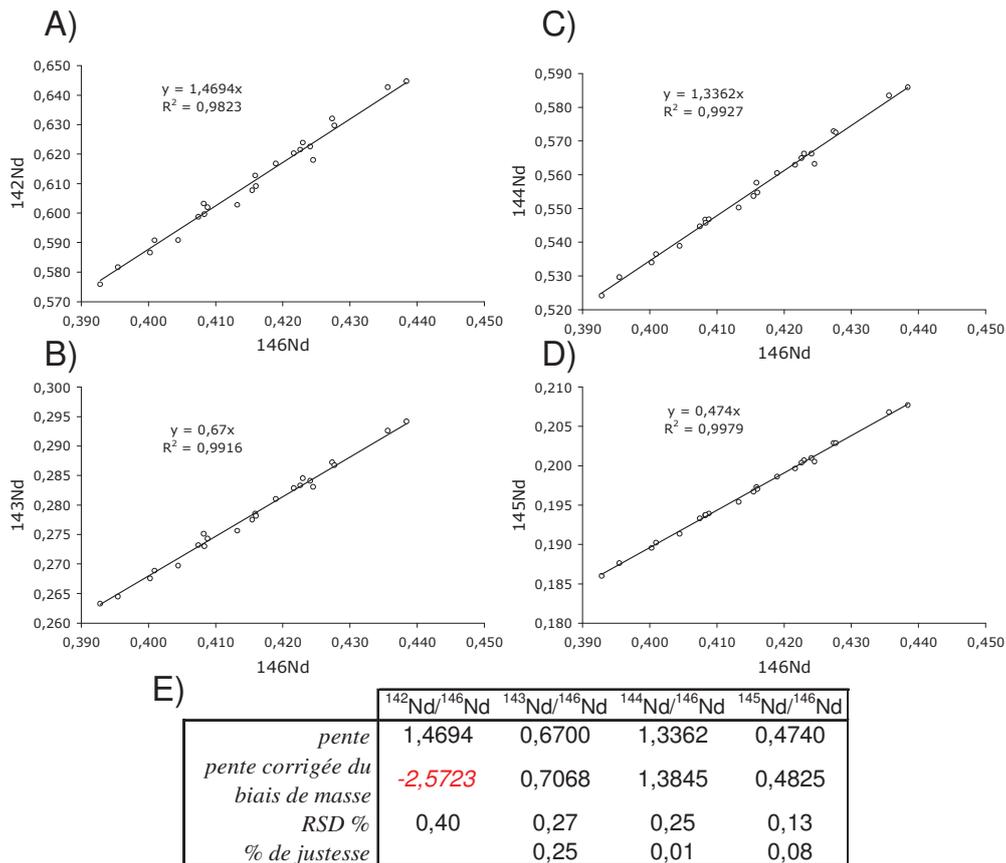
**Figure 5-16 : mesure des rapports isotopiques de Nd en fonction du temps en couplage ITP/MC-ICP-MS. En bleu : signal de l'isotope  $x\text{Nd}$  en fonction du temps. En rouge : rapport  $x\text{Nd}/^{146}\text{Nd}$ . A)  $x = 142$ , B)  $x = 143$ , C)  $x = 144$ , D)  $x = 145$ . Les conditions de séparation sont identiques à celles du tableau 4-3. Quantité injectée 5 ng par élément. Conditions d'intégrations rassemblées en tableau 5-2.**

Les rapports isotopiques ne sont fonction que de la distribution des isotopes durant l'élution. Dans la zone d'élution du soluté pur, leurs valeurs devraient être invariables au cours du temps. Les données brutes obtenues (biais de masse non corrigé) montrent une dérive décroissante des rapports isotopiques au cours du temps : tous les rapports isotopiques ont tendance à décroître au cours du temps. Afin de calculer les rapports isotopiques tout en s'affranchissant de la dérive, le traitement des données pour des signaux transitoires publié par Fietzke et al. [16] et adopté par Donard et al. [17] (Figure 5-17) a été appliqué. Concrètement, ce traitement implique de modéliser sous la forme d'une régression linéaire l'évolution de l'intensité de l'isotope d'intérêt  $x\text{Nd}$  en fonction de celle de l'isotope de référence  $^{146}\text{Nd}$ . La pente du modèle renseigne sur la valeur du rapport isotopique pour le couple  $x\text{Nd}/^{146}\text{Nd}$  après correction du biais de masse.

Le facteur de biais est défini à partir du rapport  $^{142}\text{Nd}/^{146}\text{Nd}$  et des mesures de Dubois et al. [18] obtenues en TIMS par consommation totale et servant de référence au laboratoire (valeur vraie). La formule de correction du biais de masse est donnée par l'équation :

$$R_{corr.} = R_{mes.} \cdot \left( \frac{M_2}{M_1} \right)^\beta \quad \text{Eq. 5-1}$$

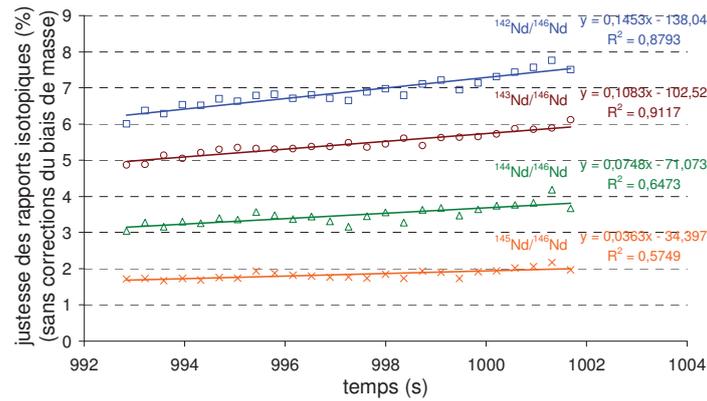
où  $R_{corr}$  et  $R_{mes}$  sont les rapports corrigé et mesuré entre l'intensité mesurée à la masse  $M_2$  et l'intensité mesurée à la masse  $M_1$  et  $\beta$  est le coefficient de discrimination. Concrètement, le coefficient de discrimination est calculé pour un rapport donné, dans notre cas le rapport  $^{142}\text{Nd}/^{146}\text{Nd}$ , puis appliqué aux autres rapports  $^x\text{Nd}/^{146}\text{Nd}$  selon l'expression 5-1.



**Figure 5-17 : représentation des rapports isotopiques selon une méthode de régression linéaire [16, 17]. A) rapport  $^{142}\text{Nd}/^{146}\text{Nd}$ , B) rapport  $^{143}\text{Nd}/^{146}\text{Nd}$ , C) rapport  $^{144}\text{Nd}/^{146}\text{Nd}$ , D) rapport  $^{145}\text{Nd}/^{146}\text{Nd}$ , E) bilan des valeurs des rapports isotopiques et des niveaux de justesse correspondants après correction du biais de masse. La valeur en rouge correspond au coefficient de discrimination calculé pour le rapport  $^{142}\text{Nd}/^{146}\text{Nd}$ .**

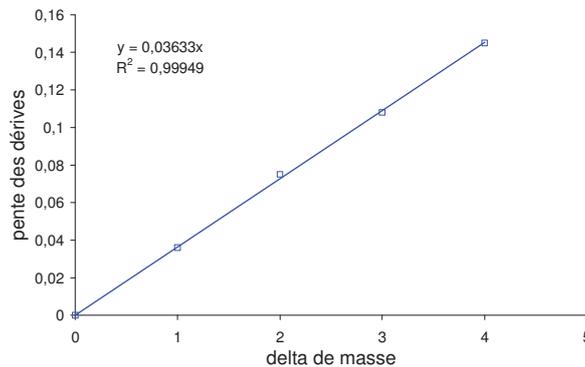
Comme le montre la Figure 5-17 E, ce traitement de données permet d'obtenir des justesses de l'ordre de  $1^0/_{00}$  pour 2 des rapports isotopiques du Nd présentés ici. Cependant, l'existence de la dérive entraîne une reproductibilité des mesures (RSD%) de quelques pour mille qui pourrait donc être améliorée. Il est donc nécessaire d'approfondir les études permettant de comprendre l'origine de cette dérive afin d'espérer la corriger et améliorer cette précision.

Afin d'étudier l'évolution des rapports isotopiques bruts (sans correction du biais de masse) sur toute la durée de la fenêtre de mesure, les variations de leur justesse par rapport aux mesures de Dubois et al. [18] sont modélisées sur la Figure 5-18 sous la forme d'une régression linéaire.



**Figure 5-18 : dérive de la justesse des rapports isotopiques <sup>X</sup>Nd/<sup>146</sup>Nd durant l'analyse par ITP/MC-ICP-MS. Justesse mesurée en fonction des mesures de Dubois et al. [18].**

L'obtention systématique de pentes positives pour des rapports exprimés léger sur lourd indique une diminution des isotopes légers au profit des isotopes lourds lors de l'élution. Il semble que le phénomène observé soit lié à la masse. La Figure 5-19 illustre cette observation en représentant la variation des pentes des dérives obtenues en fonction de la différence de masse entre les isotopes impliqués dans le calcul des rapports.



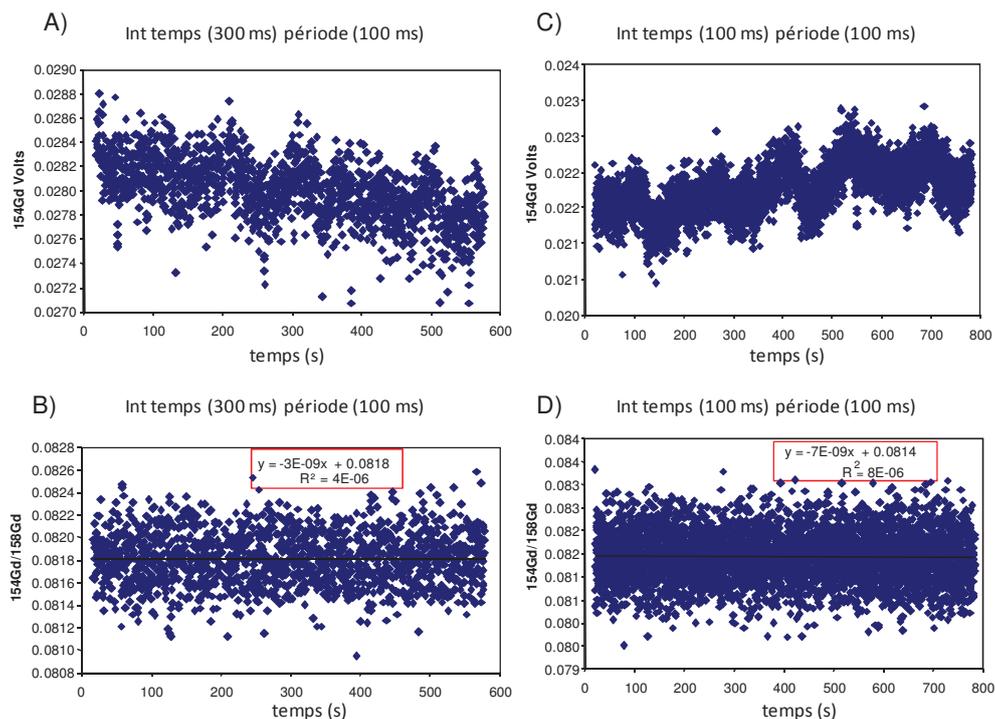
**Figure 5-19 : variation de la pente des dérives des rapports isotopiques en fonction de la différence de masse entre les isotopes considérés. Rapports isotopiques mesurés pour Nd sur des signaux transitoires en ITP/MC-ICP-MS.**

L'obtention d'une évolution parfaitement linéaire confirme, d'une part, l'existence d'une concentration plus importante des isotopes légers en début de plateau d'élution (ou une mesure sous-estimée des isotopes lourds), et d'autre part, la proportionnalité entre l'intensité de la dérive isotopique et la différence de masse des isotopes impliqués. A l'image des hypothèses évoquées par Wehmeier [8] et Günther-Leopold [2], ces résultats semblent soutenir la présence d'un fractionnement isotopique provoqué par le procédé de séparation. Cependant des mesures supplémentaires sont nécessaires pour vérifier l'hypothèse que la dérive des rapports isotopiques est

effectivement une conséquence de la séparation et non d'un système de détection non adapté comme déjà évoqué par plusieurs auteurs [10].

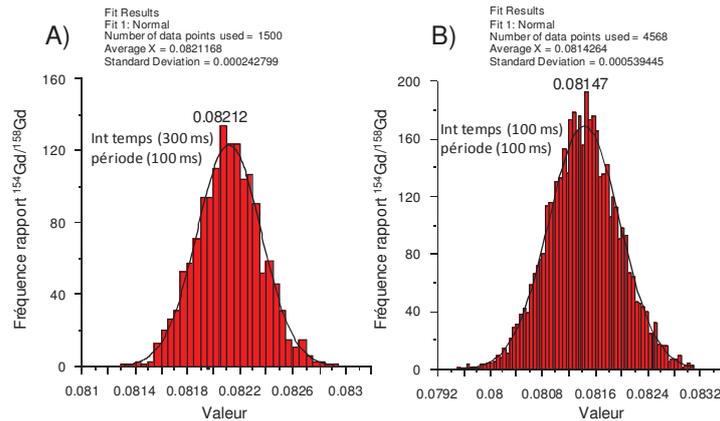
## 5.4 Mesure isotopique en flux continu d'échantillon

A l'inverse des techniques chromatographiques où les solutés sont élués sous forme de pics, l'ITP permet l'obtention de plateaux de concentration constante, exempts de phase mobile et dont l'élution se prolonge sur un intervalle de temps de plusieurs secondes (environ 8 secondes pour les mesures ci-dessus). Le spectromètre de masse n'est donc pas sujet à des changements brutaux de signal qui pourraient entraîner des problèmes d'acquisition en raison du temps de réponse relativement long des cages de Faraday [10]. Pour confirmer ce fait, le dispositif expérimental présenté sur la Figure 5-8 est mis en œuvre pour générer un plateau de concentration constante sans phénomène de séparation en amont. Une solution standard de Gd est installée sur le pousse seringue externe à la BAG et injectée continuellement à un débit de 10 nL/min pendant 10 min. Le but de cette expérience est d'étudier l'influence de la vitesse d'acquisition du spectromètre de masse sur les mesures des rapports isotopiques. Deux réglages sont ainsi comparés : le premier correspond à un temps d'acquisition de 300 ms pour une période d'acquisition de 100 ms et le second correspond à un temps d'acquisition de 100 ms pour une période d'acquisition de 100 ms (qui est la limite inférieure autorisée). En d'autres termes, avec le premier réglage, l'intensité du signal mesuré est moyennée sur trois acquisitions consécutives de 100 ms chacune contre une seule pour le second réglage. Les résultats sont présentés sur la Figure 5-20.



**Figure 5-20 : influence des paramètres d'acquisition (temps-période) sur les mesures isotopiques pour une concentration constante de Gd. A) signal  $^{154}\text{Gd}$ , 300-100 ms, B) rapport  $^{154}\text{Gd}/^{158}\text{Gd}$ , 300-100 ms, C) signal  $^{154}\text{Gd}$ , 100-100 ms, D) rapport  $^{154}\text{Gd}/^{158}\text{Gd}$ , 100-100 ms.**

La réduction du temps d'acquisition (de 300 à 100 ms) se traduit par l'apparition d'une variation périodique du signal de  $^{154}\text{Gd}$  (comparaison des Figures 5-20 A et C) dont l'origine reste encore à déterminer. Ce phénomène n'a cependant pas de répercussion sur la mesure du rapport isotopique  $^{154}\text{Gd}/^{158}\text{Gd}$  (comparaison des Figures 5-20 B et D) car il influence parallèlement les deux isotopes mesurés. Comme précédemment, la présence d'une dérive du rapport isotopique peut être évaluée au travers de la pente et du coefficient de corrélation du modèle de régression linéaire. Les valeurs obtenues pour ces deux paramètres (Figures 5-20 B et D) sont très faibles, ce qui confirme l'absence de dérive isotopique pour un signal généré par une concentration constante de soluté, et ceci même à la fréquence d'acquisition maximale du spectromètre. Les distributions Gaussiennes des rapports  $^{154}\text{Gd}/^{158}\text{Gd}$  pour les deux paramètres d'acquisition (Figure 5-21 A et B) viennent confirmer une distribution purement statistique des rapports isotopiques autour d'une valeur moyenne de plus grande fréquence d'apparition, ce qui conforte l'absence de dérive quelles que soient les conditions d'acquisition pour un signal obtenu par injection continue.



**Figure 5-21 : vérification du respect de la distribution aléatoire des rapports isotopiques  $^{154}\text{Gd}/^{158}\text{Gd}$  pour les différentes conditions d'intégration. A) temps et période d'intégration : 300 ms et 100 ms. B) temps et période d'intégration : 100 ms et 100 ms.**

En conclusion, lorsque le domaine d'intégration des rapports isotopiques se limite à une zone de concentration stable, aucune dérive des rapports ne semble initiée par le système de détection. Des expériences complémentaires de confirmation de ces résultats sont à entreprendre avant d'étudier d'autres hypothèses telles qu'un fractionnement isotopique fonction de la masse lors du processus de séparation.

## 5.5 Conclusion

La réalisation du couplage ITP/ICP-MS a permis de mettre en évidence le principe de migration caractéristique de l'ITP, avec la formation de bandes monoélémentaires de concentration homogène et de longueur fonction de la quantité injectée.

L'interface de nébulisation construite à partir d'éléments commerciaux (nébuliseur Mira Mist CE + micro chambre de nébulisation linéaire) fonctionne correctement. En particulier, aucune dispersion liée soit à un design inadapté, soit à un flux hydrodynamique généré par des phénomènes d'aspiration, n'a été mise en évidence. Cette interface est bien sûr perfectible : un grand nombre de paramètres ont été arbitrairement choisis lors de cette étude et un travail complémentaire doit être entrepris pour optimiser de façon systématique les conditions de fonctionnement de l'interface. Le microsystème de 2<sup>ème</sup> génération doit aussi être amélioré pour, d'une part, minimiser la dispersion qui semble se produire dans la connexion microsystème – capillaire, d'autre part, faciliter sa nucléarisation (miniaturisation des clapets anti-retour ou intégration de micro-vannes, ce qui permettrait la réduction de la quantité d'échantillon nécessaire pour l'analyse et les débits de dose). Dans l'état actuel des choses, le couplage du microsystème ITP avec un spectromètre ICP à multi

collection permet déjà d'atteindre des performances intéressantes, comme l'obtention d'une résolution moyenne de 0,7 pour la séparation d'un mélange de quatre lanthanides (Nd, Sm, Eu et Gd qui sont les principaux éléments utiles à la validation des codes de calculs neutroniques) contenant 5 ng de chaque élément. L'analyse par couplage de combustibles UOX et MOX a permis de montrer le maintien de la capacité de séparation de l'ITP envers les quatre éléments d'intérêt malgré la présence d'une multitude d'éléments susceptibles de générer des interférences. Ces résultats obtenus sur combustibles reconstitués devront évidemment être étendus à des échantillons de combustibles réels. La réalisation de ces expériences suppose d'avoir apporté les améliorations nécessaires au microsysteme.

Enfin, les mesures des rapports isotopiques réalisées en couplage microsysteme ITP/MC-ICP-MS permettent d'obtenir des niveaux de justesse de l'ordre du pour mille, ce qui est comparable aux résultats obtenus par le protocole hors ligne actuellement en vigueur (séparation par chromatographie ionique et analyse isotopique par TIMS) sur des quantités beaucoup plus importantes. Les mesures révèlent cependant une dérive au cours du temps des rapports isotopiques qui semble corrélée avec la masse des isotopes. Cette dérive impacte la reproductibilité des mesures. Inexistante pour des plateaux de concentration constante générés sans le processus de séparation ITP, cette dérive pourrait être la conséquence d'un fractionnement isotopique induit par le mécanisme de séparation ITP, comme cela avait été précédemment évoqué en chromatographie en phase gazeuse et liquide. La compréhension de ce phénomène nécessite de mener d'autres expérimentations (comme par exemple l'étude sur des signaux transitoires sans séparation préalable ou l'influence de la nature des détecteurs), qui ne peuvent pas être entreprises dans les limites de ce travail de thèse, mais qui à terme semblent se révéler indispensables pour la validation des protocoles de mesure des rapports isotopiques à partir de signaux transitoires.

La plateforme développée dans ce travail devrait constituer à terme un outil simple et efficace permettant de parvenir en un minimum de temps à la caractérisation isotopique des lanthanides dans les combustibles usés. Avec la réalisation des améliorations suggérées, les intérêts de ce nouveau dispositif (microsysteme séparatif ITP couplé à un spectromètre MC-ICP-MS) résideront, d'une part, dans la miniaturisation du processus et la diminution importante du volume des déchets produits qui l'accompagne, d'autre part, dans la réduction drastique des débits de dose reçus par les personnels avec la minimisation de la quantité de combustible mis en jeu et la suppression de l'étape de collection des lanthanides.

## Références bibliographiques

- [1] Barrero Moreno, J. M., Betti, M., Nicolaou, G., *Journal of analytical atomic spectrometry* 1999, 14, 785-830.
- [2] Günther-Leopold, I., Kivel, N., Kobler Waldis, J., Wernli, B., *Analytical and Bioanalytical Chemistry* 2008, 390, 503-510.
- [3] Chartier, F., Aubert, M., Pilier, M., *Fresenius' Journal of Analytical Chemistry* 1999, 364, 320-327.
- [4] Song, Q. J., Greenway, G. M., McCreedy, T., *Journal of analytical atomic spectrometry* 2003, 18, 1-3.
- [5] Hui, A. Y. N., Wang, G., Lin, B., Chan, W.-T., *Journal of Analytical Atomic Spectrometry* 2006, 21, 134-140.
- [6] Peterson, Z. D., Bowerbank, C. R., Collins, D. C., Graves, S. W., Lee, M. L., *Journal of Chromatography A* 2003, 992, 169-179.
- [7] Günther-Leopold, I., Wernli, B., Kopajtic, Z., Günther, D., *Analytical and Bioanalytical Chemistry* 2004, 378, 241-249.
- [8] Wehmeier, S., Ellam, R. M., Feldmann, J., *Journal of Analytical Atomic Spectrometry* 2003, 18, 1001-1007.
- [9] Moldovan, M., Krupp, E. M., Holliday, A. E., Donard, O. F. X., *Journal of Analytical Atomic Spectrometry* 2004, 19, 815-822.
- [10] Krupp, E. M., Donard, O. F. X., *International Journal of Mass Spectrometry* 2005, 242, 233-242.
- [11] Krupp, E. M., Pécheyran, C., Pinaly, H., Motelica-Heino, M., Koller, D., Young, S. M. M., Brenner, I. B., Donard, O. F. X., *Spectrochimica Acta Part B: Atomic Spectroscopy* 2001, 56, 1233-1240.
- [12] Krupp, E., Pécheyran, C., Meffan-Main, S., Donard, O. F. X., *Analytical and Bioanalytical Chemistry* 2004, 378, 250-255.
- [13] Hill, S. J., *Inductively Coupled Plasma Spectrometry and its Applications second edition*, Blackwell Publishing, Oxford 2007.
- [14] Nelms, S. M., *Inductively Coupled Plasma Mass Spectrometry Handbook*, CRC Press, Boca Raton 2005.
- [15] de Laeter, J. R., Böhlke, J. K., De Bièvre, P., Hidaka, H., Peiser, H. S., Rosman, K. J. R., Taylor, P. D. P., *Pure and Applied Chemistry* 2000, 75, 683-800.
- [16] Fietzke, J., Liebetrau, V., Gunther, D., Gurs, K., Hametner, K., Zumholz, K., Hansteen, T. H., Eisenhauer, A., *Journal of Analytical Atomic Spectrometry* 2008, 23, 955-961.
- [17] Epov, V. N., Berail, S., Jimenez-Moreno, M., Perrot, V., Pecheyran, C., Amouroux, D., Donard, O. F. X., *Analytical Chemistry* 2010, 82, 5652-5662.
- [18] Dubois, J. C., Retali, G., Cesario, J., *International Journal of Mass Spectrometry and Ion Processes* 1992, 120, 163-177.

# Conclusion générale

De par l'ampleur et la diversité de ses applications, la caractérisation juste et reproductible en isotopie et en concentration des radioéléments est une des thématiques essentielles et en constante progression des laboratoires d'analyse dans le domaine du nucléaire. C'est dans ce contexte que les travaux de thèse présentés dans ce manuscrit, avaient pour objectif l'élaboration d'un protocole de séparation miniaturisé des lanthanides. Les résultats obtenus permettent des avancées techniques et méthodologiques dans de multiples domaines tel que le respect du protocole ALARA, le champ d'application des techniques d'électroséparation et des microsystèmes analytiques ainsi qu'en matière de techniques couplées et de mesures isotopiques.

Le principe ALARA vise à la recherche de solutions innovantes capables de réduire entre autres l'impact environnemental et sanitaire du processus de validation des codes de calculs neutroniques. Selon le respect de ce principe, une étude bibliographique a été initiée afin de conduire à l'amélioration ou au remplacement de la phase de séparation préparative des PF par chromatographie ionique, sans modification des protocoles analytiques amont et aval. Parmi toutes les techniques séparatives possibles, seule l'isotachophorèse (ITP) permet de satisfaire simultanément aux contraintes de miniaturisation et de capacité volumique de traitement par rapport aux échantillons à caractériser. Cette technique qui ne requière que l'application de champ électrique offre de plus un potentiel de miniaturisation accru une fois transposée sur microsystème séparatif.

La première phase de développement, conduite sur capillaire, s'est attachée à définir un système d'électrolytes simplifié à l'extrême, sans toutefois sacrifier la qualité de séparation des lanthanides. Les propriétés complexantes de ces éléments ont ainsi été exploitées afin de générer au contact d'un agent complexant unique et rigoureusement sélectionné une sélectivité intra-période suffisamment importante pour permettre leur séparation. Par souci de compatibilité avec les protocoles de mesure isotopique par TIMS ou ICP-MS et avec le principe CHON utilisé pour faciliter le retraitement des déchets, aucun modificateur organique et aucun sel inorganique n'ont été incorporés à la composition des électrolytes. Outre leur simplicité, les conditions de séparation sont également d'une grande robustesse car elles permettent de séparer les lanthanides essentiels à la validation des codes de calculs neutroniques (Nd, Sm, Eu et Gd) sur matrice réelle reconstituée (combustibles UOX et MOX).

Les premiers résultats de séparation bien qu'encourageants ont alors montré les faiblesses de la méthode avec une sensibilité, en terme de traitement massique, inférieure ou égale à l'étape

de chromatographie sujet à remplacement. Une étude d'optimisation basée sur les expressions théoriques de l'ITP a été menée afin d'identifier les sources de dispersion du système conduisant à la faible sensibilité de la méthode de séparation. Pour ce faire, une méthode de détermination expérimentale de la résolution a été développée en se basant sur la définition première de la résolution. Cette grandeur faisant directement le lien entre le pouvoir de séparation et la dispersion totale du système a permis de vérifier les expressions théoriques, mais également d'abaisser la quantité minimale d'injection de l'élément limitant à une quantité de seulement 5 ng. Cette grandeur correspond à la limite massique actuelle de fonctionnement du TIMS pour la réalisation de mesures isotopiques.

Sous l'exemple de l'ITP, les techniques d'électroséparation démontrent ainsi un potentiel séparatif encore non exploité par l'industrie du nucléaire, d'autant que leur transposition sur microsystème à l'image de ces travaux est simplifiée. En effet, seuls deux prototypes ont été nécessaires à la réalisation d'un dispositif fonctionnel capable de donner des séparations de bonne qualité. Ces systèmes résolvent par la même occasion les contraintes de modification des appareillages commerciaux indispensables à leur utilisation en BAG. Par leur caractère jetable, ils suppriment également tout besoin de maintenance. Enfin leur procédé de fabrication étant rapide, reproductible et peu onéreux, ils permettent de disposer pour chaque analyse d'un nouveau dispositif de séparation, ce qui supprime les phases de rinçage des instruments d'analyse qui sont longues, productrices de déchets liquides et d'expositions mais indispensables pour se prévaloir de contaminations croisées entre les échantillons.

Lors de la phase d'optimisation, les limitations techniques des deux protocoles de mesure isotopique (en ligne et hors ligne) ont été comparées. Pour ses capacités de miniaturisation supérieures et sa "simplicité" de mise en fonction, seul le protocole de mesure en ligne des rapports isotopiques a été instruit. Pour la première fois, le couplage ITP – ICPMS a été réalisé, avec de surcroît une extension au couplage microsystème ITP – ICPMS en BAG. Les débouchés de ce couplage se sont avérés multiples. En effet, il a permis de vérifier expérimentalement la formation de bandes monoélémentaires de concentration constante dans le temps et de longueur de plateau proportionnelle à la quantité introduite dans le système. L'apport de sélectivité de la détection masse a permis de valider le mode de calcul de la résolution basé sur un signal conductimétrique et sur lequel reposait le procédé d'optimisation. Le calcul de la résolution servant également à localiser la zone pure des plateaux, ce traitement graphique permet d'identifier très précisément les intervalles d'intégration pour la réalisation de mesures isotopiques. Le profil d'élution atypique de l'ITP se révèle particulièrement favorable à ce type de mesure en ligne. Il est à noter que l'on observe une dérive des rapports isotopiques au cours du temps, conformément à ce qui a déjà été reporté pour des pics d'élution de chromatographie en phase liquide ou gazeuse. Si cette dérive impacte

légèrement la reproductibilité de la mesure des rapports isotopiques (quelques pour mille), elle n'affecte pas la justesse de ces mesures qui est de l'ordre du pour mille, ce qui est conforme aux exigences de la caractérisation isotopique des combustibles. L'origine de cette dérive demeure actuellement mal comprise et nécessite des expériences complémentaires avant de pouvoir définitivement conclure sur la présence d'un fractionnement isotopique induit par le mécanisme de séparation. Dans ces conditions, l'utilisation de l'ITP devrait s'avérer déterminant pour la compréhension du ou des phénomènes physiques responsables de ces dérives.

Concrètement, avec le protocole séquentiel actuel, le processus d'analyse après l'étape de préparation d'échantillon demande approximativement deux jours de travail et produit plus de deux litres d'effluents contaminés (solutions de rinçage et de calibrage du système de séparation comprises). Le passage au nouveau protocole abaisse le temps d'analyse à seulement quelques heures, pour une production de déchets liquides de quelques dizaines de microlitres, le tout contenu sur une plateforme miniaturisée jetable. Certes, des études restent nécessaires, en particulier au niveau de l'intégration en boîte à gants (connexions, introduction des échantillons, ....), avant de pouvoir substituer ce nouveau protocole au processus d'analyse actuellement utilisé au laboratoire.

Cette étude demeure à notre connaissance le premier exemple d'application d'une plateforme séparative miniaturisée à une problématique nucléaire. Elle illustre à la fois la validité de mise en œuvre et le potentiel d'application de tels systèmes, avec en particulier une implantation possible des techniques d'électro-séparation en boîte à gants (étude de spéciation, détermination de constantes de complexation, ...), le tout dans une démarche parfaitement en accord avec la réglementation particulière de l'industrie du nucléaire (principe ALARA).

## Annexe I : Construction des diagrammes d'abondances des formes complexées

La construction des diagrammes de prédominance implique d'exprimer la proportion de chacune des formes complexées en solution en fonction des constantes d'équilibres tabulées (constante de formation, constante de dissociation, constante de précipitation etc...) par rapport à la quantité initialement introduite en élément avant réaction. La manipulation des constantes d'équilibre impose de respecter deux principes fondamentaux :

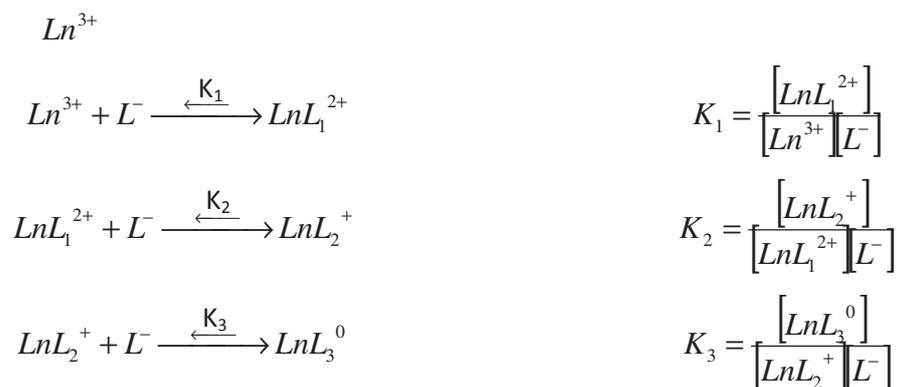
- la loi de conservation de la matière
- le principe d'électroneutralité

### Récapitulatif des formes en solution et constantes d'équilibres associées

*Equilibre de dissociation de l'agent complexant*



*Equilibres de complexation impliquant les lanthanides*



*Expressions de la concentration des ions en solution en fonction des relations précédentes*

$$\begin{aligned} [L^-] &= \frac{[HL]K_a}{[H^+]} \\ [Ln^{3+}] &= [Ln^{3+}] \\ [LnL_1^{2+}] &= K_1 [Ln^{3+}][L^-] \end{aligned}$$

$$[LnL_2^+] = K_1 K_2 [Ln^{3+}] [L^-]^2$$

$$[LnL_3^0] = K_1 K_2 K_3 [Ln^{3+}] [L^-]^3$$

### Loi de conservation de la matière

$$[HL]_{tot} = [HL] + [L^-]$$

$$[Ln^{3+}]_{tot} = [Ln^{3+}] + [LnL_1^{2+}] + [LnL_2^+] + [LnL_3^0]$$

Soit

$$[HL]_{tot} = [L^-] \left( 1 + \frac{[H^+]}{K_a} \right) = [L^-] (1 + 10^{pK_a - pH})$$

$$[Ln^{3+}]_{tot} = [Ln^{3+}] (1 + K_1 [L^-] + K_1 K_2 [L^-]^2 + K_1 K_2 K_3 [L^-]^3)$$

Dans les équations précédentes, les concentrations en  $[HL]_{tot}$  et  $[Ln^{3+}]_{tot}$  sont constantes et égales aux concentrations fixées en solution. Que ce soit pour les lanthanides ou pour l'agent complexant sous sa forme déprotonnée, l'abondance de chacune des espèces en solution notée  $p_i$  s'exprime par le rapport de l'espèce cible sur sa concentration totale. Il en résulte les expressions suivantes :

$$p_{[Ln^{3+}]} = \frac{[Ln^{3+}]}{[Ln^{3+}]_{tot}} = \frac{[Ln^{3+}]}{[Ln^{3+}] (1 + K_1 [L^-] + K_1 K_2 [L^-]^2 + K_1 K_2 K_3 [L^-]^3)} = \frac{1}{1 + K_1 [L^-] + K_1 K_2 [L^-]^2 + K_1 K_2 K_3 [L^-]^3} = 1$$

de même :

$$p_{[LnL_1^{2+}]} = \frac{[LnL_1^{2+}]}{[Ln^{3+}]_{tot}} = \frac{K_1 [L^-]}{1 + K_1 [L^-] + K_1 K_2 [L^-]^2 + K_1 K_2 K_3 [L^-]^3}$$

$$p_{[LnL_2^+]} = \frac{[LnL_2^+]}{[Ln^{3+}]_{tot}} = \frac{K_1 K_2 [L^-]^2}{1 + K_1 [L^-] + K_1 K_2 [L^-]^2 + K_1 K_2 K_3 [L^-]^3}$$

$$p_{[LnL_3^0]} = \frac{[LnL_3^0]}{[Ln^{3+}]_{tot}} = \frac{K_1 K_2 K_3 [L^-]^3}{1 + K_1 [L^-] + K_1 K_2 [L^-]^2 + K_1 K_2 K_3 [L^-]^3}$$

A noter que dans les équations ci-dessus, la grandeur  $[L^-]$  correspond uniquement à la forme dissociée de l'agent complexant. Une correction doit donc s'appliquer telle que  $[L^-] = p_{L^-} [HL]_{tot}$  avec

$$P_{[L^-]} = \frac{[L^-]}{[HL]_{tot}} = \frac{[L^-]}{[L^-](1 + 10^{pKa-pH})} = \frac{1}{1 + 10^{pKa-pH}}$$

Ces équations sont formulées à titre indicatif pour traduire en fonction de la concentration en lanthanide, en agent complexant et du pH, la proportion en solution des complexes  $[LnL_n]^{3-n}$  et définir le domaine offrant la plus grande diversité des formes complexées et donc des mobilités électrophorétiques. Ces équations sont formulées selon l'approximation d'une activité unitaire.

## **Annexe II : Suppression de l'écoulement électroosmotique : optimisation du traitement au PVA**

Deux grandes catégories de traitement existent : les traitements dynamiques et les traitements statiques ou permanents. Les traitements dynamiques, nécessitent la solubilisation de polymères organiques dans les électrolytes. Leur utilisation impose des contraintes quant aux retraitements des déchets et ne satisfont donc pas au protocole des mesures isotopiques. Les traitements permanents quant à eux impliquent de masquer les fonctions Si-OH de surfaces des capillaires par l'adsorption et la fixation d'une fine couche de polymère. Dans ces conditions, aucune modification de la composition des électrolytes n'est nécessaire. Le composé retenu est l'alcool polyvinylique (PVA) de poids moléculaire 89000 à 98000 g/mol et hydrolysé à plus de 99% (Sigma Aldrich, Isle d'Abeau, France). Le protocole de traitement utilisé s'inspire de celui présenté par Gilges et al.[6]. En résumé, le capillaire est rempli avec une solution aqueuse de PVA et laissé plusieurs heures en présence de cette solution. Le capillaire est ensuite vidé de son contenu par l'application d'une pression de N<sub>2</sub>. La fixation du PVA adsorbé sur la paroi du capillaire est réalisée par cuisson sous flux de N<sub>2</sub> afin de faciliter l'évacuation de la vapeur d'eau et d'éviter l'obstruction du capillaire. Cette phase de chauffage assure la réorganisation des chaînes macromoléculaires du PVA en une structure pseudo-cristalline le rendant hydrophobe, ce qui améliore sa longévité. Les détails expérimentaux de ce protocole de traitement seront donnés ultérieurement.

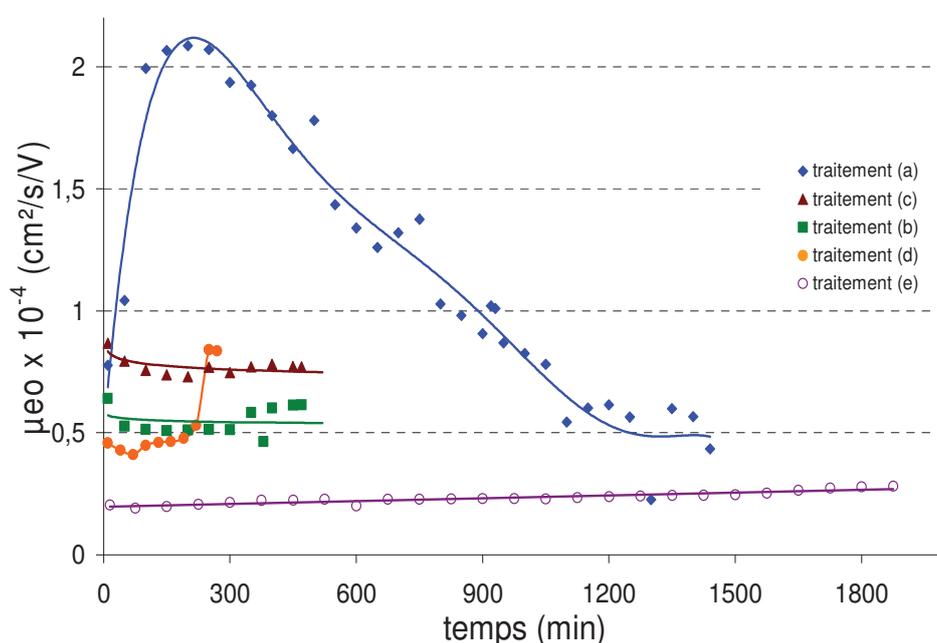
L'adsorption du PVA repose sur la formation de liaisons hydrogènes. Le dépôt de PVA se faisant au pH de l'eau pure (environ 6), la densité de charge de surface est majoritairement anionique, ce qui réduit les performances du traitement et conduit à la persistance d'un écoulement électroosmotique résiduel non négligeable. L'optimisation du traitement nécessite l'augmentation de la densité des fonctions silanols non dissociées lors de la phase de remplissage du capillaire avec le PVA. Cinq protocoles ont été comparés :

- (a) utilisation d'un capillaire de silice vierge non traité au PVA servant de témoin
- (b) traitement du capillaire par une solution de PVA basifiée à pH 10 par ajout de soude
- (c) traitement du capillaire par du PVA en solution dans l'eau pure (protocole de Gilges et al.)
- (d) traitement du capillaire par une solution de PVA acidifiée à pH 1 par ajout d'acide chlorhydrique
- (e) rinçage préalable du capillaire par, successivement, une solution de soude 1 M (2 bar, 30 min) et une solution d'acide chlorhydrique 1 M (2 bar, 30 min), puis séchage sous azote (2

bar, 10 min) et enfin traitement par une solution de PVA acidifiée à pH 1 par ajout d'acide chlorhydrique.

Dans tous les protocoles présentés, le capillaire est tout d'abord rempli par la solution de PVA à une pression de 5 bar de N<sub>2</sub> pendant 90 min, puis vidé sous une pression de 2 bars et chauffé pendant 8 heures à 145°C sous circulation de N<sub>2</sub> (2 bar). L'objectif étant de traiter un capillaire de 30 µm de diamètre interne, la concentration des solutions de PVA est limitée à 5% en masse, ceci afin de conserver une certaine fluidité de la solution de traitement.

La détermination de la mobilité électroosmotique résiduelle du support est réalisée avec l'électrolyte leader selon la méthode décrite au paragraphe 2.4.1. Le suivi de cette grandeur dans le temps permet de rendre compte de la longévité du traitement. Les résultats sont présentés sur la Figure I-1.



**Figure I.1 : Suivi de la mobilité électroosmotique dans le temps pour les différents traitements PVA.**  
Conditions expérimentales : capillaire de 75 µm de diamètre interne, L = 32 cm, l = 8,5 cm, tension = -28 kV.  
Électrolyte de séparation : électrolyte leader de composition optimisée. Echantillon : thiourée 20 mg/L.  
Détection : UV/Vis à 254 nm.

Comme le montre la Figure I-1, le fait de traiter le capillaire par une solution de PVA (traitements (b) à (e)) permet de réduire fortement son temps d'équilibrage et donc de stabiliser rapidement la mobilité électroosmotique du support. D'autre part, le traitement s'avère d'autant plus efficace que le pH de la solution de PVA est acide (traitements (d) et (e)). L'utilisation d'une solution de dépôt à pH acide assure en effet le maintien des groupements silanols de surface sous leur forme protonée, ce qui favorise la création de liaisons hydrogènes avec le PVA. Dans la continuité de ce raisonnement, l'étape de dépôt du PVA en solution acide précédée par un protocole de rinçage du capillaire avec une solution basique puis acide (traitement (e)) est encore plus efficace. La solution de soude permet

l'hydrolyse des fonctions siloxanes Si-O-Si, ce qui augmente la densité des groupements silanolates Si-O<sup>-</sup> en surface du capillaire. Ces groupements sont à leur tour reprotonés par rinçage avec la solution d'acide chlorhydrique avant dépôt du PVA en solution acide. Il en résulte une augmentation de la densité des sites d'adsorption, ce qui se manifeste par une réduction de près d'un facteur 2 de la mobilité électroosmotique par rapport au traitement avec seulement une solution de PVA acidifié. Un gain de stabilité du traitement est également constaté avec une persistance du traitement après plus de 30 heures d'utilisation continue.

**Annexe III : Conditions électrolytiques et expérimentales  
d'électrodéposition pour la fabrication de canaux  
d'approximativement 150  $\mu\text{m}$  d'épaisseur**

	bain nickel de Wood (accroche)		bain nickel (croissance)
<b>électrolyte</b>			
H <sub>2</sub> O	2,5 L	H <sub>2</sub> O	5 L
NiCl <sub>2</sub> , 6H <sub>2</sub> O	960 g	NiSO <sub>4</sub> , 6 H <sub>2</sub> O	1425 g
HCl 30%	500 mL	NiCl <sub>2</sub> ,6H <sub>2</sub> O	300 g
		H <sub>3</sub> BO <sub>3</sub>	225 g
		H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> 3%	5 mL
<b>paramètres</b>			
T	50 °C	T	55 °C
I	166 mA	I	332 mA
V	10 V	V	10 V
agitation	500 tour/min	agitation	700 tour/min
durée	5 min	durée	60 min

## Annexe IV : Composition massique des combustibles MOX et UOX reconstitués

combustible reconstitué MOX	
élément	abondance massique
Ge	0,0015%
As	0,0004%
Se	0,15%
Br	0,06%
Kr	0,94%
Rb	0,91%
Sr	2,11%
Y	1,18%
Zr	9,85%
Nb	0,000006%
Mo	9,72%
Tc	2,09%
Ru	7,17%
Rh	1,07%
Pd	5,25%
Ag	0,23%
Cd	0,41%
In	0,00%
Sn	0,24%
Sb	0,06%
Te	1,49%
I	0,68%
Xe	15,80%
Cs	7,01%
Ba	5,10%
La	3,42%
Ce	6,82%
Pr	3,15%
Nd	11,60%
Pm	0,10%
Sm	2,14%
Eu	0,51%
Gd	0,68%
Tb	0,01%
Dy	0,01%
Ho	0,00%

combustible reconstitué UOX	
élément	abondance massique
Ge	0,0015%
As	0,0005%
Se	0,12%
Br	0,05%
Kr	0,58%
Rb	0,53%
Sr	1,15%
Y	0,64%
Zr	7,32%
Nb	0,000004%
Mo	9,21%
Tc	2,14%
Ru	8,44%
Rh	1,95%
Pd	8,27%
Ag	0,47%
Cd	0,78%
In	0,01%
Sn	0,38%
Sb	0,10%
Te	1,75%
I	0,91%
Xe	15,10%
Cs	8,23%
Ba	4,93%
La	3,15%
Ce	6,32%
Pr	2,98%
Nd	10,40%
Pm	0,12%
Sm	2,48%
Eu	0,67%
Gd	0,75%
Tb	0,03%
Dy	0,04%
Ho	0,01%

En rouge éléments non introduits dans les combustibles reconstitués soit du fait de leur état physique soit en raison de la disponibilité du standard correspondant

## Résumé

La caractérisation juste et reproductible en isotopie et en concentration des radioéléments est l'une des thématiques essentielles des laboratoires d'analyse dans le domaine du nucléaire. Par exemple, l'analyse des combustibles nucléaires irradiés est indispensable pour valider les codes de calculs neutroniques, en particulier pour les études relatives au retraitement des combustibles usés et à la gestion des déchets nucléaires. Afin de minimiser les temps de manipulation en boîte à gants des personnels et la production de déchets radioactifs liés à l'analyse de combustibles nucléaires, il est nécessaire de proposer des solutions efficaces et innovantes. Depuis quelques années, la miniaturisation des systèmes séparatifs constitue l'un des axes de développement majeurs de la chimie analytique et ces microsystèmes constituent certainement une des solutions pour répondre aux exigences de l'analyse nucléaire. Ce travail a pour objectif la conception d'une plateforme analytique miniaturisée et à usage unique, dédiée à la séparation des lanthanides, issus des combustibles usés, en amont de leur analyse par spectrométrie de masse.

Destiné à remplacer une étape de séparation chromatographique au centre d'un processus analytique de trois étapes, le nouveau protocole basé sur l'isotachophorèse (ITP) doit satisfaire un cahier des charges précis. Les propriétés de complexation des lanthanides ont d'abord été exploitées afin d'obtenir avec un agent chélatant unique et rigoureusement sélectionné, l'acide 2-hydroxy-2-méthylbutyrique (HMBA), la sélectivité intra période nécessaire à leur séparation complète par ITP. Basées sur des modèles théoriques existants, des études complémentaires, notamment des paramètres influençant la résolution, ont permis l'amélioration des performances globales du système ainsi que son dimensionnement.

Pour réduire drastiquement le volume de déchets liquides secondaires (solutions de rinçage) et la manipulation de matériaux et de matériels radioactifs, le protocole a été implanté sur un microsystème polymérique jetable en COC, spécialement développé pour cette application. Ce microsystème a ensuite été couplé à un spectromètre de masse à multi collection et source à plasma à couplage inductif pour mesurer les rapports isotopiques. Conformément aux recommandations du cahier des charges, le niveau de justesse obtenu sur les rapports isotopiques est de quelques pour mille. Mais, comme avec les techniques chromatographiques couplées, on observe une dérive des rapports isotopiques mesurés sur les signaux transitoires d'ITP et ceci malgré le profil d'élution en bandes monoélémentaires présentant un plateau de concentration constant. Cette dérive, entraîne une répétabilité des mesures des rapports isotopiques mesurés de quelques pour mille.

Par rapport au protocole utilisé actuellement pour séparer les produits de fission, la séparation par ITP sur micro-système développée permet de gagner un facteur 4 à 5 sur le temps de manipulation (quelques heures contre deux jours) et de diviser approximativement par 10000 le volume des déchets liquides générés par l'analyse des lanthanides dans les combustibles nucléaires usés (plusieurs litres contre quelques dizaines à quelques centaines de microlitres), tout en conservant les mêmes performances analytiques.

## Mots clés

Isotachophoresis (ITP), lanthanides, combustibles nucléaires usés, microsystèmes analytiques, copolymère d'oléfine cyclique (COC), acide 2-hydroxy-2-méthyle butyrique (HMBA), couplage ITP/ICP-MS, rapports isotopiques, signaux transitoires.

## Abstract

The accurate and reproducible characterization of radioactive solutions in isotope composition and concentration is an essential topic for analytical laboratories in the nuclear field. The analysis of spent nuclear fuel is very important to validate neutronic codes used for the recycling studies and the management of nuclear wastes. In order to reduce manipulation time in glove box and production of contaminated wastes, it is necessary to propose innovative and efficient solutions for these analyses. Since few years, microchips are a major field of development in analytical chemistry and those devices could provide a solution which fits the needs of nuclear industry. The aim of this work is to design a disposable analytical micro-device devoted to lanthanide separation from spent nuclear fuel before their analysis in mass spectrometry.

Designed to be used in place of a separation process by liquid chromatography which is involved in a three step protocol, the new protocol based on isotachopheresis (ITP) keeps compatible with the other two steps. The complete separation of lanthanides by ITP was obtained by the use of only one chelating compound rigorously selected : the 2-hydroxy 2-methyl butyric acid (HMBA). The main parameters involved in solute resolution were defined from the theoretical models of ITP and experimental studies of the influence of these parameters allowed to optimize the geometry of the system and to improve its performances.

To suppress cleaning of the system and, consequently, to strongly reduce both liquid waste volume and handling radioactive material, the ITP protocol was transferred in a polymeric (COC) disposable microchip especially developed for this purpose. Afterwards the chip was coupled to a multi collection inductively coupled plasma mass spectrometer in order to perform isotopic ratio measurements. As from chromatographic peaks, a drift of isotopic ratio is observed on transient signals from ITP, in spite of the elution profile made of mono-elementary bands with an horizontal plateau corresponding to a constant elution concentration. However, with this drift, the accuracy and precision of isotopic ratio measurements are of the order of a few per thousand, which is totally satisfactory.

Compared with the protocol currently used to separate the fission products, the ITP separation on microchip allows to reduce by a factor 4 to 5 the handling time (few hours versus two days) and to divide by about 10000 the waste volume produced during lanthanide analysis from spent nuclear fuel (several liters versus few tens to few hundreds of microliters), without lost of analytical performances.

## Key words

Isotachopheresis (ITP), lanthanides, spent nuclear fuel, analytical microchips, cyclic olefin copolymer (COC), 2-hydroxy-2-methylbutyric acid (HMBA), hyphenation ITP/ICP-MS, isotopic ratios, transient signals.