

**Titre du projet d'étude post-doctorale :** Développement de microsysteme séparatif basé sur la synthèse in-situ de supports monolithiques à caractère hydrophile dans les microcanaux pour l'analyse de molécules polaires en mode HILIC – Application à la séparation de lanthanides en milieu complexant.

**Post-doc :** Nathaly Henry

**Mots-clés :** HILIC, microsystemes séparatifs, monolithes fonctionnalisés, acides aminocarboxyliques, lanthanides, LIF, ESI-MS

**Domaine d'application privilégié:** environnement, toxicologie

**Directeur du projet :** PICHON Valérie Laboratoire (nom et adresse) : LSABM (équipe de l'UMR PECSA 7195, dir. P. Levitz) – 10 rue Vauquelin, 75231 Paris Cedex 05, Courriel : valerie.pichon@espci.fr

**Collaboration:** CEA/DPC/LANIE, BRESSON Carole, projet d'étude, compétences, matériel et applications d'intérêts communs.

## 1. Introduction

Dans le cadre des études sur la gestion des déchets nucléaires, un des axes de recherche vise à séparer des éléments tels que les lanthanides et les actinides, à partir de solutions de combustibles nucléaires usés. Différents procédés impliquant des étapes d'extraction et de désextraction sélectives à l'aide de molécules complexantes, ont été développés. L'analyse en phase aqueuse de complexes de Ln(III)/An(III), formés par ces molécules complexantes utilisées lors du traitement de ces combustibles est alors essentielle pour évaluer les performances de chacune des étapes d'extraction. Dans ce contexte, une méthode d'analyse en chromatographie en phase liquide en mode HILIC (*Hydrophilic Interaction LIquid Chromatography*) a été développée, dans la mesure où il s'agit d'une méthode particulièrement adaptée à l'analyse des composés polaires<sup>1,2,3</sup>. L'objectif de cette étude étant la miniaturisation, les analyses ont été réalisées sur des systèmes miniaturisés afin de conduire à des analyses rapides, sensibles, limitant la consommation de réactifs et la production de déchets et réduisant la dose radioactive reçue par les opérateurs du nucléaire.

Pour ce faire, des phases monolithiques ont été synthétisées *in situ* au sein de capillaires de 100 µm de diamètre interne. Puis l'effet de différents paramètres tels que la quantité de monomères fonctionnels polaires, de monomères réticulant et du solvant de synthèse, a été étudié afin d'obtenir une perméabilité adaptée à l'écoulement des fluides et au développement d'interactions propres au mode HILIC. Des analyses en nano-HPLC/UV ont été effectuées sur ces supports monolithiques miniaturisés afin de caractériser les différents types d'interactions participant au mécanisme de rétention. Pour ce faire, des composés polaires modèles facilement détectables ont été utilisés.

## 2. Principaux résultats obtenus

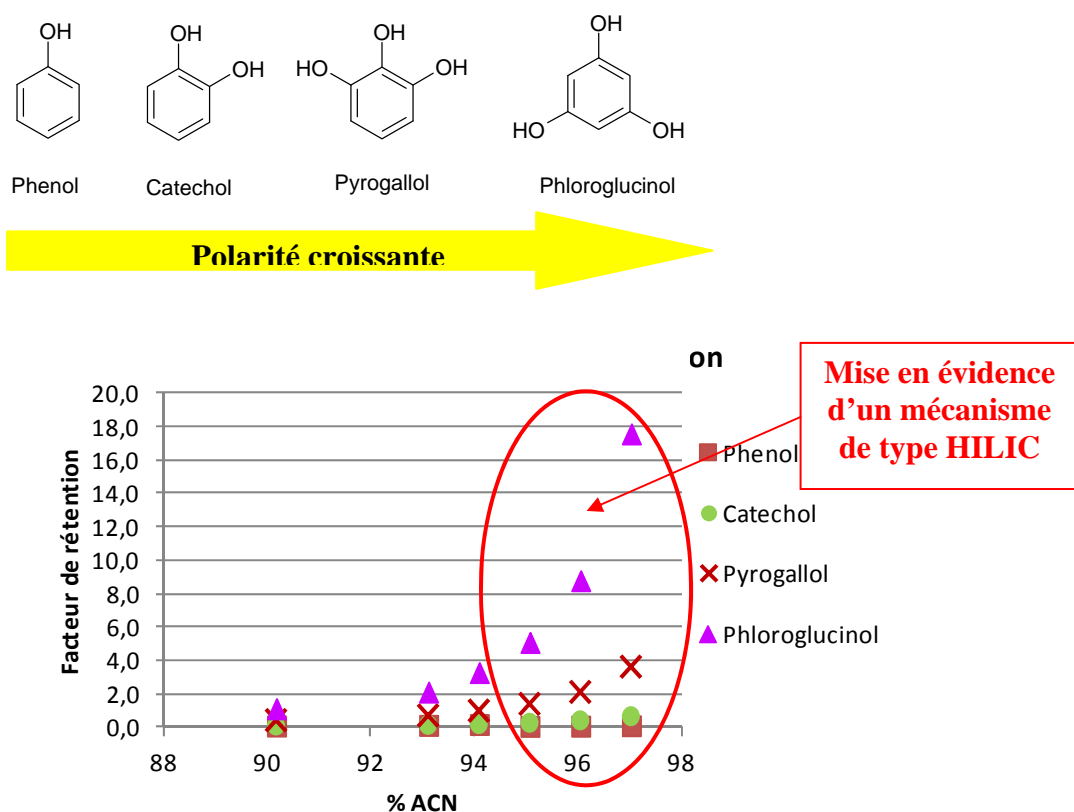
### 2.1. Obtention d'un monolithe permettant de développer des interactions de type HILIC

Afin de synthétiser les monolithes, différents constituants (monomères fonctionnels, monomères réticulant, solvant de polymérisation et initiateur) ont été introduits à l'intérieur d'un capillaire de 100 µm de diamètre interne. Par la suite, la polymérisation du mélange à l'intérieur du capillaire a été initiée par voie

thermique.

Différents monolithes ont ainsi été synthétisés : des monolithes à base de monomères échangeurs de cations, des monolithes à base de monomères diols et des monolithes à bases de monomères zwitterioniques.

Parmi ces monolithes, seuls ceux à base de monomères zwitterioniques ont permis de conduire à une accroche stable de la phase stationnaire et de développer des interactions de type HILIC. En effet, en faisant varier le pourcentage d'acétonitrile contenu dans la phase mobile aqueuse entre 50 et 95% et en mesurant les facteurs de rétention de composés de polarité croissante, nous avons pu observer dans le cas des monolithes de type zwitterionique, une augmentation significative des facteurs de rétention des composés les plus polaires (**Fig.1**). L'augmentation des facteurs de rétention à des taux élevés en solvant organique est alors le reflet de l'existence d'un mécanisme de type HILIC.



**Fig.1.** Variation du facteur de rétention des composés polaires sur une phase de type zwitterionique en fonction du pourcentage d'acétonitrile dans la phase mobile aqueuse  
Conditions d'analyse :  $\phi_m$  = Tampon Acétate d'ammonium 5mM dans MeCN/Eau (95/5) ;  
 $D = 0.5 \mu\text{L}/\text{min}$  ;  $\lambda = 214 \text{ nm}$  ;  $V_{inj} = 10 \text{ nL}$  ;  $T = 35^\circ\text{C}$  ;

## 2.2. Caractérisation des monolithes à base de monomères zwitterioniques

Afin de caractériser les monolithes, la perméabilité a été évaluée et des coupes transversales des capillaires ont été observées au microscope électronique à balayage (MEB).

La perméabilité a été mesurée en s'appuyant sur la Loi de Darcy :

$$\Delta P = \frac{\eta L u}{K^\circ}$$

Avec  $\Delta P$  : perte de charge (Pa) ;  $\eta$  : viscosité (Pa.s) ;  $L$  : Longueur du capillaire (mm) ;  $u$  : vitesse linéaire ( $\text{mm} \cdot \text{s}^{-1}$ ) ;  $K^\circ$  : Perméabilité ( $\text{mm}^2$ )

En reportant la perte de charge  $\Delta P$  en fonction de la vitesse linéaire  $u$ , on a pu en déduire la valeur de la perméabilité  $K^\circ$ . Les valeurs obtenues étaient comprises entre  $7,2 \cdot 10^{-8} \text{ mm}^2$  et  $8,3 \cdot 10^{-7} \text{ mm}^2$ , valeurs

légèrement plus élevées que celles trouvées dans la littérature ( $\approx 10^{-8} \text{ mm}^2$ ).

Des coupes transversales de capillaires monolithiques ont été observées au MEB. Par cette technique nous avons pu confirmer, dans le cas des monolithes zwitterioniques, l'existence d'une accroche stable de la phase stationnaire à la paroi du capillaire et nous avons pu observer la présence de macropores.

### **2.3. Optimisation de la formulation du monolithe de type zwitterionique**

La formulation du monolithe zwitterionique a été modifiée dans le but d'obtenir un support permettant de séparer au mieux les composés modèles polaires, en un temps le plus réduit que possible et avec une efficacité optimale. Ainsi, la nature et les proportions de monomères ont été tout d'abord modifiées. Parmi les monolithes synthétisés, deux d'entre eux ont présenté les meilleurs résultats. L'optimisation de ces deux monolithes s'est alors poursuivie au niveau du % de solvant de polymérisation que l'on a fait varier de 80% à 50% (m/m). En effet selon la littérature, en diminuant le pourcentage de solvant de polymérisation, une meilleure efficacité est généralement obtenue.

En résumé, l'optimisation de la formulation des monolithes a permis d'améliorer la séparation ainsi que l'efficacité des colonnes monolithiques.

### **2.4. Caractérisation des interactions se produisant sur les monolithes de type zwitterionique**

Différents paramètres ont été modifiés afin d'observer leur influence sur la rétention des composés polaires et sur l'efficacité.

#### *Effet du pH :*

L'analyse des composés polaires neutres et chargés a conduit à de meilleures efficacités à un pH plus acide (pH 3).

#### *Effet de la concentration en sels (de 2,5 à 15 mM d'acétate d'ammonium) :*

L'augmentation de la concentration en sels tend à conduire à une diminution des facteurs de rétention des composés polaires cationiques et au contraire à une augmentation des facteurs de rétention des composés polaires neutres. Ceci a permis de mettre en évidence la participation des interactions électrostatiques dans le mécanisme de rétention des composés chargés.

Une meilleure efficacité a été obtenue à une concentration en sels optimale égale à 5 mM. Cette valeur a alors été retenue pour la suite de l'étude.

### **2.5. Optimisation des conditions d'analyse**

Afin de séparer au mieux les composés polaires modèles, les conditions d'analyse ont été optimisées.

#### *Influence de la température d'analyse :*

La température d'analyse a été augmentée de 35 à 80°C. Une diminution des facteurs de rétention des composés chargés a pu être observée tandis que les facteurs de rétention des composés polaires neutres ont augmenté avec la température.

Concernant l'efficacité, une amélioration a pu être observée à 80°C uniquement dans le cas des composés polaires neutres.

#### *Optimisation du débit de phase mobile :*

En traçant la courbe de Van Deemter, nous avons pu déterminer un débit de phase mobile optimal compris entre 0,5 et 0,6  $\mu\text{L}/\text{min}$ .

#### *Influence de la nature des connectiques utilisées :*

Plusieurs connectiques de polarité différente ont été testées : des connectiques à base de silice vierge (20 $\mu\text{m}$  i.d.), des connectiques à base de silice désactivée méthyl (25  $\mu\text{m}$  i.d.) et des connectiques à base de

silice désactivée phényl méthyl (50  $\mu\text{m}$  i.d.). Le but était de diminuer au maximum les pertes d'efficacité.

Les résultats ont montré que les connectiques les moins polaires (connectiques à base de silice désactivée méthyl et à base de silice désactivée phényl méthyl) conduisent à de meilleures efficacités. De plus, malgré le diamètre interne plus important des connectiques à base de silice désactivée phényl méthyl, ces connectiques ont induit le moins d'effets extra-colonnes. La suite de l'étude a alors été effectuée avec ce type de connectiques.

### 3. Conclusions et perspectives

Ce travail a permis de développer des phases stationnaires polaires miniaturisées pour l'analyse de composés polaires modèles (phénols, bases azotées) en nano-HPLC/UV par le biais d'interactions engendrant un mécanisme de rétention de type HILIC. De nombreuses synthèses de monolithes ont été effectuées pour aboutir à ce résultat. Les monolithes ont été caractérisés tant au niveau de leur morphologie qu'au niveau de leur perméabilité. Puis leur formulation a été optimisée ainsi que les conditions d'analyse afin d'aboutir aux meilleures efficacités que possible sur ces supports. Par la suite, ces supports serviront à la séparation de complexes de fer détectable en UV puis à la séparation de complexes de lanthanides après la mise au point du couplage nano-HPLC/ICP-MS.

### 4. Communications scientifiques

Ces travaux ont fait l'objet de communications orales et écrites dans des congrès scientifiques et au cours de journées scientifiques. Une publication est en cours de rédaction.

#### Posters :

**N. Henry**, L. Beuvier, C. Bresson, A. Nonell, F. Chartier, T. Vercouter, V. Pichon, *Development of hydrophilic monolithic columns for the separation of lanthanides complexes by nano-HPLC in HILIC mode*, **HTC-HTSP**, BRUGES, janvier 2014

**N. Henry**, L. Beuvier, C. Bresson, A. Nonell, F. Chartier, T. Vercouter, V. Pichon, *Développement de microsystèmes séparatifs à l'aide de monolithes à caractère hydrophile pour la séparation de lanthanides en milieu complexant*, **SEP 2013**, PARIS, juin 2013

**N. Henry**, L. Beuvier, C. Bresson, A. Nonell, F. Chartier, T. Vercouter, V. Pichon, *Développement de microsystèmes séparatifs à base de monolithes à caractère hydrophile pour l'analyse des lanthanides en milieu complexant par nano-HPLC*, **Journée scientifique DIM Analytics**, PARIS, avril 2013

#### Présentation orale :

**N. Henry**, L. Beuvier, C. Bresson, A. Nonell, F. Chartier, T. Vercouter, V. Pichon, *Développement de microsystèmes séparatifs à l'aide de monolithes à caractère hydrophile pour la séparation de lanthanides en milieu complexant*, **Journée scientifique DIM Analytics**, PARIS, novembre 2013