



HAL
open science

Étude de la spéciation exhaustive des lanthanides et des actinides pour les procédés de traitement du combustible nucléaire : approche intégrée par spectrométries de masse

Evelyne Blanchard

► To cite this version:

Evelyne Blanchard. Étude de la spéciation exhaustive des lanthanides et des actinides pour les procédés de traitement du combustible nucléaire : approche intégrée par spectrométries de masse. Chimie analytique. Sorbonne Université, 2018. Français. NNT: . tel-04298297

HAL Id: tel-04298297

<https://cea.hal.science/tel-04298297>

Submitted on 21 Nov 2023

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.



Distributed under a Creative Commons Attribution - NonCommercial - NoDerivatives 4.0 International License

Sorbonne Université

Ecole doctorale 388

Chimie physique et chimie analytique de Paris Centre

Laboratoire de développement Analytique Nucléaire, Isotopique et Élémentaire (LANIE)

Étude de la spéciation exhaustive des lanthanides et des actinides pour les procédés de traitement du combustible nucléaire : approche intégrée par spectrométries de masse

Par Evelyne BLANCHARD

Thèse de doctorat de chimie physique et chimie analytique

Dirigée par Carole BRESSON

Présentée et soutenue publiquement le 12 septembre 2018

Devant un jury composé de :

| | |
|---|--------------------------------|
| M. BAIGL Damien, Professeur Sorbonne Université HDR, PASTEUR, ENS, PSL University | Président |
| Mme PEULON-AGASSE Valérie, Maître de conférences HDR, Université de Rouen Normandie | Rapporteuse |
| M. MOULIN Christophe, Directeur de recherche HDR, CEA Bruyères le Châtel | Rapporteur |
| M. VIERS Jérôme, Professeur des Universités HDR, Université Toulouse Paul Sabatier | Examineur |
| Mme VINH Joëlle, Directrice de recherche HDR, ESPCI Paris, PSL University | Examinatrice |
| Mme BRESSON Carole, Docteur HDR, CEA Saclay | Directrice de thèse |
| M. NONELL Anthony, Docteur, CEA Saclay | Encadrant CEA Membre invité |



Except where otherwise noted, this work is licensed under <http://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/3.0/>

Remerciements

Ce travail de thèse a été réalisé au Laboratoire de Développement Analytique Nucléaire, Isotopique et Élémentaire (LANIE) au sein du département de Physico-Chimie (DPC) du Commissariat à l'Énergie Atomique et aux énergies alternatives (CEA) de Saclay.

Je tiens tout d'abord à remercier Gilles MOUTIERS et Fanny BALBAUD, les chefs du Service d'Études Analytiques et de Réactivité des Surfaces (SEARS) pour m'avoir permis de réaliser ma thèse au sein du CEA.

Je remercie Thomas VERCOUTER, responsable du LANIE, de m'avoir accueillie au sein de son laboratoire et d'avoir mis à disposition les instruments nécessaires pour mener à bien mon projet de recherche.

Je remercie tous les membres du Jury : Mme Valérie PEULON-AGASSE et M. Christophe MOULIN, pour avoir accepté d'évaluer mon travail en tant que rapporteurs. Je remercie M. Jérôme VIERS, Mme Joëlle VINH, et M. Damien BAIGL d'avoir accepté de participer au jury en tant qu'examineurs.

Je tiens à exprimer ma profonde gratitude à ma directrice de thèse, Carole BRESSON et à mon encadrant de thèse, Anthony NONELL, pour leur encadrement pendant ces trois années de thèse, leur grande disponibilité, leur soutien et pour tous les conseils judicieux. Merci Carole pour ton investissement permanent, pour tes conseils scientifiques, mais aussi personnels. Merci à Anthony pour ta grande disponibilité, pour toutes les discussions scientifiques enrichissantes. Je tiens à vous remercier tous les deux pour m'avoir transmis vos connaissances : Carole en ESIMS et en spéciation, et Anthony en ICPMS et isotopie. Sans vos connaissances, ce travail n'aurait pas pu être réalisé.

Je tiens également à remercier Frédéric CHARTIER, pour sa disponibilité, pour avoir contribué aux différentes discussions scientifiques et donner son point de vue. Merci également à Anaïs RINCEL, technicienne du laboratoire, pour sa disponibilité et son implication dans mon travail de thèse notamment par la mise en œuvre des expériences par dilution isotopique et l'analyse de l'enrichi $^{147-149}\text{Sm-EDTA}$ en couplage simultané HILIC-ESIMS/ICPMS. Ensuite, je voudrais remercier Eduardo PAREDES PAREDES, pour son aide au développement de la méthode de déconvolution pour obtenir la composition isotopique de Ln, à partir du complexe Ln-acide polyaminocarboxylique observé en ESIMS, et pour les discussions scientifiques concernant la mise au point des mesures de compositions isotopiques de Ln en ESIMS.

Je remercie également Diane LEBEAU pour ses conseils sur les blancs analytiques pour la caractérisation isotopique en ESIMS.

Mes remerciements vont ensuite à Silvia DIEZ FERNANDEZ et Marta GARCIA CORTES. Je vous remercie toutes les deux pour votre grande disponibilité et de m'avoir aidé pour la mise en page de mon manuscrit de thèse. Je tiens également à remercier Pascal REILLER, pour son aide à la compréhension des diagrammes de spéciation. Merci à Hélène ISNARD pour ton soutien, ta joie de vivre et ton aide sur l'exploitation de données de signaux transitoires acquises en LC-ICPMS.

Je souhaite remercier chaleureusement le personnel des laboratoires LANIE, LISL et LRMO des bâtiments 391 et 467 pour leur accueil et leur sympathie. Je pense notamment à Michel AUBERT, Mylène MARIE, Céline CAUSSIGNAC, Clarisse MARIET, Laurent VIO, Michel TABARANT, Jean-Luc LACOUR, Cécile BLANC, Jérôme VARLET, Carole MARCHAND, Denis GUILLANEUX, Vincent MERTENS, Brigitte DUPREY, Edmond BLANCHARD, Marion ROY, Denis DOIZI, Delphine DURNAND, Manon CORNATON, Muriel FERRY, Jean-Luc ROUJOU, Florence CASANOVA, Elodie BAPTISTA, Vincent DAUVOIS, Domonique YOU, Nadège CARON, Eric VERDEAU, Alain MOREAU, Michel SCHLEGEL, Solène LEGAND, Marie-Eve MINSSSEN.

Je voudrais remercier également Martine ROUSSEAU, notre ancienne secrétaire au LANIE pour sa bonne humeur, sa grande aide à gérer spontanément les dossiers.

Je tiens à remercier mes collègues de bureau, au pigeonnier, de manière plus familière, Luisa, Jérôme, Erwan, Somasoudrame, Axel, Michaël, Edouard, Kamila, Kévin, Hanna qui m'ont soutenu pendant cette dernière année de thèse. Je remercie également aux anciens pigeons : Cyrielle, Yasmine, Chirelle, Elodie, Marion, Brice, Fanny, Octavie, Jean-Philippe, Sébastien et Imane. Je vous remercie pour votre soutien, pour les différents moments partagés à la salle café autour d'un thé, lors des repas pigeons du vendredi midi et des sorties pigeons. Je vous souhaite à tous pleins de bonheur et de succès pour la suite !

Enfin, mes remerciements vont à mes amies et à ma famille, qui m'a soutenu tout au long de ces trois années de thèse.

À tous ceux qui ont contribué de près ou de loin à la réalisation de ce travail et dont le nom aurait été omis, qu'ils trouvent à travers ces mots, l'expression de ma profonde gratitude.

Table des matières

| | |
|--|----------|
| INTRODUCTION GÉNÉRALE | 1 |
| | |
| CHAPITRE I: GÉNÉRALITES ET TECHNIQUES ANALYTIQUES POUR LA SPÉCIATION | |
| I. Les lanthanides..... | 11 |
| I.1. Propriétés électroniques des Ln | 11 |
| I.1.1. Configuration électronique | 11 |
| I.1.2. Degrés d'oxydation..... | 12 |
| I.2. Evolution des propriétés le long de la série des Ln ³⁺ | 13 |
| I.2.1. Rayon ionique | 13 |
| I.2.2. Sphère d'hydratation..... | 13 |
| I.3. Propriétés de complexation..... | 14 |
| I.3.1. Localisation des électrons | 14 |
| I.3.2. Nombre de coordination | 15 |
| I.3.3. Concept Acide-Base de Pearson | 15 |
| I.4. Les Ln ³⁺ et les ligands acides polyaminocarboxyliques | 15 |
| I.4.1. Les acides polyaminocarboxyliques : EDTA et DTPA | 16 |
| I.4.2. Complexation des Ln ³⁺ avec l'EDTA et le DTPA | 17 |
| II. Techniques de spectrométries de masse couplées à la chromatographie d'interaction hydrophile pour l'analyse de spéciation des Ln | 20 |
| II.1. La chromatographie d'interaction hydrophile | 20 |
| II.1.1. Mécanisme de rétention..... | 20 |
| II.1.2. Phases stationnaires | 21 |
| II.1.3. Phase mobile..... | 22 |
| II.2. Analyse de spéciation des Ln par HILIC-ESIMS | 23 |
| II.3. Analyse de spéciation des lanthanides par HILIC-ICPMS | 25 |
| II.4. Application de spéciation de Ln par couplage simultané HILIC-ESIMS/ICPMS | 25 |
| III. Approches pour réduire les volumes d'effluents chromatographiques | 26 |
| III.1. Composition de la phase mobile | 27 |
| III.2. Phases stationnaires et conditions de leur utilisation | 28 |
| III.2.1. Colonnes commerciales remplies de FPP sub-2-µm pour le mode HILIC | 30 |
| III.2.2. Colonnes commerciales remplies de SPP pour le mode HILIC..... | 31 |
| IV. L'ESIMS, un outil pour l'analyse de spéciation | 32 |
| IV.1. Caractérisation structurale..... | 32 |

| | |
|--|----|
| IV.2. Détermination des constantes de stabilités..... | 33 |
| IV.3. Méthodes de quantification d'éléments et d'espèces | 34 |
| IV.4. Mesures isotopiques..... | 36 |

CHAPITRE II : TECHNIQUES ANALYTIQUES

| | |
|--|----|
| I. Descriptif des différentes technologies de phases stationnaires | 49 |
| I.1. Caractéristiques des FPP sub-2- μ m | 51 |
| I.1.1. Avantages..... | 52 |
| I.1.2. Inconvénients | 53 |
| I.2. Caractéristiques des SPP..... | 54 |
| I.2.1. Avantages..... | 55 |
| II.2.2. Inconvénients..... | 57 |
| II. La spectrométrie de masse à source électrospray | 57 |
| II.1. Principe général | 57 |
| II.2. Source d'ionisation par électrospray | 58 |
| II.3. Les analyseurs..... | 60 |
| II.3.1. Fonctionnement de l'ESIMS-QqQ | 61 |
| II.3.2. Fonctionnement de l'ESIMS-LIT..... | 65 |
| II.3.2.1. Fonctionnement de l'ESIMS-LIT en mode MS | 66 |
| II.3.2.2. Fonctionnement de l'ESIMS-LIT en mode MS ⁿ | 67 |
| II.3.2.2.1. Mode de fragmentation CID | 67 |
| II.3.2.2.2. Mode de fragmentation HCD | 68 |
| II.4. Paramètres de la source et d'acquisition..... | 69 |
| II.4.1. Paramètres de la source | 69 |
| II.4.2. Paramètres d'acquisition..... | 69 |
| II.4.2.1. Paramètres d'acquisition communs aux deux ESIMS..... | 69 |
| II.4.2.2. Paramètres d'acquisition de l'ESIMS-QqQ | 70 |
| II.4.2.3. Paramètres d'acquisition de l'ESIMS-LIT | 71 |
| II.4.2.4. Récapitulatif des paramètres d'acquisition étudiés | 73 |
| II.5. Détecteur..... | 74 |
| III. La spectrométrie de masse à source plasma à couplage inductif | 74 |
| III.1. Principe général de l'ICPMS-Q | 74 |
| III.2. Fonctionnement de l'ICPMS-Q | 75 |
| III.2.1. Système d'introduction de l'échantillon | 75 |
| III.2.2. Source d'ionisation..... | 75 |

| | |
|--|----|
| III.2.3. Système d'extraction et de focalisation des ions..... | 76 |
| III.2.4. Analyseur et détecteur | 77 |

CHAPITRE III : SÉPARATION DES COMPLEXES LN-ACIDES POLYAMINOCARBOXYLIQUES PAR HILIC : APPROCHES POUR RÉDUIRE LES VOLUMES D'EFFLUENTS

| | |
|--|-----|
| I. Introduction..... | 83 |
| II. Matériels et Méthodes | 85 |
| II.1. Echantillons modèle | 85 |
| II.2. Règles de réduction d'échelles géométriques pour le mode d'élution isocratique..... | 87 |
| II.3. Identification des complexes de Ln par ESIMS | 89 |
| III. Approche 1 : Séparation HILIC des complexes Ln-acides polyamino-carboxyliques avec des colonnes remplies de FPP | 90 |
| IV. Approche 2 : Séparation HILIC des complexes Ln-acides polyaminocarboxyliques avec des colonnes remplies de SPP | 97 |
| IV.1. Colonne remplie de SPP comportant des particules avec des pores de 90 Å | 98 |
| IV.1.1 Augmentation de la force éluante de la phase mobile | 99 |
| IV.1.2. Variation de la concentration de sel dans la phase mobile | 99 |
| IV. 2. Colonne remplie de SPP comportant des particules avec des pores de 150 Å | 100 |
| V. Bilan : comparaison des deux approches durables..... | 106 |
| VI. Approches visant à améliorer la résolution..... | 109 |
| VI.1. Changement de sélectivité | 109 |
| VI.1.1. Modification du groupement fonctionnel la phase stationnaire..... | 109 |
| VI.1.2. Modification de la composition de phase mobile | 110 |
| VI.2. Amélioration de l'efficacité : couplage de deux colonnes Acquity à fonction amide remplies de FPP sub-2-µm..... | 112 |
| VII. Conclusion | 115 |

CHAPITRE IV : CARACTÉRISATION ISOTOPIQUE DES ÉLÉMENTS D'INTÉRÊTS : ÉVALUATION DES PERFORMANCES DES TECHNIQUES ESIMS ET ÉTUDE COMPARÉE AVEC LES TECHNIQUES DE RÉFÉRENCE

| | |
|--|-----|
| I. Introduction..... | 123 |
| II. Matériels et méthodes..... | 125 |
| II.1. Mise au point des méthodes de mesure de rapports d'abondances du Sm complexé à l'EDTA..... | 125 |
| II.2. Développement d'une méthode de déconvolution | 127 |
| II.2.1. Principe de la convolution | 127 |

| | |
|--|-----|
| II.2.2. Influence de la variation de l'abondance isotopique naturelle des éléments H, C, N, et O sur la convolution du spectre du Sm-EDTA..... | 130 |
| II.2.3. Principe de la déconvolution | 131 |
| III. Résultats | 132 |
| III.1. Mise au point des mesures de rapports d'abondances du Sm complexé à l'EDTA en mode MS | 132 |
| III.1.1. Impact des blancs sur les mesures de rapports d'abondances | 134 |
| III.1.2. Mise au point des mesures de rapports d'abondances en mode MS avec l'ESIMS-QqQ..... | 134 |
| III.1.3. Mise au point des mesures de rapports d'abondances en mode MS avec l'ESIMS-LIT..... | 139 |
| III.1.4. Détermination de la gamme dynamique..... | 143 |
| III.2. Détermination de la composition isotopique du ^{nat} Sm | 144 |
| III.2.1. Détermination de la composition isotopique du Sm par déconvolution des spectres de masse acquis en mode MS..... | 144 |
| III.2.1.1. Détermination de la composition isotopique du Sm libre avec l'ESIMS-QqQ | 145 |
| III.2.1.2. Détermination de la composition isotopique du Sm libre avec l'ESIMS-LIT | 145 |
| III.2.2. Détermination de la composition isotopique du Sm par fragmentation MS ² et MS ⁿ | 146 |
| III.2.2.1. Fragmentation en mode MS/MS avec l'ESIMS-QqQ..... | 147 |
| III.2.2.2. Fragmentation en mode MS ⁿ avec l'ESIMS-LIT..... | 148 |
| III.2.2.2.1. Mode de fragmentation CID | 148 |
| III.2.2.2.2. Mode de fragmentation HCD | 150 |
| III.2.3. Détermination de la composition isotopique du Sm par fragmentation MS ² et MS ⁿ et déconvolution des spectres | 151 |
| III. 3. Validation de l'approche par l'analyse d'un échantillon de Sm d'isotopie non naturelle connue complexé à l'EDTA | 152 |
| III.3.1. Préparation de l'échantillon de Sm enrichi complexé à l'EDTA..... | 152 |
| III.3.2. Analyse isotopique de l'échantillon de ¹⁴⁷⁻¹⁴⁹ Sm-EDTA | 154 |
| III.3.2.1. Détermination de la composition isotopique du ¹⁴⁷⁻¹⁴⁹ Sm avec l'ESIMS-QqQ | 155 |
| III.3.2.2. Détermination de la composition isotopique du ¹⁴⁷⁻¹⁴⁹ Sm avec l'ESIMS-LIT | 157 |
| III. 4. Comparaison des performances de l'ESIMS-QqQ et de l'ESIMS-LIT avec celles des techniques de référence pour la mesure de compositions isotopiques | 159 |
| III. 5. Impact de la nature du complexe sur les mesures de rapports d'abondances | 160 |
| III.5.1. Impact de la nature du complexe sur les mesures de rapports d'abondances avec l'ESIMS-QqQ..... | 160 |

| | |
|--|-----|
| III.5.2. Impact de la nature du complexe sur les mesures de rapports d'abondances avec l'ESIMS-LIT | 161 |
| IV. Conclusion | 162 |

CHAPITRE V : DÉVELOPPEMENT DE MÉTHODES D'ANALYSE DE SPÉCIATION EXHAUSTIVE DE LN PAR COUPLAGE SIMULTANÉ HILIC-ESIMS/ICPMS

| | |
|---|-----|
| I. Introduction..... | 169 |
| II. Matériel et méthodes | 170 |
| II.1. Couplage simultané HILIC-ESIMS-QqQ/ICPMS-Q..... | 170 |
| II.2. Méthodes de mesures de la caractérisation isotopique du Sm par couplage simultané HILIC-ESIMS-QqQ/ICPMS-Q..... | 172 |
| II.3. Traitement des signaux transitoires | 174 |
| II.3.1. Rapports isotopiques corrigés en ICPMS | 176 |
| II.3.2. Rapports isotopiques en ESIMS | 176 |
| III. Résultats | 177 |
| III.1. Méthodes de mesures de composition isotopique du Sm par couplage simultané HILIC-ESIMS-QqQ/ICPMS-Q..... | 177 |
| III.1.1. Mesures de la composition isotopique du ^{nat} Sm par couplage simultané HILIC-ESIMS-QqQ/ICPMS-Q..... | 177 |
| III.1.1.1. Mesures de la composition isotopique du ^{nat} Sm à partir des données acquises en ICPMS-Q..... | 178 |
| III.1.1.2. Mesures de la composition isotopique du ^{nat} Sm-EDTA à partir des données acquises en ESIMS-QqQ..... | 179 |
| III.1.2. Mesures de la composition isotopique du ¹⁴⁷⁻¹⁴⁹ Sm par couplage simultané HILIC-ESIMS-QqQ/ICPMS-Q..... | 181 |
| III.1.2.1. Mesures de la composition isotopique du ¹⁴⁷⁻¹⁴⁹ Sm à partir des données acquises en ICPMS-Q | 182 |
| III.1.2.2. Mesures de la composition isotopique du ¹⁴⁷⁻¹⁴⁹ Sm à partir des données acquises en ESIMS-QqQ..... | 183 |
| III.2. Méthodes de quantification par couplage simultané HILIC-ESIMS-QqQ/ICPMS-Q | 186 |
| III.2.1. Quantification par étalonnage externe en couplage simultané HILIC-ESIMS-QqQ/ICPMS-Q..... | 186 |
| III.2.2. Quantification par la méthode de la dilution isotopique en couplage simultané HILIC-ESIMS-QqQ/ICPMS-Q..... | 188 |
| III.2.2.1. Détermination de la concentration du Sm-EDTA et Sm par dilution isotopique à partir des données acquises en ESIMS-QqQ..... | 191 |
| III.2.2.1.1. Détermination de la concentration du Sm-EDTA par dilution isotopique à partir des données acquises en ESIMS-QqQ..... | 192 |

| | |
|--|------------|
| III.2.2.1.2. Détermination de la concentration du Sm par dilution isotopique à partir des données acquises en ESIMS-QqQ..... | 192 |
| III.2.2.2. Détermination de la concentration du Sm par dilution isotopique à partir des données acquises en ICPMS-Q | 194 |
| IV. Conclusion | 196 |
| CONCLUSION GÉNÉRALE ET PERSPECTIVES..... | 201 |
| ANNEXES..... | 207 |

Table des Figures

| | |
|---|----|
| Figure 0- 1 : Différents procédés de séparation des actinides [2] | 4 |
| Figure 0- 2 : Représentation schématique du couplage simultané HILIC-ESIMS/ICPMS..... | 5 |
| | |
| Figure I- 1 : Evolution du rayon ionique des Ln ³⁺ selon la série des Ln pour un nombre de coordination de 6 [3] | 13 |
| Figure I- 2 : Modèle d'hydratation d'un cation Ln ³⁺ [4]..... | 14 |
| Figure I- 3 : Courbes des fonctions d'onde 4f, 5d et 6s pour le Ce ³⁺ [1]..... | 14 |
| Figure I- 4 : Structure chimique a) de l'EDTA b) du DTPA | 16 |
| Figure I- 5 : Diagramme de prédominance en fonction du pH, avec les pKa à force ionique de 0,1 à 25°C : a) EDTA b) DTPA [6]..... | 16 |
| Figure I- 6 : Diagramme de spéciation théorique a) de l'EDTA b) du DTPA en fonction du pH pour une concentration en DTPA =EDTA = 10 ⁻⁴ mol.L ⁻¹ [6-7] | 17 |
| Figure I- 7 : Evolution des constantes de stabilité des complexes de Ln au degré d'oxydation +III le long de la série, à 25°C avec une force ionique de 0,1 [6, 8] | 18 |
| Figure I- 8 : Diagramme de spéciation théorique de l'euporium en présence a) du DTPA et b) de l'EDTA en condition stœchiométrique avec des concentrations en Eu = DTPA _T = EDTA _T = 1.10 ⁻⁴ mol.L ⁻¹ [7] | 19 |
| Figure I- 9 : Diagramme de spéciation théorique de l'euporium en présence d'EDTA; Eu = 1.10 ⁻⁴ mol.L ⁻¹ ; EDTA _T = 1,25.10 ⁻⁴ mol.L ⁻¹ [7] | 19 |
| Figure I- 10 : Principe du partage des analytes en mode HILIC (Adapté de [10]) | 21 |
| Figure I- 11 : Présentation de quelques groupements fonctionnels utilisés en mode HILIC [18] | 22 |
| Figure I- 12 : a) Pics chromatographiques de cinq agents de contraste extraits du courant ionique total b) spectre de masse du complexe Gd-DTPA [25]..... | 24 |
| Figure I- 13 : Approches chromatographiques éco-responsables (Adapté de [41])..... | 27 |
| Figure I- 14 : Représentation schématique du spectre de masse obtenu en fonction de l'énergie de collision normalisée appliquée : avec en rouge le métal et en vert le ligand (Adaptée de [54]).... | 33 |

| | |
|--|----|
| Figure I- 15 : Profil isotopique du PbCl ₂ résultant de la combinaison des profils isotopiques des éléments la constituant : abondances du ³⁵ Cl de 75,8%, du ³⁷ Cl de 24,2%, du ²⁰⁴ Pb de 1,4%, ²⁰⁶ Pb de 24,1%, ²⁰⁷ Pb de 22,1% et ²⁰⁸ Pb de 52,4% [86]..... | 38 |
| Figure II- 1 : Illustration du terme $Au^{1/3}$ de l'équation de Knox et du terme A de l'équation de Van Deemter (Adapté de [1])..... | 50 |
| Figure II- 2 : Illustration du terme B/u de l'équation de Knox ou de Van Deemter [2] | 50 |
| Figure II- 3 : Illustration du terme Cu de l'équation de Knox ou de Van Deemter [3] | 51 |
| Figure II- 4 : Comparaison des courbes de Van Deemter obtenues avec des colonnes remplies de FPP : XBridge C ₁₈ 250 × 4,6 mm 5 μm, XBridge C ₁₈ 150 × 4,6 mm 3,5 μm, Acquity BEH (Ethylene Bridged Hybrid) C ₁₈ 100 × 2,1 mm 1,7 μm [6] | 52 |
| Figure II- 5 : Chemin de diffusion intra-particulaire du soluté pour une particule SPP et une particule FPP (Adapté de [2])..... | 54 |
| Figure II- 6 : Représentation schématique de la courbe de Van Deemter en RPLC d'une colonne remplie de SPP avec A : l'anisotropie d'écoulement, B/u : la diffusion longitudinale et Cu : la résistance au transfert de masse (Adaptée de [15]) | 55 |
| Figure II- 7 : Illustration du terme $Au^{1/3}$ de l'équation de Knox et du terme A de l'équation de Van Deemter pour des particules SPP [1] | 55 |
| Figure II- 8 : Illustration du terme B de l'équation de Knox ou de Van Deemter pour des particules SPP [2]..... | 56 |
| Figure II- 9 : Courbes de Van Deemter établies pour le naphthalène avec les colonnes Eksigent Halo C ₁₈ (50 × 0,3 mm ; 2,7 μm) remplie de SPP, monolithe Merck caprod C ₁₈ (150 × 0,2 mm ; 2,7 μm), YMC Triart (50 × 3,0 mm ; 1,9 μm) remplie de FPP et YMC Triart (50 × 0,3 mm ; 3,0 μm) remplie de FPP [16]..... | 56 |
| Figure II- 10 : Principe général d'un spectromètre de masse à source ESI | 58 |
| Figure II- 11 : Schéma de principe de la source d'ionisation électrospray de l'instrument TSQ Quantum en mode négatif ([23] et Adapté de [24]). | 59 |
| Figure II- 12 : Schéma de principe du TSQ Quantum [23]..... | 61 |
| Figure II- 13 : Principe du quadripôle..... | 62 |
| Figure II- 14 : Diagramme de stabilité des ions avec l'ESIMS-QqQ [23]..... | 63 |
| Figure II- 15 : Schéma de principe du LTQ Velos Pro [29] | 65 |

| | |
|--|----|
| Figure II- 16 : Schéma d'une cellule de la trappe ionique linéaire [29]..... | 65 |
| Figure II- 17 : Principe de fonctionnement de l'ESIMS-LIT en mode full scan (Adapté de [29])66 | |
| Figure II- 18 : Irradiation à toutes les valeurs de q sauf celui de l'ion précurseur [29]...... | 67 |
| Figure II- 19 : Principe de fonctionnement de l'ESIMS-LIT en mode MS ² (Adapté de [29]). | 67 |
| Figure II- 20 : Principe du mode de fragmentation HCD (Adapté de [29])..... | 68 |
| Figure II- 21 : Spectres de masse du Sm-EDTA acquis avec l'ESIMS-LIT en mode a) profil b) centroïde, avec une vitesse de balayage de 33 kDa.s ⁻¹ et une résolution de 5300..... | 69 |
| Figure II- 22 : Vitesses de balayage et résolutions associées de l'ESIMS-LIT pour le complexe Sm-EDTA..... | 71 |
| Figure II- 23 : Fonctionnement de l'analyseur..... | 72 |
| Figure II- 24 : Schéma de principe de l'ICPMS [33]..... | 75 |
| Figure II- 25 : Schéma de principe d'une source en ICPMS (Adapté de [34])..... | 75 |
| Figure II- 26 : Interface avec système d'extraction et de focalisation des ions (Adaptée de [35])76 | |
| | |
| Figure III- 1 : Evolution des technologies de particules utilisées en chromatographie (Adapté de [5, 8])...... | 84 |
| Figure III- 2 : Structure chimique a) de l'EDTA b) du DTPA | 85 |
| Figure III- 3 : Ln contenus dans l'échantillon modèle 1..... | 85 |
| Figure III- 4 : Ln contenus dans l'échantillon modèle 2..... | 86 |
| Figure III- 5 : Spectres de masse ESIMS (-) extrait de chaque pic chromatographique et acquis en mode SIM. a) Sm-DTPA, b) Nd-EDTA, c) Sm-EDTA, d) Nd-EDTA. Colonne Acquity (100 × 2,1 mm ; 1,7 µm)..... | 90 |
| Figure III- 6 : Diminution des paramètres géométriques des colonnes et de la granulométrie des particules : (A) colonne utilisée pour la séparation initiale : XBridge 150 × 2,1 mm ; 3,5 µm ; (B) diminution de d _p et L : Acquity 100 × 2,1 mm ; 1,7 µm ; (C) diminution du d _i : Acquity 100 × 1,0 mm ; 1,7 µm. | 91 |
| Figure III- 7 : Séparation des complexes de Ln dans l'échantillon modèle 1. Détection par ESIMS en mode SIM avec les gammes de masse d'acquisition 427-447 et 527-547. | 92 |

| | |
|---|-----|
| Figure III- 8 : Séparation des complexes de Ln dans l'échantillon modèle 2. (1) Er-DTPA, (2) Gd-DTPA, (3) Eu-DTPA, (4) Er-EDTA, (5) Nd-DTPA, (6) Gd-EDTA, (7) Eu-EDTA, (8) Nd-EDTA. Détection par ESIMS en mode SIM avec les gammes de masse d'acquisition 427-463 et 528-564..... | 92 |
| Figure III- 9 : Séparation des complexes de Ln contenus dans l'échantillon modèle 3. Ordre d'élution des complexes Ln-EDTA : (1) Lu, (2) Yb, (3) Tm, (4) Er, (5) Ho, (6) Dy, (7) Tb, (8) Gd, (9) Eu, (10) Sm, (11) Nd, (12) La, (13) Pr, (14) Ce. Détection par ESIMS en mode SIM avec une gamme de masse d'acquisition 421-467..... | 92 |
| Figure III- 10 : Description de h_p et h_v [21, 22]..... | 93 |
| Figure III- 11 : Séparation des complexes de Ln contenus dans l'échantillon modèle 2. Détection par ESIMS en mode fullscan..... | 98 |
| Figure III- 12 : Séparation des complexes de Ln contenus dans l'échantillon modèle 2. Colonne Sunshell amide $100 \times 2,1$ mm ; $2,6 \mu\text{m}$. Débit $0,3 \text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$. Détection par ESIMS en mode fullscan. | 100 |
| Figure III- 13 : Courbe de Knox en coordonnées logarithmiques obtenue avec la colonne Accucore $150 \times 2,1$ mm ; $2,6 \mu\text{m}$ remplie de SPP | 101 |
| Figure III- 14 : Courbe de Knox obtenue avec la colonne Accucore $150 \times 2,1$ mm ; $2,6 \mu\text{m}$ remplie de SPP | 101 |
| Figure III- 15 : Séparation des complexes de Ln de l'échantillon modèle 1. Détection par ESIMS en mode SIM avec les gammes de masse d'acquisition 427-447 et 527-547. | 103 |
| Figure III- 16 : Séparation des complexes de Ln dans l'échantillon modèle 2. (1) Er-EDTA, (2) Er-DTPA, (3) Gd-DTPA, (4) Eu-DTPA, (5) Nd-DTPA, (6) Gd-EDTA, (7) Eu-EDTA, (8) Nd-EDTA. Détection par ESIMS en mode SIM avec les gammes de masse d'acquisition 427-463 et 528-564..... | 103 |
| Figure III- 17 : Séparation des complexes de Ln contenus dans l'échantillon modèle 3. Ordre d'élution des complexes Ln-EDTA: (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) La, (14) Ce. Détection par ESIMS en mode SIM avec une gamme de masse d'acquisition 421-467..... | 103 |
| Figure III- 18 : Séparation des complexes Ln de l'échantillon modèle 1. Détection par ESIMS en mode SIM avec les gammes de masse d'acquisition 427-447 et 527-547. | 107 |

| | |
|---|-----|
| Figure III- 19 : Séparation des complexes Ln de l'échantillon modèle 2. (1) Er-DTPA, (2) Gd-DTPA, (3) Eu-DTPA, (4) Er-EDTA, (5) Nd-DTPA, (6) Gd-EDTA, (7) Eu-EDTA, (8) Nd-EDTA. Détection par ESIMS en mode SIM avec les gammes de masse d'acquisition 427-463 et 528-564. | 107 |
| Figure III- 20 : Séparation des complexes Ln contenus dans l'échantillon modèle 3. Ordre d'élution des complexes Ln-EDTA : (1) Lu, (2) Yb, (3) Tm, (4) Er, (5) Ho, (6) Dy, (7) Tb, (8) Gd, (9) Eu, (10) Sm, (11) Nd, (12) La, (13) Pr, (14) Ce. Détection par ESIMS en mode SIM avec une gamme de masse d'acquisition 421-467..... | 107 |
| Figure III- 21 : Groupement fonctionnel urée de la colonne Accucore remplie de SPP (Société Thermo-Scientific) | 109 |
| Figure III- 22 : Séparation des complexes Ln contenus dans l'échantillon modèle 3. Ordre d'élution des complexes Ln-EDTA : (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) La-, (14) Ce. Détection par ESIMS en mode fullscan. .. | 110 |
| Figure III- 23 : Séparation des complexes Ln dans l'échantillon modèle 2. Détection par ESIMS en mode SIM avec les gammes de masse d'acquisition 427-463 et 528-564. | 111 |
| Figure III- 24 : Séparation des complexes de Ln contenus dans l'échantillon modèle 3. Ordre d'élution des complexes Ln-EDTA: (1) Lu, (2) Yb, (3) Tm, (4) Er, (5) Ho, (6) Dy, (7) Tb, (8) Gd, (9) Eu, (10) Sm, (11) Pr, (12) Ce, (13) La. Détection par ESIMS en mode SIM avec une gamme de masse d'acquisition 421-467. | 111 |
| Figure III- 25 : Séparation des complexes de Ln de l'échantillon modèle 1. Détection par ESIMS en mode SIM avec les gammes de masse d'acquisition 427-447 et 527-547. | 113 |
| Figure III- 26 : Séparation des complexes de Ln de l'échantillon modèle 2. Détection par ESIMS en mode SIM avec les gammes de masse d'acquisition 427-463 et 528-564 | 113 |
| Figure III- 27 : Séparation des complexes de Ln contenu dans l'échantillon modèle 3. Ordre d'élution des complexes Ln-EDTA : (1) Lu, (2) Yb, (3) Tm, (4) Er, (5) Ho, (6) Dy, (7) Tb, (8) Gd, (9) Eu, (10) Sm, (11) Nd, (12) La, (13) Pr, (14) Ce. Détection ESIMS en SIM avec une gamme de masse d'acquisition 421-467. | 113 |
| Figure IV- 1 : Spectres de masse expérimentaux avec les abondances atomiques respectives a) du Sm naturel en ICPMS b) du [Sm-EDTA] ⁻ en ESIMS | 124 |
| Figure IV- 2 : Abondances relatives théoriques en pourcent pour chaque rapport m/z du complexe [Sm-EDTA] ⁻ | 129 |

| | |
|--|-----|
| Figure IV- 3 : Spectres de masse du [Sm-EDTA] ⁻ , théorique en abondances relatives et expérimental en intensités absolues | 130 |
| Figure IV- 4 : Fractionnement isotopique de l'oxygène dans le monde [15] | 130 |
| Figure IV- 5 : Matrice des contributions des premières permutations de H, C, N, O de l'EDTA aux rapports <i>m/z</i> du [Sm-EDTA] ⁻ | 131 |
| Figure IV- 6 : Gammes de masse d'acquisition identiques avec des bornes inférieure et supérieure différentes | 134 |
| Figure IV- 7 : Impact de la gamme masse d'acquisition sur l'écart théorique E_{th} et la répétabilité à $k=2$, pour les rapports a) $^{432}\text{Sm-EDTA}/^{438}\text{Sm-EDTA}$ b) $^{440}\text{Sm-EDTA}/^{438}\text{Sm-EDTA}$. Paramètres d'acquisition de l'ESIMS-QqQ : largeur de pic à mi-hauteur 0,5 - 200 scans - temps de scan=0,5 s (n=10) | 135 |
| Figure IV- 8 : Impact de la largeur de pic à mi-hauteur sur l'écart théorique E_{th} et la répétabilité à $k=2$ pour les rapports a) $^{432}\text{Sm-EDTA}/^{438}\text{Sm-EDTA}$ b) $^{440}\text{Sm-EDTA}/^{438}\text{Sm-EDTA}$. Paramètres d'acquisition de l'ESIMS-QqQ : gamme de masse 431-443 en mode SIM - 200 scans - temps de scan=0,5 s (n=10) | 136 |
| Figure IV- 9 : Impact du nombre de scans sur l'écart théorique E_{th} et la répétabilité à $k=2$ pour les rapports a) $^{432}\text{Sm-EDTA}/^{438}\text{Sm-EDTA}$ b) $^{440}\text{Sm-EDTA}/^{438}\text{Sm-EDTA}$. Paramètres d'acquisition de l'ESIMS-QqQ : gamme de masse 431-443 en mode SIM - largeur de pic à mi-hauteur 0,5 - temps de scan=0,5 s (n=10) | 137 |
| Figure IV- 10 : Impact du temps de scan sur l'écart théorique E_{th} et la répétabilité à $k=2$ pour les rapports a) $^{432}\text{Sm-EDTA}/^{438}\text{Sm-EDTA}$ b) $^{440}\text{Sm-EDTA}/^{438}\text{Sm-EDTA}$. Paramètres d'acquisition de l'ESIMS-QqQ : gamme de masse 431-443 en mode SIM - largeur de pic à mi-hauteur 0,5 -100 scans (n=10) | 138 |
| Figure IV- 11 : Récapitulatif des paramètres d'acquisition sélectionnés pour la mesure de rapports isotopiques en mode MS avec l'ESIMS-QqQ (n=10)..... | 138 |
| Figure IV- 12 : Impact du mode d'acquisition sur l'écart théorique E_{th} et la répétabilité à $k=2$ pour les rapports a) $^{432}\text{Sm-EDTA}/^{438}\text{Sm-EDTA}$ b) $^{440}\text{Sm-EDTA}/^{438}\text{Sm-EDTA}$. Paramètres d'acquisition de l'ESIMS-LIT : vitesse de balayage 33 kDa.s ⁻¹ largeur de pic à mi-hauteur 0,5 - gamme de masse 50-1000 - 200 scans (n=10) | 139 |
| Figure IV- 13 : Impact de la vitesse de balayage sur l'écart théorique E_{th} et la répétabilité à $k=2$ pour les rapports a) $^{432}\text{Sm-EDTA}/^{438}\text{Sm-EDTA}$ b) $^{440}\text{Sm-EDTA}/^{438}\text{Sm-EDTA}$. Paramètres d'acquisition de l'ESIMS-LIT : centroïde - gamme de masse 50-1000 200 scans (n=10) | 140 |

| | |
|--|-----|
| Figure IV- 14 : Impact de la gamme de masse d'acquisition sur l'écart théorique E_{th} et la répétabilité à $k=2$ pour les rapports a) $^{432}\text{Sm-EDTA}/^{438}\text{Sm-EDTA}$ b) $^{440}\text{Sm-EDTA}/^{438}\text{Sm-EDTA}$. Paramètres d'acquisition de l'ESIMS-LIT : centroïde - vitesse de balayage 10 kDa.s^{-1} largeur de pic à mi-hauteur 0,35 - 200 scans (n=10)..... | 141 |
| Figure IV- 15 : Impact des gammes de masse d'acquisition identiques avec $\Delta m=340 \text{ u}$ sur les écarts théoriques E_{th} | 141 |
| Figure IV- 16 : Diagramme de stabilité de l'ESIMS-LIT (Adapté de [19]) | 142 |
| Figure IV- 17 : Impact du nombre de scans sur l'écart théorique E_{th} et la répétabilité à $k=2$ pour les rapports a) $^{432}\text{Sm-EDTA}/^{438}\text{Sm-EDTA}$ b) $^{440}\text{Sm-EDTA}/^{438}\text{Sm-EDTA}$. Paramètres d'acquisition de l'ESIMS-LIT : centroïde - vitesse de balayage : 10 kDa.s^{-1} largeur de pic à mi-hauteur 0,35 - gamme de masse 50-1000 (n=10) | 143 |
| Figure IV- 18 : Récapitulatif des paramètres d'acquisition sélectionnés pour la mesure de rapports isotopiques en mode MS avec l'ESIMS-LIT | 143 |
| Figure IV- 19 : Impact de la concentration du Sm-EDTA sur l'écart théorique E_{th} et la répétabilité à $k=2$ pour les rapports a) $^{432}\text{Sm-EDTA}/^{438}\text{Sm-EDTA}$ b) $^{440}\text{Sm-EDTA}/^{438}\text{Sm-EDTA}$, avec l'ESIMS-LIT | 144 |
| Figure IV- 20 : Spectre MS^2 du $[\text{Sm-EDTA}]^-$ avec l'ESIMS-QqQ - largeur de pic à mi-hauteur : $Q_1=10 - Q_3=0,5$ - gamme de masse d'acquisition 120-460 - temps de scan =0,7 s - 100 scans... | 147 |
| Figure IV- 21 : Spectre MS^2 du $[\text{Sm-EDTA}]^-$ avec l'ESIMS-LIT en mode CID avec $\text{NCE}=30\%$, $q=0,25$, $t_{\text{activ}} = 5 \text{ ms}$ et $l=12 \text{ u}$. Paramètres source optimisés pour $[\text{Sm-EDTA}]=10^{-4} \text{ mol.L}^{-1}$. Paramètres d'acquisition : centroïde - vitesse de balayage 10 kDa.s^{-1} - largeur de pic à mi-hauteur 0,35 - gamme de masse 120-460 - 100 scans | 149 |
| Figure IV- 22 : Spectre MS^2 du $[\text{Sm-EDTA}]^-$ avec l'ESIMS-LIT en mode HCD pour le précurseur à $m/z 437$ avec $q=0,08$, $\text{NCE}=75\%$, $t_{\text{activ}}=0,42 \text{ ms}$ - $l=12 \text{ u}$. Paramètres source optimisés pour $[\text{Sm-EDTA}]=10^{-4} \text{ mol.L}^{-1}$. Paramètres d'acquisition : centroïde - vitesse de balayage 10 kDa.s^{-1} - largeur de pic à mi-hauteur 0,35 - gamme de masse 50-460 -100 scans.... | 150 |
| Figure IV- 23 : Données du traceur double $^{147-149}\text{Sm}$ a) Rapports isotopiques mesurés en TIMS b) Abondances des isotopes calculées à partir des rapports isotopiques mesurés en TIMS | 152 |
| Figure IV- 24 : Spectres de masse théoriques du $[\text{Sm-EDTA}]^-$ calculés avec la méthode de convolution de Yerger [8] avec a) $[\text{natSm-EDTA}]^-$ et b) $[\text{}^{147-149}\text{Sm-EDTA}]^-$ | 153 |

| | |
|--|-----|
| Figure IV- 25: Impact de la nature du complexe sur les écarts théoriques E_{th} et répétabilité à $k=2$ pour a) $[Nd-EDTA]^-$, b) $[Sm-DTPA+H]^-$, c) $[Nd-DTPA+H]^-$. Gammes de masse d'acquisition avec l'ESIMS-QqQ : a) 428-440 b) 532-544 c) 529-541 | 160 |
| Figure IV- 26 : Ecarts théorique E_{th} et répétabilité à $k=2$ pour l'ensemble des rapports d'abondances du a) $[Nd-EDTA]^-$, b) $[Sm-DTPA+H]^-$, c) $[Nd-DTPA+H]^-$. Gamme de masse d'acquisition avec l'ESIMS-LIT : 50-1000..... | 161 |
| Figure V- 1 : Représentation schématique du couplage simultané HILIC-ESIMS/ICPMS (Adaptée de [3])..... | 171 |
| Figure V- 2 : Profil d'élution du $^{nat}Sm-EDTA$ obtenu par couplage avec a) ESIMS-QqQ en mode MS b) ICPMS-Q..... | 174 |
| Figure V- 3 : Détermination du rapport isotopique $^{152}Sm/^{150}Sm$ avec la méthode des pentes | 175 |
| Figure V- 4 : Abondances théoriques du a) $^{147-149}Sm$ déterminées par TIMS b) $[^{147-149}Sm-EDTA]^-$ calculées sur la base des données TIMS avec la méthode de convolution de Yergey [16]..... | 182 |
| Figure V- 5 : Droites d'étalonnage établies par couplage en ESIMS-QqQ et ICPMS-Q..... | 187 |
| Figure V- 6 : Représentation schématique du principe de la dilution isotopique [17]..... | 189 |
| Figure V- 7 : Schéma de la dilution isotopique spécifique en HILIC-ESIMS-QqQ/ICPMS-Q (Adapté de [17]) | 190 |
| Figure V- 8 : Massifs isotopiques théoriques du mélange $^{149}Sm-EDTA - ^{nat}Sm-EDTA$ | 191 |
| Figure V- 9 : Sources d'incertitudes lors de la mesure de la concentration Sm à partir des profils d'élution acquis par ESIMS-QqQ, avec la méthode de la dilution isotopique spécifique | 194 |
| Figure V- 10 : Sources d'incertitudes lors de la mesure de la concentration Sm à partir des profils d'élution acquis par ICPMS-Q avec la méthode de la dilution isotopique spécifique | 196 |
| Figure V- 11 : Schéma de la dilution isotopique non spécifique en HILIC-ESIMS/ICPMS (Adapté de [17]) | 198 |

Table des tableaux

| | |
|--|-----|
| Tableau I- 1 : Configuration électronique des Ln [1] | 12 |
| Tableau I- 2 : Degrés d'oxydation des Ln en solution aqueuse. Les plus stables sont indiqués en bleu et les degrés mal caractérisés entre parenthèses [2] | 12 |
| Tableau I- 3 : Exemples d'applications avec des colonnes de différent diamètre interne [40, 43, 44]..... | 28 |
| Tableau I- 4 : Colonnes commerciales remplies de FPP de diamètre sub-2- μm dédiées au mode HILIC (Adapté de [46, 47]) ND : données non communiquées..... | 30 |
| Tableau I- 5 : Colonnes commerciales remplies de SPP pour le mode HILIC (Adapté de [48-50]). ND : données non communiquées | 31 |
| Tableau II- 1 : Types de balayage du triple quadripôle en mode MS/MS | 64 |
| Tableau II- 2 : Avantages et inconvénients de l'ESIMS-QqQ et de l'ESIMS-LIT | 73 |
| Tableau II- 3 : Paramètres d'acquisition étudiés avec les deux ESIMS | 74 |
| Tableau III- 1 : Echantillons injectés en HILIC-ESIMS | 87 |
| Tableau III- 2 : Caractéristiques des colonnes remplies de FPP | 90 |
| Tableau III- 3 : Données chromatographiques de la séparation des complexes de Ln contenus dans l'échantillon modèle 1..... | 94 |
| Tableau III- 4 : Données chromatographiques de la séparation des complexes de Ln contenus dans l'échantillon modèle 2..... | 94 |
| Tableau III- 5 : Données chromatographiques de la séparation des complexes de Ln contenus dans l'échantillon modèle 3..... | 95 |
| Tableau III- 6 : Caractéristiques des colonnes remplies de SPP | 97 |
| Tableau III- 7 : Analyse de l'échantillon modèle 2 avec la colonne Sunshell Amide (100 \times 2,1 mm ; 2,6 μm) à un débit de 0,3 mL.min ⁻¹ | 99 |
| Tableau III- 8 : Données chromatographiques de la séparation de complexes de Ln contenus dans l'échantillon modèle 1..... | 104 |

| | |
|--|-----|
| Tableau III- 9 : Données chromatographiques de la séparation de complexes de Ln contenus dans l'échantillon modèle 2..... | 104 |
| Tableau III- 10 : Données chromatographiques de la séparation de complexes de Ln contenus dans l'échantillon modèle 3..... | 105 |
| Tableau III- 11 : Données chromatographiques de la séparation de complexes de Ln | 114 |
| Tableau IV- 1 : Paramètres des sources ESIMS optimisés pour [Sm-EDTA]=10 ⁻⁴ mol.L ⁻¹ | 125 |
| Tableau IV- 2 : Paramètres d'acquisition étudiés avec les deux types d'instruments | 126 |
| Tableau IV- 3 : Configuration initiale des paramètres d'acquisition en mode MS avec les deux ESIMS | 133 |
| Tableau IV- 4 : Ecarts théoriques E _{th} et répétabilités à k=2 (n=10) obtenus pour le massif isotopique de l'espèce Sm-EDTA acquis en mode SIM avec l'ESIMS-QqQ, et justesses et répétabilités obtenues pour la composition isotopique du Sm après déconvolution à k=2 (n=10) | 145 |
| Tableau IV- 5 : Ecarts théoriques E _{th} et répétabilités à k=2 (n=10) obtenus pour le massif isotopique de l'espèce Sm-EDTA acquis en mode full scan avec l'ESIMS-LIT, et justesses et répétabilités obtenues pour la composition isotopique du Sm après déconvolution à k=2 (n=10) | 146 |
| Tableau IV- 6 : Justesses entre les rapports d'abondances des produits et les rapports isotopiques du Sm et répétabilités à k=2 avec l'ESIMS-QqQ en mode MS ² avec Δm=0,5 (n=10) | 148 |
| Tableau IV- 7 : Justesses entre les rapports d'abondances des produits et les rapports isotopiques du Sm et répétabilités à k=2 pour l=1,2 u (n=10) avec l'ESIMS-LIT..... | 151 |
| Tableau IV- 8 : Paramètres d'acquisition utilisés avec l'ESIMS-LIT et l'ESIMS-QqQ pour l'analyse du ¹⁴⁷⁻¹⁴⁹ Sm-EDTA..... | 154 |
| Tableau IV- 9 : Ecarts théoriques E _{th} obtenus avec l'ESIMS-QqQ entre les rapports isotopiques théoriques et expérimentaux du Sm pour le standard ^{nat} Sm-EDTA et pour le ¹⁴⁷⁻¹⁴⁹ Sm-EDTA. Pour chaque réplique, dix acquisitions ont été réalisées | 155 |
| Tableau IV- 10 : Ecarts théoriques E _{th} obtenus avec l'ESIMS-QqQ entre les rapports isotopiques théoriques et expérimentaux du ¹⁴⁷⁻¹⁴⁹ Sm complexé et répétabilités sur les rapports isotopiques théoriques à k=2, après correction des interférences..... | 155 |

| | |
|---|-----|
| Tableau IV- 11 : Rapports isotopiques du $^{147-149}\text{Sm}$ obtenus après déconvolution des spectres de masse, avec les justesses et les répétabilités à $k=2$ avec l'ESIMS-QqQ | 156 |
| Tableau IV- 12 : Ecart théorique E_{th} obtenu avec l'ESIMS-LIT entre les rapports isotopiques théoriques et expérimentaux du Sm pour le standard $^{nat}\text{Sm-EDTA}$ et pour le $^{147-149}\text{Sm-EDTA}$. Pour chaque réplique, dix acquisitions ont été réalisées. | 157 |
| Tableau IV- 13 : Ecart théorique E_{th} obtenu avec l'ESIMS-LIT entre les rapports isotopiques théoriques et expérimentaux du $^{147-149}\text{Sm}$ complexé et répétabilités sur les rapports isotopiques théoriques à $k=2$ obtenus après correction des interférences | 157 |
| Tableau IV- 14 : Rapports isotopiques du $^{147-149}\text{Sm}$ obtenus après déconvolution des spectres de masse, avec les justesses et les répétabilités à $k=2$, avec l'ESIMS-LIT..... | 158 |
| Tableau IV- 15 : Récapitulatif des justesses, répétabilités et incertitudes de mesures pour la composition isotopique du Sm obtenues à $k=2$, avec l'ESIMS-QqQ et l'ESIMS-LIT..... | 159 |
| Tableau IV- 16 : Performances des ESIMS pour la caractérisation isotopique du Sm..... | 159 |
| Tableau V- 1 : Paramètres de la source d'ionisation de l'ICPMS-Q en couplage simultané..... | 172 |
| Tableau V- 2 : Paramètres de source et d'acquisition de l'ESIMS-QqQ en couplage simultané | 173 |
| Tableau V- 3 : Répétabilités, justesses et incertitudes de mesures à $k=2$ ($n=10$) des rapports isotopiques corrigés du ^{nat}Sm obtenus par couplage avec l'ICPMS-Q, suivant les différentes méthodes de traitement des signaux transitoires | 179 |
| Tableau V- 4 : Répétabilités, écarts théoriques E_{th} et incertitudes de mesures à $k=2$ ($n=10$) des rapports d'abondances du ^{nat}Sm complexé obtenus par couplage avec l'ESIMS-QqQ suivant les différentes méthodes de traitement des signaux transitoires | 180 |
| Tableau V- 5 : Répétabilités, justesses et incertitudes de mesures à $k=2$ ($n=10$) des rapports isotopiques du ^{nat}Sm après déconvolution obtenus par couplage avec l'ESIMS-QqQ suivant les différentes méthodes de traitement des signaux transitoires | 181 |
| Tableau V- 6 : Répétabilités, justesses et incertitudes de mesures à $k=2$ ($n=3$) des rapports isotopiques du $^{147-149}\text{Sm}$ obtenus à partir du profil d'éluion acquis avec l'ICPMS-Q suivant les différentes méthodes de traitement des signaux transitoires | 183 |
| Tableau V- 7 : Ecart E_{th} (%) obtenu entre les rapports d'abondances théoriques et expérimentaux du Sm complexé, pour le standard $^{nat}\text{Sm-EDTA}$ et l'échantillon $^{147-149}\text{Sm-EDTA}$ avec la méthode des pentes | 184 |

| | |
|--|-----|
| Tableau V- 8 : Ecart E_{th} (%) obtenus entre les rapports d'abondances théoriques et expérimentaux du Sm complexé, pour le standard ^{nat}Sm -EDTA et l'échantillon $^{147-149}Sm$ -EDTA avec la méthode aire de pic 95% | 184 |
| Tableau V- 9 : Ecart E_{th} (%) obtenus entre les rapports d'abondances théoriques et expérimentaux du Sm complexé, pour le standard ^{nat}Sm -EDTA et l'échantillon $^{147-149}Sm$ -EDTA avec la méthode point par point | 184 |
| Tableau V- 10 : Répétabilité, justesses et incertitudes de mesures à $k=2$ ($n=3$) des rapports isotopiques du $^{147-149}Sm$ après déconvolution obtenus à partir du profil d'élution acquis avec l'ESIMS-QqQ, suivant les différentes méthodes de traitement des signaux transitoires | 185 |
| Tableau V- 11 : Récapitulatif des justesses, des répétabilité, et des incertitudes de mesures ($k=2$, $n=3$) obtenus par étalonnage externe en HILIC-ESIMS-QqQ/ICPMS-Q | 188 |
| Tableau V- 12 : Concentration du ^{nat}Sm -EDTA déterminée par dilution isotopique spécifique à partir du profil d'élution acquis en ESIMS-QqQ, avec les justesses, répétabilité et incertitudes de mesures quadratiques ($k=2$)..... | 192 |
| Tableau V- 13 : Concentration du ^{nat}Sm déterminée par dilution isotopique spécifique à partir du profil d'élution acquis en ESIMS-QqQ, avec les justesses, répétabilité et incertitudes de mesures quadratiques ($k=2$)..... | 193 |
| Tableau V- 14 : Concentration du ^{nat}Sm déterminée par dilution isotopique spécifique à partir du profil d'élution acquis en ICPMS-Q, avec les justesses, répétabilité et incertitudes de mesures quadratiques ($k=2$)..... | 195 |

Liste des abréviations

(-) : mode d'ionisation négatif
A : abondance
AGC : Automatic Gain Control
BEH : Ethylene Bridged Hybrid
CID : Collision Induced Dissociation
ddp : différence de potentiel
DTPA : acide Diéthylène Triamine Penta Acétique
EDTA : acide Éthylène Diamine Tetra Acétique
ESI : ElectroSpray Ionisation
ESIMS : ElectroSpray Ionisation Mass Spectrometry
EXam : EXtraction de l'américium
FPP : Fully Porous Particles
FWHM : Full Width at Half Maximum
GANEX : Global ActiNide EXtraction
HCD : Higher energy Collisional Dissociation
HEDP : 1-HydroxyEthane 1,1-DiPhosphonic acid
HILIC : Hydrophilic Interaction Liquid Chromatography
HPC : High Pressure Cell
HPLC : High Performance Liquid Chromatography
HSAB : Hard and Soft Acids and Bases principle
I : intensité d'un ion
IC : Ion Chromatography
ICPMS : Inductively Coupled Plasma Mass Spectrometry
IUPAC : International Union of Pure and Applied Chemistry
LC : Liquid Chromatography
LIT : Linear Ion Trap
Ln : Lanthanides
LPC : Low Pressure Cell
LRS : Linear Regression Slope
 m/z : rapport masse sur charge
MC : multicollecteur
MOX : Mixed Oxides
MRM : Multiple Reaction Monitoring
MS : spectrométrie de Masse Simple
MS² ou MSⁿ : spectrométrie de masse en tandem
NC : nombre de coordination
NCE : Normalized Collision Energy
NIST : National Institute of Standards and Technology
NPLC : Normal-Phase Liquid Chromatography
PAI : Peak Area Integration
PM : Phase Mobile

ppb : partie par milliard
ppm : partie par million
PpP : Point by point
PS : Phase Stationnaire
PUREX : Plutonium and Uranium Refining by Extraction
Q : quadripôle
QqQ : triple quadripôle
R : résolution en spectrométrie de masse
RF : radiofréquence
RPLC : Reversed Phase Liquid Chromatography
R_s : résolution chromatographique
RSD : Relative Standard Deviation
SANEX : Selective ActiNides EXtraction
SIM : Single Ion Monitoring
SLRT : Spectrofluorimétrie Laser à Résolution Temporelle
SPP : Superficially Porous Particles
SRM : Single Reaction Monitoring
SSB : Sample Standard Bracketing
TIMS : Thermal Ionisation Mass Spectrometry
UHPLC : Ultra High Performance Liquid Chromatography
UOX : Uranium Oxide

Liste des notations

- A_E^1 : abondance de l'isotope 1 dans l'échantillon
 A_T^2 : abondance de l'isotope 2 dans le traceur
 A et $Au^{1/3}$: anisotropie d'écoulement de l'équation de Van Deemter et de Knox (cm)
 a, b, c : nombre d'isotopes de chaque élément dans une permutation donnée
 B/ν : diffusion longitudinale de l'équation de Van Deemter ou de Knox (cm)
 C_E : concentration de l'élément dans l'échantillon (ppm ou mol.L⁻¹)
 C_{mes} : concentration mesurée (ppm ou mol.L⁻¹)
 C_T : concentration de l'élément dans le traceur (ppm ou mol.L⁻¹)
 C_{th} : concentration théorique (ppm ou mol.L⁻¹)
 $C\nu$: résistance au transfert de masse de l'équation de Van Deemter ou de Knox (cm)
 D : débit de phase mobile (mL.min⁻¹)
 $d.i.$: diamètre interne des tubulures (μm)
 d_0 : facteur de discrimination
 d_c : diamètre interne de colonne (mm)
 D_m : coefficient de diffusion du soluté dans la phase mobile (cm².s⁻¹)
 d_p : diamètre des particules (μm)
 E_{th} : écart théorique
 H : hauteur équivalente à un plateau théorique (cm ou μm)
 h : hauteur équivalente à un plateau théorique réduite
 H_{min} : hauteur équivalente à un plateau théorique minimale (cm ou μm)
 h_p : hauteur du plus petit pic chromatographique (mm)
 h_v : hauteur de la vallée entre deux pics chromatographiques (mm)
 k : facteur de rétention
 K_{cell} : constante liée au mode de détection
 K_{inj} : constante liée au mode d'injection
 L : longueur de colonne (mm)
 l_c : longueur des connectiques (mm)
 m : masse (g)
 m_E : masse de l'échantillon (g)
 m_T : masse du traceur (g)
 M : masse molaire (g.mol⁻¹)
 M_E : masse molaire de l'élément dans le mélange (g.mol⁻¹)
 M_T : masse molaire de l'élément dans le traceur (g.mol⁻¹)
 N : nombre de plateaux théoriques
 n : nombre d'atomes de l'élément
 $n!$: factoriel n
 ^{nat}Sm : samarium d'isotopie naturelle
 r_1 : abondance atomique de chaque isotope de l'élément
 r_c : rayon des connectiques (μm)
 R_{cor} : rapport isotopique corrigé
 R_E : rapport isotopique de l'élément dans l'échantillon

R_M : rapport isotopique de l'élément dans le mélange
 R_{mes} : rapport isotopique ou d'abondance mesuré
 R_T : rapport isotopique de l'élément dans le traceur
 R_{th} : rapport isotopique ou d'abondance théorique
 t : temps d'analyse (min)
 t_0 : temps mort (min)
 t_r : temps de rétention (min)
 u : vitesse linéaire ($m.s^{-1}$ ou $cm.s^{-1}$ ou $mm.s^{-1}$)
 U : tension continue appliquée à l'analyseur (V)
 u_{opt} : vitesse linéaire optimale ($cm.s^{-1}$ ou $mm.s^{-1}$)
 v_{opt} : vitesse linéaire réduite optimale
 V : amplitude de la composante sinusoïdale appliquée à l'analyseur
 V_{cell} : volume de la cellule de détection (μL)
 $V_{effluent}$: volumes d'effluents (mL)
 V_{inj} : volume d'injection (μL)
 zA_n : A : élément - z : isotope - n : nombre d'élément
 α : sélectivité
 β : biais de masse
 η : viscosité de la phase mobile (Pa.s)
 σ : Relative Standard Deviation (coefficient de variation)
 τ : constante de temps liée au détecteur (s)
 v : vitesse linéaire réduite
 ω : fréquence angulaire ($rad.s^{-1}$)
 $\omega_{0,1}$: largeur du pic à 10% de sa hauteur (min)
 ω_i : largeur du pic à la base pour le soluté i (min)
 ϕ : facteur de résistance à l'écoulement
 Φ_0 : tension appliquée aux barres de l'analyseur (V)
 σ_{col}^2 : variance générée par les phénomènes de dispersion de la colonne (μL^2)
 σ_{ext}^2 : variances extra-colonne liés à l'injecteur, détecteur et connectiques (μL^2)
 σ_{tot}^2 : variance totale (μL^2)
 Δm : écart de masse (u)
 ΔP : perte de charges (Bar)

Introduction générale

Les combustibles nucléaires sont composés initialement d'oxyde d'uranium (appelés UOX : Uranium OXide) ou d'un mélange d'oxydes d'uranium et de plutonium (appelé MOX : Mixed OXides). Après quelques années en réacteur, un combustible usé de type UOX se compose d'environ 96% d'actinides majeurs qui sont les matières valorisables (95% d'uranium et 1% de plutonium) et d'environ 4% de déchets ultimes constitués par les produits de fission (lanthanides, Cs, Zr...) et 0,1% d'actinides mineurs (américium, curium, neptunium).

Actuellement, en France, le combustible nucléaire usé est traité industriellement par le procédé PUREX (Plutonium and Uranium Refining by EXtraction) pour récupérer la matière valorisable afin de la recycler. Le plutonium et l'uranium sont recyclés en combustibles MOX. Après utilisation, ces combustibles MOX sont actuellement stockés en vue de leur traitement ultérieur.

Une fois le plutonium retiré du combustible usé, les actinides mineurs sont les principaux contributeurs à la radiotoxicité résiduelle [1]. La séparation des actinides est donc d'un intérêt majeur d'une part pour recycler la matière valorisable et d'autre part pour réduire la radiotoxicité et le volume des déchets ultimes.

En application de la loi de 2006 sur la gestion durable des matières et des déchets radioactifs, des recherches ont donc été entreprises par le Commissariat à l'Énergie Atomique et aux Énergies Alternatives pour répondre à différentes stratégies de recyclage, comme la séparation-transmutation, afin de transformer les actinides mineurs en éléments de durée de vie plus courte, ou maintenant en lien avec le multirecyclage du plutonium (Pu). De nombreux procédés de traitement par extraction liquide-liquide ont été développés selon différents scénarios et sont à différents degrés d'avancement : la séparation groupée des actinides (GANEX : Global ActiNide EXtraction), l'extraction sélective des actinides mineurs (SANEX : Selective ActiNides EXtraction) ou de l'américium seul (EXam : EXtraction de l'américium) (Figure 0- 1) et la séparation du Pu de solutions riches en Pu depuis très récemment, en vue du traitement de futurs combustibles usés.

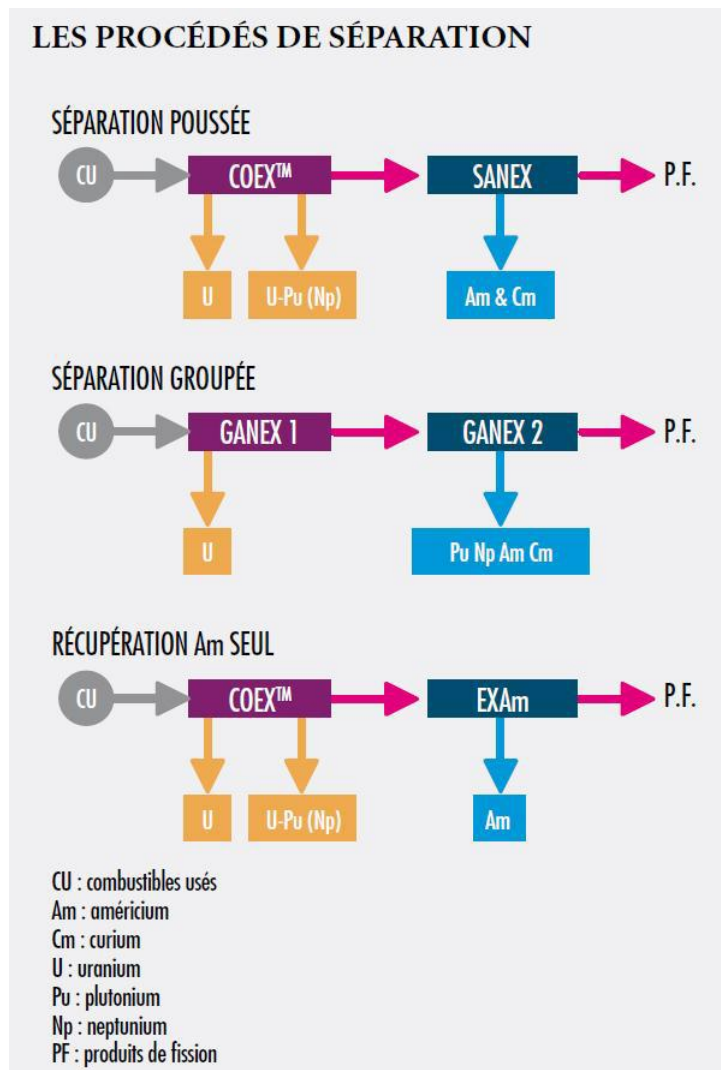


Figure 0- 1 : Différents procédés de séparation des actinides [2]

Quel que soit le scénario, les performances de ces procédés sont essentiellement liées à la composition des phases organiques et aqueuses. Ils requièrent donc la conception de molécules extractantes sélectives des radioéléments à extraire ainsi que l'utilisation d'agents complexants spécifiques en phase aqueuse, nécessaires lors des opérations d'extraction-lavage et de desextraction. Lors de ces différentes étapes, les éléments sont répartis en de multiples espèces chimiques dans les différentes phases. L'analyse de la spéciation exhaustive des radioéléments, à différents points clefs de ces procédés (extraction/desextraction/lavage), est essentielle pour acquérir des données fondamentales en vue de caractériser/améliorer leurs performances et d'approfondir la compréhension des mécanismes fondamentaux les régissant.

Analyser la spéciation d'un élément consiste à déterminer sa distribution selon différentes espèces chimiques définies dans un système [3], ce qui revient à réaliser la caractérisation structurale des différentes espèces chimiques ainsi que la caractérisation élémentaire et isotopique de l'élément dans chaque espèce.

L'objectif de ce travail de thèse est de développer des méthodes d'analyse de spéciation exhaustive des lanthanides (Ln) dans des échantillons modèles représentatifs des phases aqueuses des procédés de traitements de combustibles nucléaires usés. Ces échantillons contiennent des Ln, utilisés comme analogues chimiques des actinides (+III) et des acides polyaminocarboxyliques tels que l'acide Éthylène Diamine Tetra Acétique (EDTA) et l'acide Diethylene Triamine Penta Acétique (DTPA) utilisés comme agents complexants forts pour stabiliser les cations dans les phases aqueuses des procédés, lors des étapes d'extraction et de désextraction.

La stratégie analytique adoptée est de mettre en œuvre un couplage simultané entre la chromatographie d'interaction hydrophile (appelée HILIC : Hydrophilic Interaction LIquid Chromatography), dédiée à la séparation des complexes de Ln, et deux techniques de spectrométries de masse : à source d'ionisation électrospray (ESIMS : ElectroSpray Ionisation Mass Spectrometry) d'une part, et à source plasma à couplage inductif (ICPMS : Inductively Coupled Plasma Mass Spectrometry) d'autre part. Un tel couplage permettra en effet d'obtenir, en une seule analyse, la caractérisation structurale par ESIMS des espèces préalablement séparées et la caractérisation élémentaire et isotopique par ICPMS des éléments au sein de chaque espèce (Figure 0- 2).

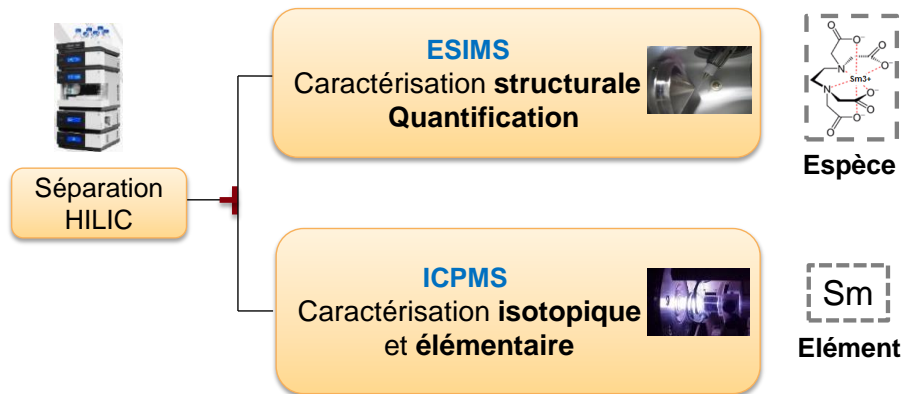


Figure 0- 2 : Représentation schématique du couplage simultané HILIC-ESIMS/ICPMS

Les conditions de séparation chromatographique des complexes Ln-acides polyaminocarboxyliques ont été mises au point dans de précédents travaux, et a permis de sélectionner une combinaison phase stationnaire/phase mobile : phase stationnaire à fonction amide/phase mobile composée de 70/30 acétonitrile/eau, 15 mM acétate d'ammonium et 0,5% d'acide formique [4].

En vue de l'analyse de futurs échantillons radioactifs, une partie de ce travail a été consacrée à la mise en place de stratégies permettant de maintenir voire d'améliorer le nombre de plateaux théoriques et la résolution de la séparation des complexes de Ln par HILIC tout en réduisant les volumes d'effluents et le temps d'analyse. En effet, la minimisation des volumes d'effluents actifs générés est d'une importance majeure dans le nucléaire pour l'exposition du personnel aux irradiations et pour les coûts associés aux installations et aux traitements des déchets. Des approches chromatographiques en adéquation avec le concept des 3R « Réduire, Remplacer, Recycler » [5] ont été entreprises avec trois échantillon modèles : 1) la réduction combinée des paramètres géométriques de colonnes remplies de particules entièrement poreuses (FPP : Fully Porous Particles) et de la granulométrie des particules à un diamètre inférieur à 2 μm et 2) l'utilisation de colonnes remplies de particules superficiellement poreuses (SPP : Superficially Porous Particles).

Selon la composition des échantillons et les niveaux d'incertitudes requis, le couplage HILIC-ESIMS pourrait s'avérer suffisant pour obtenir la spéciation exhaustive des éléments, moyennant la possibilité de réaliser des mesures isotopiques avec cette technique. De plus, la détermination de la caractérisation isotopique des éléments est indispensable dans le domaine nucléaire, pour de nombreuses problématiques telles que la sûreté ou le retraitement, et en raison des compositions isotopiques distinctes de celles d'éléments d'isotopie naturelle. Les performances de l'ESIMS pour la caractérisation isotopique d'un élément contenu dans une espèce ont donc été évaluées et validées, sur signal stationnaire par introduction directe d'échantillon dans un premier temps, puis sur signal transitoire en utilisant le couplage simultané. À cette fin, une méthode de déconvolution des spectres de masse des complexes Ln-acides aminopolycarboxyliques, acquis en ESIMS, a été développée spécifiquement dans ce travail afin de déterminer la composition isotopique, naturelle ou non naturelle, de l'élément d'intérêt. Ces développements ont ensuite permis de mettre au point des méthodes de quantification de l'élément comme de l'espèce chimique, notamment par dilution isotopique en mettant en œuvre le couplage simultané HILIC-ESIMS/ICPMS.

Ce manuscrit est composé de cinq chapitres. Dans le premier, les propriétés physico-chimiques des Ln en solution en présence d'EDTA et de DTPA seront décrites. Les méthodes d'analyse de spéciation des Ln développées par couplage HILIC-ESIMS, HILIC-ICPMS et par couplage simultané HILIC-ESIMS/ICPMS reportées dans la littérature seront passées en revues, ainsi que les approches récentes visant à réduire les quantités de solvants en chromatographie liquide et les études illustrant l'ESIMS comme outil pour l'analyse de spéciation.

Le deuxième chapitre est focalisé sur les technologies des phases stationnaires utilisées dans ce travail et les techniques de spectrométries de masse ESIMS et ICPMS.

Dans le troisième chapitre, les performances de colonnes remplies de FPP et de SPP ont été évaluées pour la séparation des complexes de Ln par HILIC. Les conditions permettant d'obtenir le meilleur compromis entre résolution, efficacité, temps d'analyse et volumes d'effluents ont permis de sélectionner la meilleure technologie de phase stationnaire pour la mise en œuvre du couplage simultané.

La caractérisation isotopique d'éléments contenus dans des espèces chimiques étant très peu documentée dans la littérature, le quatrième chapitre est dédié à la mise au point de méthodes de mesures de compositions isotopiques avec un échantillon simple, contenant du samarium d'isotopie naturelle (^{nat}Sm) complexé à l'EDTA, sur un signal stationnaire, avec deux types d'ESIMS. Deux approches ont été mises en œuvre pour obtenir la composition isotopique du ^{nat}Sm à partir du ^{nat}Sm complexé à l'EDTA : 1) par déconvolution des spectres de masse du complexe pour s'affranchir des contributions isotopiques de H, C, N et O provenant du ligand et 2) par fragmentation du complexe Sm-EDTA par spectrométrie de masse en tandem. L'approche développée a été validée par l'analyse d'un complexe de Sm enrichi.

Le dernier chapitre présente la méthode développée par couplage simultané HILIC-ESIMS/ICPMS pour la détermination des rapports isotopiques du Sm, d'isotopie naturelle ou non naturelle, contenu dans un complexe Sm-EDTA, en appliquant plusieurs méthodes de traitements des signaux transitoires, couramment utilisées en chromatographie en phase liquide couplée à l'ICPMS (LC-ICPMS : Liquid Chromatography coupled to ICPMS). Les performances des méthodes de quantification développées par étalonnage externe et par dilution isotopique spécifique ont ensuite été comparées.

Après une conclusion générale sur ces travaux, les perspectives sont présentées.

Références :

- [1] Abonneau E., Baron P., Berthon C., Berthon L., Béziat A., Bisel I., Bonin L., *et al.*, "Le traitement-recyclage du combustible nucléaire usé : La séparation des actinides – Application à la gestion des déchets". Monographie de la Direction de l'Energie Nucléaire *Radioprotection*, 43, (2008), 1-176.
- [2] CEA/Direction de l'Energie Nucléaire, "Avancées des recherches sur la séparation-transmutation et le multi-recyclage du plutonium dans les réacteurs à flux de neutrons rapides," (2015), 1-352.
- [3] Templeton D. M., Fujishiro H., "Terminology of elemental speciation–An IUPAC perspective," *Coordination Chemistry Reviews*, 352, (2017), 424-431.
- [4] Beuvier L., Bresson C., Nonell A., Vio L., Henry N., Pichon V., *et al.*, "Simple separation and characterization of lanthanide-polyaminocarboxylic acid complexes by HILIC ESI-MS," *RSC Adv.*, 5, (2015), 92858-92868.
- [5] Welch C. J., Wu N., Biba M., Hartman R., Brkovic T., Gong X., *et al.*, "Greening analytical chromatography," *TrAC, Trends Anal. Chem.*, 29, (2010), 667-680.

Chapitre I

Généralités et techniques analytiques pour la spéciation

Ce chapitre présente dans un premier temps les propriétés physico-chimiques des lanthanides (Ln) et de leur complexation vis-à-vis des acides polyaminocarboxyliques. La partie suivante regroupe les études de la littérature décrivant les méthodes d'analyse de spéciation des Ln réalisées par HILIC-ESIMS, HILIC-ICPMS ainsi que l'application du couplage simultané HILIC-ESIMS/ICPMS pour l'analyse de spéciation. Les différentes approches récentes décrites dans la littérature pour réduire les volumes d'effluents chromatographiques sont ensuite exposées. En effet, la première étape de ce travail a consisté à réduire les volumes d'effluents générés par les séparations de complexes de Ln par HILIC, ce qui revêt une importance majeure dans le domaine du nucléaire. La dernière partie de ce chapitre est consacrée aux études illustrant l'utilisation de l'ESIMS comme outil de spéciation, plus particulièrement pour la caractérisation structurale de complexes métalliques, la détermination de constantes de stabilités thermodynamiques, le développement de méthodes de quantification et de façon plus marginale pour la caractérisation isotopique d'éléments. L'ESIMS est utilisée dans ce travail comme technique complémentaire de l'ICPMS pour étudier la spéciation des Ln en mode couplage.

I. Les lanthanides

La famille des lanthanides est composée de 15 éléments et s'étend du lanthane (La) au lutécium (Lu). Les Ln appartiennent au bloc f de la classification périodique des éléments. Leurs propriétés physico-chimiques voisines, rendant leur séparation très délicate ainsi que celle des espèces chimiques associées, sont exposées ci-dessous.

I.1. Propriétés électroniques des Ln

I.1.1. Configuration électronique

La famille des Ln est construite par remplissage progressif des orbitales 4f. Les configurations électroniques des Ln à l'état fondamental sont classées dans le Tableau I-1 [1].

Tableau I- 1 : Configuration électronique des Ln [1]

| Nom | Symbole | Numéro atomique Z | Configuration électronique à l'état gazeux |
|------------|---------|-------------------|---|
| Lanthane | La | 57 | [Xe] 5d ¹ 6s ² |
| Cérium | Ce | 58 | [Xe] 4f ¹ 5d ¹ 6s ² |
| Praséodyme | Pr | 59 | [Xe] 4f ³ 6s ² |
| Néodyme | Nd | 60 | [Xe] 4f ⁴ 6s ² |
| Prométhéum | Pm | 61 | [Xe] 4f ⁵ 6s ² |
| Samarium | Sm | 62 | [Xe] 4f ⁶ 6s ² |
| Europium | Eu | 63 | [Xe] 4f ⁷ 6s ² |
| Gadolinium | Gd | 64 | [Xe] 4f ⁷ 5d ¹ 6s ² |
| Terbium | Tb | 65 | [Xe] 4f ⁹ 6s ² |
| Dysprosium | Dy | 66 | [Xe] 4f ¹⁰ 6s ² |
| Holmium | Ho | 67 | [Xe] 4f ¹¹ 6s ² |
| Erbium | Er | 68 | [Xe] 4f ¹² 6s ² |
| Thulium | Tm | 69 | [Xe] 4f ¹³ 6s ² |
| Ytterbium | Yb | 70 | [Xe] 4f ¹⁴ 6s ² |
| Lutécium | Lu | 71 | [Xe] 4f ¹⁴ 5d ¹ 6s ² |

Les orbitales 4f des Ln sont localisées et leur niveaux d'énergies plus bas que celui des orbitales 5d, donnent ainsi pour le cérium une configuration électronique [Xe] 4f¹ 5d¹ 6s² et pour le praséodyme, [Xe] 4f³ 6s² [1]. Le remplissage de la couche f est ensuite progressif jusqu'au lutécium. Néanmoins, l'effet de stabilisation des orbitales 4f à demi remplies induit une configuration électronique particulière pour le gadolinium : [Xe] 4f⁷ 5d¹ 6s² [1]. Les orbitales 4f étant également à demi-remplies pour l'euporium, des difficultés peuvent être rencontrées pour séparer ces deux éléments ou leurs complexes.

I.1.2. Degrés d'oxydation

Les degrés d'oxydation des Ln en solution aqueuse sont présentés dans le Tableau I- 2 [2].

Tableau I- 2 : Degrés d'oxydation des Ln en solution aqueuse. Les plus stables sont indiqués en bleu et les degrés mal caractérisés entre parenthèses [2]

| La | Ce | Pr | Nd | Pm | Sm | Eu | Gd | Tb | Dy | Ho | Er | Tm | Yb | Lu |
|-----|-----|-----|------|------|-----|-----|-----|-----|------|------|-----|------|-----|-----|
| | | | (II) | (II) | II | II | | | (II) | (II) | | (II) | II | |
| III | III | III | III | III | III | III | III | III | III | III | III | III | III | III |
| | IV | IV | (IV) | | | | | IV | (IV) | | | | | |

Le degré d'oxydation le plus stable en solution pour l'ensemble de la série des Ln est le degré +III expliqué par la perte des électrons 5d et 6s. Ce degré d'oxydation est rencontré dans les

solutions nitriques de combustibles usés et qui contribue à rendre leur séparation délicate. Certains éléments sont également présents au degré d'oxydation (+II) et au degré d'oxydation (+IV). À ces degrés d'oxydation, les orbitales 4f sont inoccupées, à demi remplies ou entièrement remplies, conférant à ces degrés d'oxydation une certaine stabilité [1].

I.2. Evolution des propriétés le long de la série des Ln³⁺

I.2.1. Rayon ionique

Le rayon ionique d'un ion dépend notamment de son degré d'oxydation et de son nombre de coordination (NC). C'est donc un paramètre influant ses propriétés physico-chimiques. Les valeurs des rayons ioniques pour les ions Ln³⁺ sont présentées en Figure I- 1 pour un nombre de coordination de 6 [3].

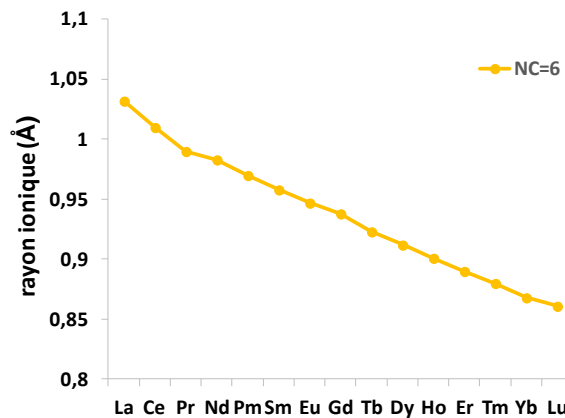


Figure I- 1: Evolution du rayon ionique des Ln³⁺ selon la série des Ln pour un nombre de coordination de 6 [3]

Lorsque le numéro atomique augmente le long de la série des Ln, le rayon ionique décroît régulièrement. C'est le phénomène de « contraction lanthanidique ». Il est expliqué par l'augmentation de l'attraction coulombienne des électrons par le noyau de manière à stabiliser les orbitales f. La densité de charge des Ln augmente donc le long de la série. Le rayon ionique étant différent pour les cations Ln³⁺, ce paramètre peut permettre de les différencier.

I.2.2. Sphère d'hydratation

Un modèle à quatre zones permet d'illustrer les sphères d'hydratation des cations Ln³⁺, (Figure I- 2) [4], avec :

- La zone A, est appelée la première sphère d'hydratation ou sphère interne de solvation. Dans cette zone, N molécules d'eau sont directement liées au cation par des interactions ion-dipôle.

- La zone B, est appelée sphère externe, dans laquelle les molécules d'eau ne sont pas liées mais sont influencées par le champ électrostatique induit par le cation Ln^{3+} . Le nombre de molécules d'eau H dans cette zone dépend donc de la densité de charge du cation.
- Dans la zone C, les molécules d'eau sont moins ordonnées que dans la zone B
- Dans la zone D, les molécules d'eau ne sont plus influencées par le cation.

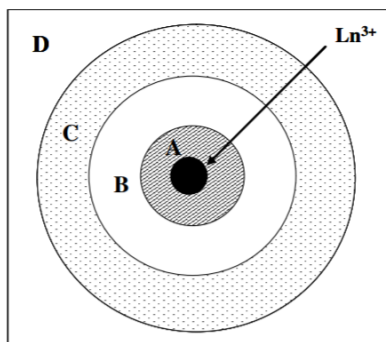


Figure I- 2 : Modèle d'hydratation d'un cation Ln^{3+} [4]

Le taux d'hydratation des Ln^{3+} diffère le long de la série. Le nombre primaire d'hydratation est en effet de 9 pour les lanthanides légers (La-Nd), est compris entre 8 et 9 pour les lanthanides intermédiaires Sm à Tb, et est de 8 pour les lanthanides lourds (Dy-Lu) [1]. Par conséquent, même lorsque les Ln seront complexés, le nombre de molécules d'eau dans leur sphère de coordination sera différent le long de la série et selon l'encombrement stérique du ligand, ce qui aura une influence sur l'hydrophilie des complexes et donc de leur propriétés de rétention en HILIC.

I.3. Propriétés de complexation

I.3.1. Localisation des électrons

Les courbes de fonctions d'onde 4f, 5s, et 6p pour le Ce^{3+} sont présentées en Figure I- 3.

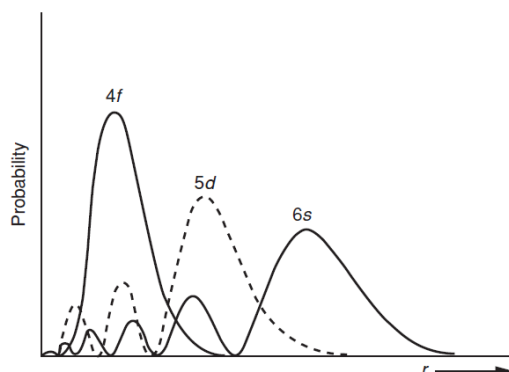


Figure I- 3 : Courbes des fonctions d'onde 4f, 5d et 6s pour le Ce^{3+} [1]

Les électrons des orbitales 4f sont des électrons de cœur et sont écrantés par ceux des orbitales de valence 5d et 6s. Ils sont peu ou pas disponibles pour la formation de liaisons covalentes avec des ligands, en raison de la différence entre les niveaux d'énergie des orbitales 4f et ceux des orbitales 5d et 6s, qui participent à des liaisons ioniques.

1.3.2. Nombre de coordination

Le nombre de coordination des lanthanides complexés est compris entre 2 et 12. Ce nombre dépend de la nature des ligands et du rayon ionique des cations Ln^{3+} . Néanmoins, les nombres de coordination les plus communs sont 8 et 9 [1]. Des études ont montré que la coordinance est de 9 de La à Eu, de 8 pour Dy-Lu et entre 8 et 9 pour les Ln intermédiaires [1].

1.3.3. Concept Acide-Base de Pearson

Le concept Acide-Base de Pearson [5] (HSAB : Hard and Soft Acids and Bases principle) est un modèle qualitatif défini pour prédire si un ion, une molécule ou un groupement fonctionnel peut réagir avec un autre ion ou molécule. Ce principe est lié aux notions d'acidité et de basicité de Lewis. Les acides, accepteurs d'électrons et les bases, donneuses d'électrons sont classés en deux catégories :

- Espèce **dure** : présente une petite taille, une forte densité de charge, une faible polarisabilité et est difficile à oxyder ou à réduire
- Espèce **molle** : présente une grande taille, une faible densité de charge, une forte polarisabilité et s'oxyde ou se réduit facilement

Un acide dur réagit préférentiellement avec une base dure pour former principalement une liaison de nature ionique. Un acide mou réagit préférentiellement avec une base molle pour former une liaison covalente. Les cations Ln^{3+} étant des acides durs, ils forment essentiellement des liaisons ioniques avec des bases dures, comme les ligands comportant des atomes donneurs oxygène ou azote. La dureté des Ln augmente lorsque le numéro atomique augmente. Les interactions ioniques avec un ligand donné seront donc plus fortes pour les Ln lourds que pour les Ln légers. Cette différence de réactivité peut être exploitée pour séparer les Ln et leurs complexes.

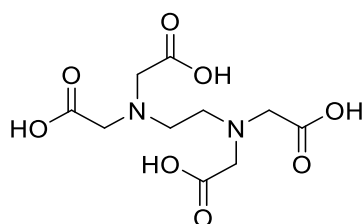
I.4. Les Ln^{3+} et les ligands acides polyaminocarboxyliques

Les acides polyaminocarboxyliques trouvent des applications dans de nombreux domaines, comme par exemple en tant que ligands dans les agents de contraste pour l'imagerie médicale,

dans le domaine du nucléaire ou ils sont utilisés en tant qu'agents décorporants ou pour stabiliser les cations dans les phases aqueuses des procédés de traitement de combustibles usés, lors d'étapes d'extraction et de dés extraction.

Parmi eux, l'acide Ethylène Diamine Tétra Acétique (EDTA) et l'acide Diéthylène Triamine Penta Acétique (DTPA) (Figure I- 4), sont des complexants d'intérêt pour les procédés de traitement.

a)



b)

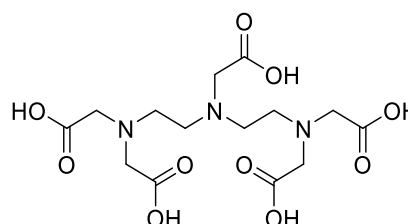
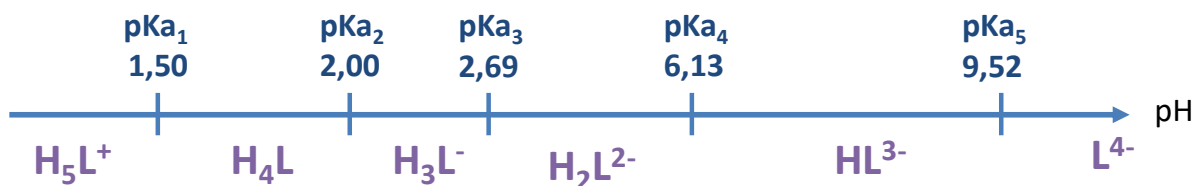


Figure I- 4 : Structure chimique a) de l'EDTA b) du DTPA

1.4.1. Les acides polyaminocarboxyliques : EDTA et DTPA

L'EDTA et le DTPA étant des polyacides, ils possèdent plusieurs pK_a et donc différents degrés de déprotonation selon le pH [6] (Figure I- 5).

a)



b)

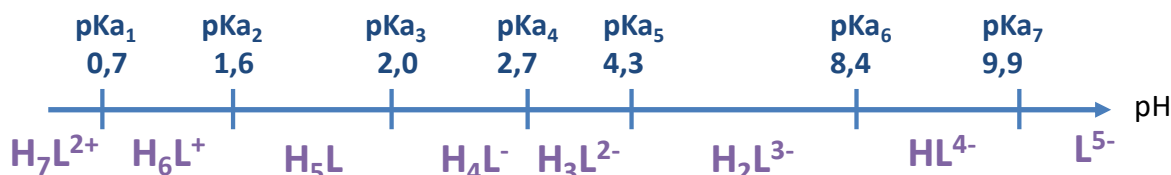
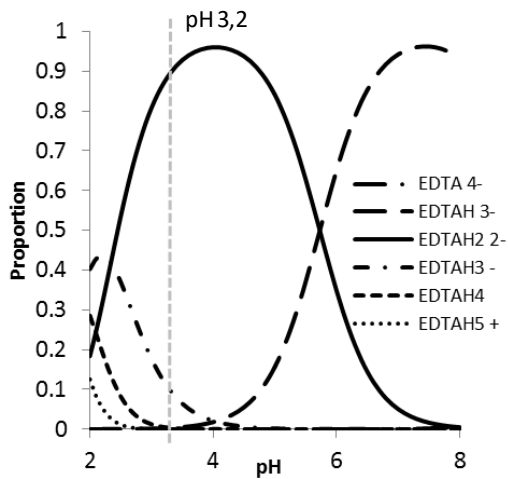


Figure I- 5 : Diagramme de prédominance en fonction du pH, avec les pK_a à force ionique de 0,1 à 25°C : a) EDTA b) DTPA [6]

Pour connaître plus précisément les formes prédominantes à $pH=3,2$, pH classique dans les phases aqueuses des procédés, les diagrammes de spéciation théorique de l'EDTA et du DTPA en milieu aqueux ont été établis en fonction du pH (Figure I- 6).

a)



b)

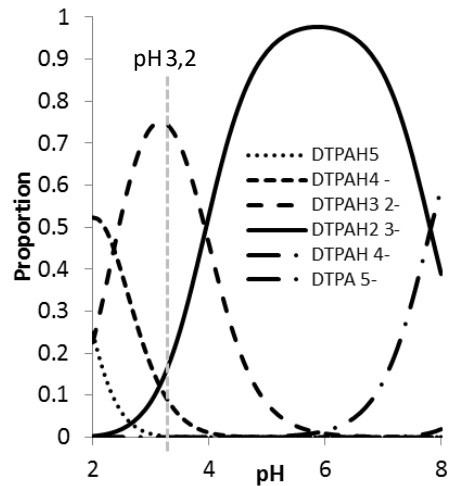
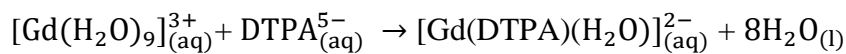


Figure I- 6 : Diagramme de spéciation théorique a) de l'EDTA b) du DTPA en fonction du pH pour une concentration en DTPA =EDTA = 10^{-4} mol.L⁻¹ [6-7]

Ces diagrammes ont été tracés à l'aide du logiciel PhreeqC et des constantes de stabilité répertoriées par l'Institut National des normes et des technologies (NIST : National Institute of Standards and Technology) [6]. À pH = 3,2, les formes prédominantes sont les formes di-chargées $[DTPAH_3]^{2-}$ et $[EDTAH_2]^{2-}$ sachant que les formes neutres sont notées DTPAH₅ et EDTAH₄.

I.4.2. Complexation des Ln³⁺ avec l'EDTA et le DTPA

Les réactions de complexation du gadolinium en solution aqueuse avec l'EDTA et le DTPA sont données en équation I-1 [1], en tenant compte des molécules d'eau :



L'Eq-I.1 montre que les complexes Gd-EDTA formés sont plus hydratés que les complexes de Gd-DTPA, ce qui est dû à l'encombrement stérique des ligands et un nombre de sites de coordination plus élevé pour le DTPA que l'EDTA.

Pour la série des Ln, les constantes de stabilités des complexes $[Ln-EDTA]^-$ et $[Ln-DTPA]^{2-}$ sont reportées sur le graphique en Figure I- 7 [6, 8].

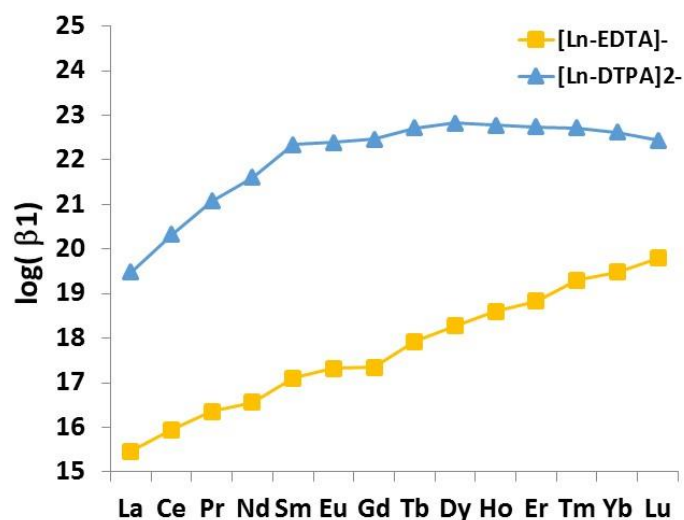
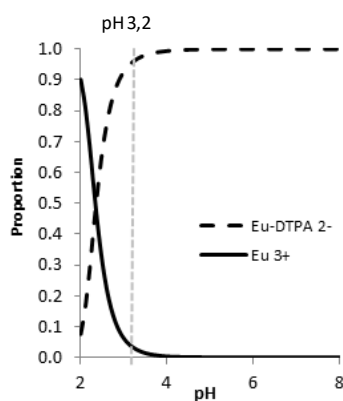


Figure I- 7 : Evolution des constantes de stabilité des complexes de Ln au degré d'oxydation +III le long de la série, à 25°C avec une force ionique de 0,1 [6, 8]

Les valeurs de constantes de stabilité des complexes $[\text{Ln-EDTA}]^-$ et $[\text{Ln-DTPA}]^{2-}$ sont supérieures à 10^{15} , et à titre de comparaison, sont beaucoup plus élevées que celles obtenues avec des ligands acétate, dont la constante de stabilité est de l'ordre de $10^{1,8}$ [1]. Bien que les constantes de stabilité soient élevées pour les deux ligands, celles des complexes de DTPA sont supérieures à celles des complexes d'EDTA de plusieurs ordres de grandeurs, reflétant le pouvoir de complexation important du DTPA. La Figure I- 7 permet également de mettre en évidence que pour les deux ligands, les valeurs de constantes de stabilité augmentent le long de la série des Ln. Toutefois, un palier est observé pour les complexes $[\text{Eu-EDTA}]^-$ et $[\text{Gd-EDTA}]^-$. Pour les complexes $[\text{Ln-DTPA}]^{2-}$, le palier est observé à partir du samarium (Sm), pouvant être expliqué par une contraction lanthanidique trop importante par rapport au ligand. La séparation des complexes Ln-DTPA avec Ln de Sm à Lu peut donc s'avérer difficile.

Les diagrammes de spéciation de l'euprium (Eu) en présence de DTPA ou d'EDTA ont été modélisés en fonction du pH afin de connaître la stœchiométrie des complexes, leur charge et leurs proportions (Figure I- 8).

a)



b)

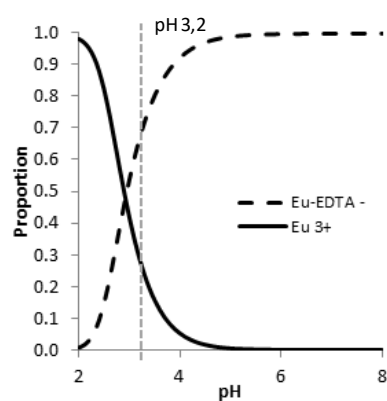


Figure I- 8 : Diagramme de spéciation théorique de l'euprécium en présence a) du DTPA et b) de l'EDTA en condition stœchiométrique avec des concentrations en $Eu = DTPA_T = EDTA_T = 1.10^{-4} \text{ mol.L}^{-1}$ [7]

À $pH=3,2$, les complexes de Ln avec l'EDTA et le DTPA sont de stœchiométrie 1 : 1 et respectivement mono et dichargés, $[Ln-EDTA]^-$ et $[Ln-DTPA]^{2-}$. Ils seront notés par la suite Ln-EDTA et Ln-DTPA. Lorsque l'Eu et les acides polyaminocarboxyliques sont dans des conditions stœchiométriques à $pH=3,2$, plus de 95 % de l'Eu est complexé avec le DTPA contre 70 % en présence d'EDTA, en raison de la différence des constantes de complexation ($K_{Eu-DTPA} = 10^{22,39}$ et $K_{Eu-EDTA} = 10^{17,25}$). Or, quelle que soit l'utilisation des acides polyaminocarboxyliques, ils sont généralement introduits en excès par rapport aux éléments. À titre d'exemple, le diagramme de spéciation théorique de l'Eu en présence d'EDTA avec un rapport Eu : EDTA 1 : 1,25 montre que dans ce cas, la totalité de l'euprécium est engagée dans la complexation sous la forme de $[Eu-EDTA]^-$ (Figure I- 9).

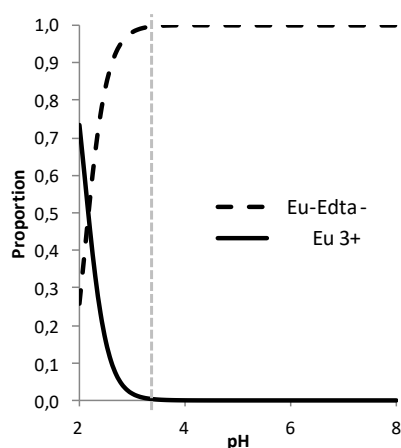


Figure I- 9 : Diagramme de spéciation théorique de l'euprécium en présence d'EDTA; $Eu = 1.10^{-4} \text{ mol.L}^{-1}$; $EDTA_T = 1,25.10^{-4} \text{ mol.L}^{-1}$ [7]

Néanmoins, lorsque l'EDTA et le DTPA sont introduits conjointement même avec un léger excès stœchiométrique, il est nécessaire de tenir compte des réactions de complexation

préférentielle afin de dimensionner la stœchiométrie des échantillons en conséquence. En effet, la formation des complexes Ln-DTPA sera plus favorisée que la formation des complexes Ln-EDTA. Cette partie est décrite dans le chapitre III.

II. Techniques de spectrométries de masse couplées à la chromatographie d'interaction hydrophile pour l'analyse de spéciation des Ln

II.1. La chromatographie d'interaction hydrophile

Le terme chromatographie d'interaction hydrophile (HILIC : Hydrophilic Interaction LIquid Chromatography) a été introduit en 1990 par Alpert pour décrire un mode alternatif de séparation chromatographique permettant de séparer des composés polaires, hydrophiles neutres et/ou chargés [9]. Le mode HILIC combine une phase stationnaire polaire comme en chromatographie à polarité de phase normale (NPLC : Normale-Phase Liquid Chromatography), une phase mobile hydro-organique comme en chromatographie de partage à polarité de phases inversée (RPLC : Reversed-Phase Liquid Chromatography) et l'aptitude à séparer des composés chargés comme en chromatographie ionique (IC : Ion Chromatography) [10]. Depuis la fin des années 2000, l'HILIC a connu un véritable essor lié au besoin de caractériser des échantillons contenant des molécules polaires et hydrophiles et à l'utilisation de la spectrométrie de masse.

II.1.1. Mécanisme de rétention

Le mode HILIC est utilisé dans de nombreux champs d'applications tels que la bioanalyse [11], l'alimentaire [12], le domaine pharmaceutique [13], les analyses environnementales [14], etc, mais son mécanisme de rétention, très complexe, reste toujours très discuté [15].

Le mécanisme de rétention primaire du mode HILIC est basé sur le partage de l'analyte entre la phase mobile riche en solvant organique, généralement de l'acétonitrile (ACN), et la région hydrophile présente à la surface de la phase stationnaire (Figure I- 10) [10].

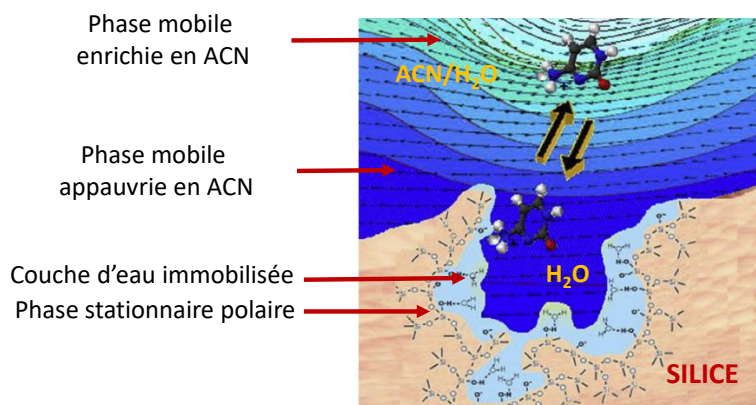


Figure I- 10 : Principe du partage des analytes en mode HILIC (Adapté de [10])

Des interactions électrostatiques d'attraction ou de répulsion entre l'analyte et la phase stationnaire participent également au mécanisme de rétention en HILIC, ainsi que des phénomènes d'adsorption via des interactions dipôle-dipôle ou des liaisons hydrogène. Plusieurs modèles ont été établis [16-18], mais la rétention des composés reste difficile à prévoir, ce qui nécessite de mettre au point les conditions de séparations en criblant différentes phases stationnaires et compositions de phases mobiles, en faisant varier le pourcentage de solvant organique et la concentration en sels. La fonctionnalisation de la phase stationnaire et la composition de phase mobile ont un impact important sur la rétention des composés et sur la sélectivité.

II.1.2. Phases stationnaires

De nombreuses phases stationnaires dédiées à l'HILIC sont disponibles. Elles peuvent être non fonctionnalisées, en silice vierge ou hybride, ou fonctionnalisées par une grande variété de groupements polaires. Ces dernières sont répertoriées en 3 catégories représentées en Figure I-11 [17, 18] :

- Fonctionnalisées par des groupements ionisés/ionisables : amino, triazole... donnant lieu à de fortes interactions électrostatiques entre l'analyte et la phase stationnaire chargés
- Fonctionnalisées par des groupements neutres : amide, diol, cyano... impliquant majoritairement des liaisons hydrogène et des interactions dipôle-dipôle
- Fonctionnalisées par des groupements zwitterioniques globalement neutres, avec une charge positive et une charge négative : sulfobetaines... engendrant de faibles interactions électrostatiques entre la phase stationnaire et l'analyte.

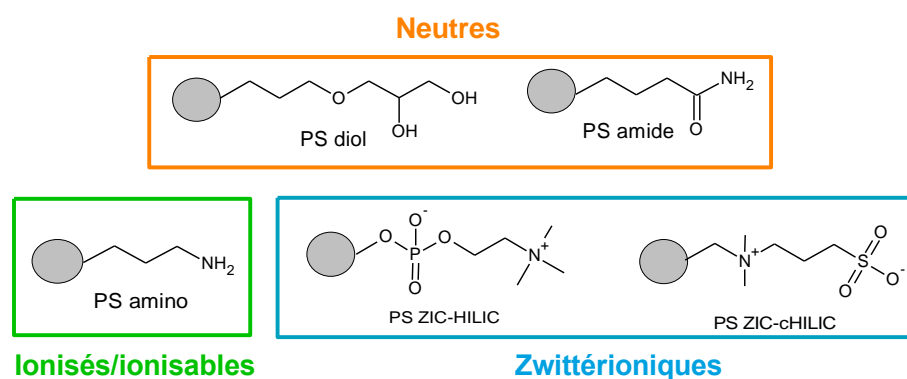


Figure I- 11 : Présentation de quelques groupements fonctionnels utilisés en mode HILIC [18]

La majorité de ces phases stationnaires sont commercialisées, mais certaines sont développées à façon dans des laboratoires avec des fonctionnalisations spécifiques pour des applications dédiées. De nouvelles générations de colonnes sont également apparues sur le marché, avec de nouvelles technologies de particules, en particulier les particules entièrement poreuses (FPP : Fully Porous Particles) de diamètre sub-2- μm et les particules superficiellement poreuses (SPP : Superficially Porous Particles). Ces nouvelles générations de colonnes commerciales disponibles pour le mode HILIC sont décrites dans la partie III.

II.1.3. Phase mobile

La phase mobile est composée d'un mélange eau/solvant organique miscible avec l'eau. La phase mobile doit en contenir au minimum 2-3% pour former la couche d'eau à la surface de la phase stationnaire. En HILIC, l'eau est le solvant éluant et l'ordre d'éluion des analytes est inversé par rapport à celui de la RPLC : les composés les plus polaires et hydrophiles sont les plus retenus. La sélection du solvant organique est primordiale ; il doit être ni accepteur ni donneur de liaisons hydrogène, pour ne pas entrer en compétition avec l'eau. L'acétonitrile est le solvant organique le plus utilisé en HILIC de par ses propriétés : aprotique, faiblement accepteur de protons et faible viscosité. La proportion d'acétonitrile contenue dans la phase mobile est l'un des paramètres ayant le plus d'influence sur la rétention des solutés. Lorsque son pourcentage augmente, la polarité de la phase mobile diminue, engendrant une diminution de la force éluante et une augmentation des temps de rétention des analytes.

Des sels sont toujours ajoutés à la phase mobile pour contrôler les interactions électrostatiques et la formation des liaisons hydrogène. Ces sels doivent être volatils pour assurer une compatibilité avec l'ESIMS et sont généralement de l'acétate ou du formiate d'ammonium. L'augmentation de la concentration en sels induit une diminution des temps de rétention des analytes dans le cas d'interactions électrostatiques attractives avec la phase stationnaire et une

augmentation des temps de rétention dans le cas d'interactions électrostatiques répulsives. Augmenter la concentration en sels a également pour effet d'augmenter l'épaisseur de la couche d'eau, ce qui restreint les phénomènes d'adsorption. Une diminution des temps de rétention et de l'asymétrie des pics en résulte, mais de façon moins marquée que dans le cas d'interactions électrostatiques.

Lorsqu'il est possible de le modifier, le pH est un autre paramètre à considérer. Il a un impact sur l'état de charge/polarité des analytes et de la phase stationnaire si elle présente un groupement fonctionnel ionisable ou des silanols résiduels à sa surface. Un changement de pH peut donc avoir une influence sur les interactions électrostatiques et sur l'épaisseur de la couche d'eau, et donc de la rétention des analytes. Le pH et les sels ont un impact sur la rétention et sélectivité des analytes en HILIC, mais résultent de la combinaison de phénomènes complexes. Les phases mobiles utilisées en HILIC permettent un couplage aisé avec l'ESIMS en raison du pourcentage de solvant organique élevé et de la présence de sels volatils [19]. Le couplage de l'HILIC avec l'ICPMS est également réalisable en respectant certaines précautions qui seront discutées dans le Chapitre V, et ce, malgré le pourcentage important de solvant organique [20, 21].

Les caractéristiques de l'HILIC en font une technique bien adaptée à la séparation de complexes métalliques, incluant les non covalents, et donc pour l'analyse de spéciation [22]. Néanmoins, l'utilisation de l'HILIC en spéciation est relativement peu étendue par rapport à d'autres domaines d'applications. Concernant la spéciation des Ln, les études sont principalement focalisées jusqu'à présent sur les complexes de gadolinium (Gd) contenant des acides polyaminocarboxyliques linéaires ou cycliques, utilisés comme agents de contraste pour l'imagerie par résonance magnétique [23]. Des méthodes analytiques dédiées ont été développées par HILIC couplée à l'ESIMS ou l'ICPMS pour suivre et quantifier ces espèces de Gd dans des extraits biologiques ou l'environnement [24].

II.2. Analyse de spéciation des Ln par HILIC-ESIMS

À notre connaissance et excepté nos précédents travaux [7], seules deux études de spéciation des Ln ont été réalisées par couplage HILIC-ESIMS [25, 26] pour séparer, identifier et quantifier les agents de contraste à base de Gd dans des matrices de sang humain et d'urine. Dans le premier exemple, les complexes séparés ont été identifiés par comparaison des massifs isotopiques expérimentaux et théoriques, calculés avec le logiciel de l'instrument [25]. À titre

d'exemple, la séparation des complexes de gadolinium à ligands linéaires : gadopentetate (Gd-DTPA), et gadobenate (Gd-BOPTA), à ligands non linéaires : gadodiamide (Gd-DTPA-BMA), et à ligand macrocycliques : gadoterate (Gd-DOTA) et gadobutrol (Gd-BT-DO3A) est présentée en Figure I- 12 ainsi que la comparaison des massifs isotopiques théorique et expérimental du complexe Gd-DTPA :

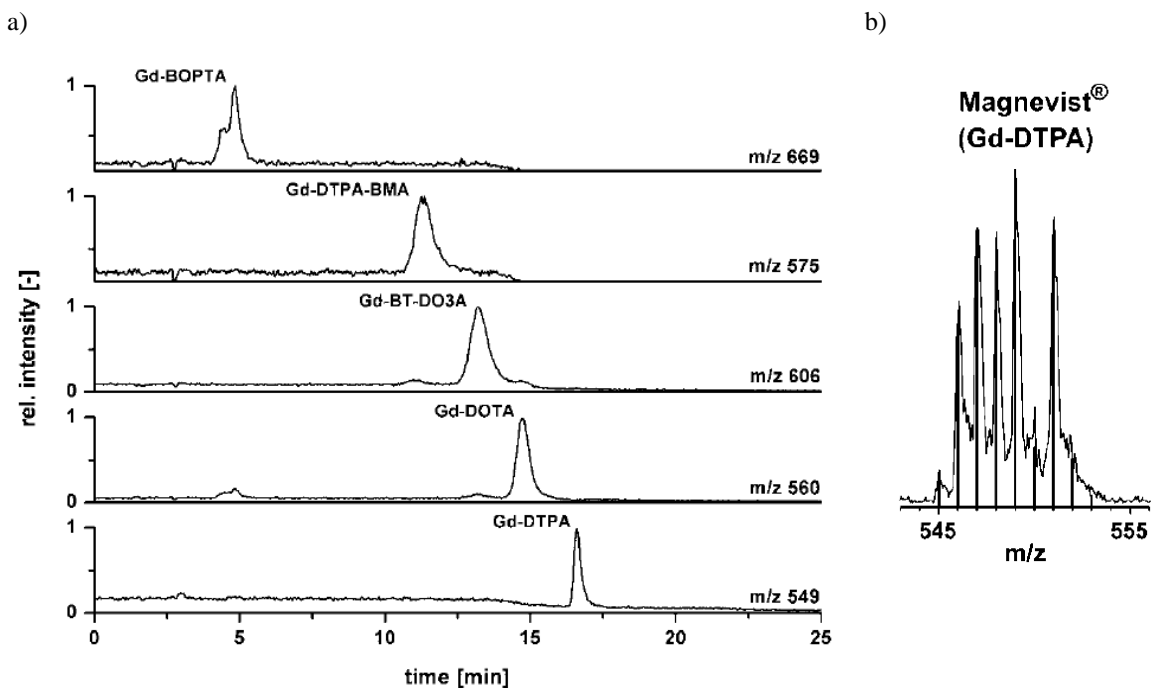


Figure I- 12 : a) Pics chromatographiques de cinq agents de contraste extraits du courant ionique total b) spectre de masse du complexe Gd-DTPA [25]

Pour quantifier les complexes, une méthode des ajouts dosés a été mise au point. Le mode de suivi de transitions de fragmentation multiples (MRM : Multiple Reaction Monitoring), permettant un suivi spécifique et sélectif en ESIMS, n'a pas pu être utilisé pour la quantification des complexes de Gd en raison d'une perte significative de sensibilité. Les expériences ont été réalisées en mode suivi d'ions sélectionnés (SIM : Single Ion Monitoring). Le principe de ces modes sera détaillé dans le chapitre II. Par ailleurs, le complexe Eu-DTPA a été sélectionné comme étalon interne [25], mais ce complexe présente le même temps de rétention que le complexe Gd-DTPA, ce qui peut induire des interférences.

Dans le deuxième exemple, un étalonnage externe pour quantifier le Fe-DTPA a été réalisé par HILIC-ESIMS dans le cadre d'une étude sur la potentialité de transmetallation du Gd contenu dans les agents de contraste par le cation Fe^{3+} [26].

Globalement, des coefficients de variation (RSD : Relative Standard Deviation) de l'ordre de quelques % ou inférieures ont été obtenues sur les mesures de concentration des complexes

[25, 26]. De plus, la gamme de concentration linéaire s'étend sur deux ordres de grandeurs et des taux de recouvrement de l'ordre de 100% ont été obtenus [25].

II.3. Analyse de spéciation des lanthanides par HILIC-ICPMS

Des méthodes d'analyses de spéciation ont également été développées en HILIC-ICPMS pour le suivi et la quantification d'agents de contraste [26-36]. Ces études sont plus nombreuses qu'en HILIC-ESIMS du fait des très faibles limites de détection des ICPMS, permettant une analyse sensible d'échantillons environnementaux, dans lesquels ces agents de contraste sont susceptibles d'être en très faibles concentrations. Le couplage HILIC-ICPMS a été réalisé dans ces différentes études en prenant quelques précautions, notamment par l'ajout d'oxygène dans la torche avec un débit compris entre 0,03 et 0,1 L.min⁻¹ pour oxyder le carbone provenant de l'éluant de phase mobile en CO₂ et éviter les dépôts de carbone, l'utilisation d'injecteurs de fiable diamètre et de cônes en platine. Pour améliorer les limites de détection et de quantification, un système de désolvatation a également été utilisé [30].

Toutefois, le couplage avec l'ICPMS ne permet pas d'identifier des espèces inconnues en aval de leur séparation, n'autorisant que des analyses ciblées. Deux approches permettent d'identifier les espèces chimiques associées à chaque pic chromatographique : 1) séparation des espèces chimiques par LC-ESIMS en parallèle ou 2) comparaison des temps de rétention des complexes d'intérêt, obtenus par LC-ICPMS avec ceux d'espèces connues. C'est pourquoi dans les études de spéciation par HILIC-ICPMS, le couplage HILIC-ESIMS est réalisé souvent en complément : il permet d'identifier les complexes et parfois de mettre au point les conditions de séparations. Les méthodes de quantification employées pour ces études de spéciation du Gd par HILIC-ICPMS sont la plupart du temps des méthodes par étalonnage externe avec [32-36], sans [26, 29-31] étalon interne ou avec la méthode des ajouts dosés [25, 31]. Des taux de recouvrement de l'ordre de 95% ont été obtenus ainsi que des RSD sur les aires de pics de l'ordre de 5%.

II.4. Application de spéciation de Ln par couplage simultané HILIC-ESIMS/ICPMS

À notre connaissance, la spéciation exhaustive des lanthanides n'a jamais été déterminée par couplage simultané HILIC-ESIMS/ICPMS dans la littérature, à l'exception de notre récente publication décrivant sa mise en œuvre pour l'analyse de la série des 14 Ln en présence d'EDTA [37]. Le dimensionnement instrumental, basé sur de précédents travaux [7], a été réalisé en

laboratoire conventionnel, en respectant les distances imposées par les instruments installés en zone contrôlée et dédiés à l'analyse de radioéléments.

Il est à noter qu'un couplage simultané HILIC-ESIMS/ICPMS a été mis en œuvre pour l'analyse de spéciation de l'arsenic [38, 39]. Les espèces contenant de l'arsenic préalablement séparées ont été simultanément identifiées par ESIMS et quantifiées par ICPMS avec la méthode des ajouts dosés [38]. Un diviseur de flux commercial a été utilisé en aval de la séparation chromatographique, pour diriger 25% du flux vers l'ICPMS et 75% vers l'ESIMS simultanément. Malgré l'ajout d'oxygène et l'utilisation d'une torche de petit diamètre normalement utilisée pour des solvants organiques, une perte de sensibilité par un facteur 10 a été observée en ICPMS. Ce dimensionnement n'a pas nécessité d'adaptation particulière, contrairement à nos études où les contraintes géométriques imposées par la disposition des instruments en zone contrôlée ont dû être prises en compte.

III. Approches pour réduire les volumes d'effluents chromatographiques

Au cours de ces dernières années, la chimie analytique verte connaît un essor significatif, en adéquation avec le concept des 3R : réduire, remplacer, recycler [40], dans la perspective de réduire l'empreinte environnementale des nombreux secteurs industriels.

Les principes généraux de la chimie analytique verte sont déclinés ci-dessous [41] :

- Réduire la consommation de solvants et donc la production d'effluents
- Développer des méthodes analytiques sans prétraitement de l'échantillon
- Miniaturiser et réduire les échelles des méthodes analytiques
- Investir plus efficacement le temps et la consommation d'énergie en mettant en place des méthodologies à haut débit

L'objectif est donc de développer des méthodologies visant à minimiser la production de déchets, à remplacer les solvants toxiques par des alternatives plus vertes et à consommer moins d'énergie. Des approches chromatographiques, qualifiées d'éco-responsables, ont récemment été reportées dans la littérature afin de répondre à ces objectifs. Elles sont divisées en deux grandes catégories avec des modifications : (1) de la composition de la phase mobile (2) des phases stationnaires et de leurs conditions d'utilisation (Figure I- 13) [41].

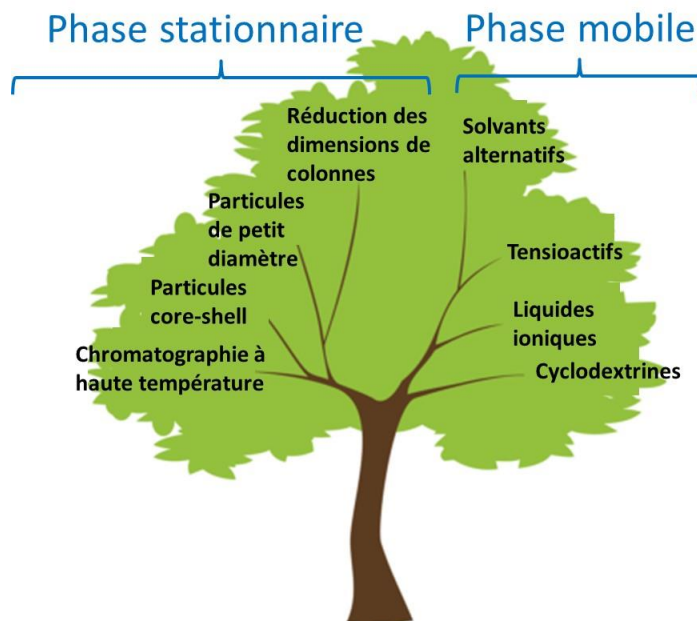


Figure I- 13 : Approches chromatographiques éco-responsables (Adapté de [41])

III.1. Composition de la phase mobile

Plusieurs stratégies existent pour modifier les compositions de phases mobiles afin de réduire leur toxicité et leur impact environnemental :

- Des additifs non toxiques biodégradables tels que des cyclodextrines, des tensioactifs ou des liquides ioniques peuvent être ajoutés dans la phase mobile, notamment en mode RPLC [41], pour augmenter la solubilité des analytes dans la phase mobile et diminuer les temps de rétention. Cependant, ces additifs sont peu compatibles avec une détection par spectrométrie de masse.
- L'utilisation de solvants alternatifs comme l'hexaméthylsiloxane ou un mélange 2-butanol/acétate d'éthyle permettent de remplacer le n-heptane en NPLC.
- L'acétonitrile peut être remplacé par l'éthanol ou le 2-propanol dans les phases mobiles en RPLC. Par contre, son remplacement est difficilement envisageable en HILIC puisque la polarité de la phase mobile est modifiée, ce qui a un impact conséquent sur les propriétés de rétention et de sélectivité.
- L'utilisation de CO₂ et de co-solvants comme le méthanol ou l'éthanol pour des séparations par chromatographie en phase supercritique [42] est envisageable. Cette technique nécessite néanmoins un appareillage spécifique.

III.2. Phases stationnaires et conditions de leur utilisation

Nous nous intéresserons dans ce travail aux approches permettant de réduire les volumes d'effluents générés en chromatographie liquide. Avec les phases stationnaires, il existe différentes approches pour réduire les volumes d'effluents :

- Réduction des dimensions de la colonne : diamètre interne (d_c) et longueur (L)

La réduction du diamètre interne de colonne a un impact significatif sur les volumes d'effluents générés par rapport à la diminution de la longueur. La diminution du d_c entraîne une réduction du débit de phase mobile nécessaire au maintien de la même vitesse de séparation (Eq. I-2) [40]:

$$D_2 = D_1 \left(\frac{d_2}{d_1} \right)^2 \quad (\text{Eq. I- 2})$$

Avec D_1 et d_1 : débit de phase mobile et le diamètre de colonne initiale, D_2 et d_2 : le débit de phase mobile et le diamètre de colonne de plus petit diamètre. À titre indicatif, une réduction du d_c de colonne de 4,6 à 3 mm et en conservant la longueur, permet de réduire les volumes d'effluents de 57% pour une séparation en mode isocratique [40].

À partir de quelques exemples issus de la littérature, les volumes d'effluents ont été calculés pour des colonnes de différentes dimensions (d_c) à partir du débit de phase mobile et du temps d'analyse (Tableau I- 3).

Tableau I- 3 : Exemples d'applications avec des colonnes de différent diamètre interne [40, 43, 44]

| Format de colonne | Dimensions de colonne | Débit | Temps d'analyse | Volumes d'effluents |
|-------------------|----------------------------------|-------------------------------------|-----------------|---------------------|
| Normal bore | 250×4,6 mm ; 5 μm | 1,2 mL.min ⁻¹ | 50 min | 60 mL |
| Minibore | 150×2,1 mm ; 3,5 μm | 0,31 mL.min ⁻¹ | 25 min | 7,5 mL |
| Microbore | 150×1,0 mm ; 3,5 μm | 20 μL .min ⁻¹ | 15 min | 0,3 mL |
| Capillaire | 150×0,3 mm ; 3,5 μm | 6 μL .min ⁻¹ | 6,5 min | 39 μL |
| NanoLC | 150×0,075 mm ; 3,5 μm | 300 nL.min ⁻¹ | 30 min | 9 μL |

Ce tableau met en évidence qu'une diminution du d_c de la colonne permet de réduire drastiquement les volumes d'effluents en passant d'une colonne de 4,6 mm de d_c avec des dizaines de millilitres à une colonne de 75 μm de d_c avec quelques microlitres.

Les colonnes capillaires et nanoLC sont particulièrement employées pour l'analyse d'échantillons disponibles en très faible volume.

- Particules de petit diamètre : inférieur à 2 μm

La diminution du diamètre des particules à un diamètre inférieur à 2 μm (sub-2- μm) permet d'améliorer l'efficacité. La réduction de la granulométrie des particules, en combinaison avec la réduction des dimensions de colonne, permet donc de réduire les volumes d'effluents générés tout en maintenant l'efficacité. À titre d'exemple, une analyse de 30 min avec une colonne de dimensions 250 \times 4,6 mm ; 5 μm en mode RPLC à un débit de 1,2 mL.min⁻¹ génère environ 12 fois plus de volumes d'effluents qu'une analyse de 4,2 min avec une colonne de dimensions 100 \times 2,1 mm ; 1,7 μm à un débit de 0,65 mL.min⁻¹ [40].

- Core-shell, ou particules superficiellement poreuses

Les colonnes remplies de particules superficiellement poreuses (SPP : Superficially porous Particles) sont plus efficaces si le système de chromatographie liquide à haute performance (HPLC : High Performance Liquid Chromatography) est optimisé, permettant ainsi d'obtenir des séparations plus rapides et donc d'obtenir un temps d'analyse plus faible et une diminution des volumes d'effluents. Par exemple, une colonne remplie de SPP de dimensions 150 \times 4,6 mm ; 5 μm génère pratiquement deux fois plus de volumes d'effluents qu'une colonne remplie de FPP de mêmes dimensions et diamètre des particules [45].

- Chromatographie liquide à haute température

L'augmentation de la température provoque une diminution de la viscosité de la phase mobile, permettant de travailler à des débits de phases mobiles plus élevés, et donc de diminuer les volumes d'effluents. En mode RPLC, le pouvoir éluant de l'eau augmente, rendant possible la réduction de la proportion du solvant organique dans la phase mobile. Cette méthode analytique nécessite en revanche une instrumentation permettant de chauffer la phase mobile et que les phases stationnaires et les solutés soient stables thermiquement.

Parmi les différentes approches décrites pour réduire les volumes d'effluents, la réduction des paramètres géométriques de colonnes remplies particules entièrement poreuses combinée à la diminution de la taille des particules à un diamètre sub-2- μm ainsi que l'utilisation de colonnes remplies de SPP ont été sélectionnées pour ce travail. Leur principe sera détaillé dans le chapitre II. Si ces deux technologies ont connu un net succès pour les applications en RPLC, leur utilisation pour le mode HILIC est plus restreinte. Cette partie recense les phases stationnaires polaires actuellement disponibles sur le marché pour le mode HILIC avec ces deux types de technologies.

III.2.1. Colonnes commerciales remplies de FPP sub-2- μ m pour le mode HILIC

Les colonnes commerciales remplies de FPP de diamètre sub-2- μ m dédiées au mode HILIC sont répertoriées dans le Tableau I- 4.

Tableau I- 4 : Colonnes commerciales remplies de FPP de diamètre sub-2- μ m dédiées au mode HILIC (Adapté de [46, 47]) ND : données non communiquées

| Fournisseur | Nom | Taille des pores (Å) | Diamètre interne de colonne (mm) | Diamètre des particules (μ m) | Support | Fonctionnalisation |
|----------------------|---------------|----------------------|----------------------------------|------------------------------------|---------|--|
| Agela Technologies | UHP | 100 | 2,1 - 4,6 | 1,9 | Silice | Diol et amide |
| Agilent technologies | Zorbax HILIC | 80 95 300 | 2,1 - 3,0 | 1,8 | Silice | SiO ₂ |
| Alltech | Alltima HP | 120 | 2,1 - 4,6 | 1,5 | Silice | SiO ₂ |
| ACT | ACE | 100 | 2,1 - 3,0 - 4,6 | 2,0 | Silice | SiO ₂ / Cyano |
| Bischoff | ProntoPEARL | NA | ND | 1,8 | Silice | Aminopropyl |
| Bonna Agela | UHP | 100 | 2,1 - 4,6 | 1,9 | Silice | ND |
| ES industries | Epic | 120 | 1,0 - 2,1 - 3,0 | 1,8 | Silice | Diol / SiO ₂ / amine aromatique/ groupement fluorés |
| Fortis Technologies | Fortis | ND | 2,1 - 3,0 - 4,6 | 1,7 | Silice | SiO ₂ / diol /cyano / aminopropyl |
| Knauer | BlueOrchid | 180 | 2,0 | 1,8 | Silice | Cyano /NH ₂ / SiO ₂ / PAL-HILIC |
| | Bluespher | 100 | 2,0 | 2,0 | NA | SiO ₂ /NH ₂ / Zwitterionique |
| Macherey-Nagel | Nucleodur | 110 | 2,1 - 3,0 - 4,0 - 4,6 | 1,8 | Silice | Zwitterionique |
| Orochem Technologies | Gazelle | 100 | ND | 1,7 | Silice | SiO ₂ / aminopropyl |
| Restek | Pinnacle Db | 140 | 2,1 | 1,9 | ND | SiO ₂ / PFP propyl / cyano |
| ThermoFisher | Hypersil Gold | 175 | 2,1 | 1,9 | Silice | SiO ₂ / cyano / aminopropyl Polyethyleneimine |
| | Synchronis | 100 | 2,1 - 3,0 | 1,7 | Silice | Aminopropyl / SiO ₂ / Zwitterionique |
| YMC Europe | YMC-Triart | 120 | 2,0 - 2,1 - 3,0 | 1,9 | Hybride | Diol |
| Waters | Acquity | 130 | 1,0 - 2,1 - 3,0 | 1,7 | Hybride | SiO ₂ / Amide / Glycan amide |

Ce tableau montre qu'il existe de nombreuses colonnes remplies de FPP de diamètre sub-2- μ m adaptées au mode HILIC. Les phases stationnaires sont fonctionnalisées par des groupements polaires, principalement diol, cyano, amide, amino, zwitterioniques, ou ne sont pas fonctionnalisées. Il est à noter que les colonnes à fonction amide sont proposées uniquement par deux sociétés : Waters et Agela Technologies. Par contre, seules les colonnes Waters ont un diamètre interne de 1,0 mm, rendant les possibilités de réduction d'échelle analytique encore limitées.

III.2.2. Colonnes commerciales remplies de SPP pour le mode HILIC

La majorité des colonnes remplies de SPP sont principalement dédiées au mode RPLC avec comme fonctionnalisation des chaînes alkyles C₁₈ et C₈ et une grande diversité de dimensions de colonnes et granulométrie [48]. Les colonnes commerciales remplies de SPP avec des groupements polaires adaptés au mode HILIC sont regroupées dans le Tableau I- 5.

Tableau I- 5 : Colonnes commerciales remplies de SPP pour le mode HILIC (Adapté de [48-50]). ND : données non communiquées

| Fournisseur | Nom | Taille des pores (Å) | Diamètre interne de colonne (mm) | Diamètre des particules (µm) | Fonctionnalisation |
|------------------------------|------------------|----------------------|----------------------------------|------------------------------|--|
| Advanced Material Technology | Halo | 90 | 2,1 - 4,6 | 2,0 - 2,7 | SiO ₂ / Pentahydroxy |
| Agilent Technologies | Poroshell | 120 | 2,1 - 3,0 - 4,6 | 2,7 | SiO ₂ / zwitterionique poly-hydroxyfructane |
| ChromaNik Technologies | Sunshell | 90 | 2,1 - 3,0 - 4,6 | 2,6 | Amide |
| Fortis Technologies | SpeedCore | ND | 2,1 - 3,0 - 4,6 | 2,6 | SiO ₂ |
| Glantreo | Eiroshell | ND | ND | 1,7 - 2,2 - 2,6 | SiO ₂ |
| Knauer | BlueShell | 80 | 2,1 | 2,6 | SiO ₂ |
| Macherey-Nagel | Nucleoshell | 90 | 2,1 - 3,0 - 4,0 - 4,6 | 2,7 | Zwitterionique |
| PerkinElmer | Brownlee | 80 | 2,1 - 3,0 - 4,6 | 2,7 | SiO ₂ |
| Phenomenex | Kinetex | 100 | 2,1 - 3,0 - 4,6 | 1,7 - 2,6 | SiO ₂ |
| Supelco | Ascentis Express | 90 | 2,1 - 3,0 - 4,6 | 2,0 - 2,7 | Silice / pentahydroxy / cyano / F5 |
| Thermo Scientific | Accucore | 150 | 0,075 - 2,1 - 3,0 - 4,6 | 2,6 | Amide |
| | | 80 | 2,1 - 3,0 - 4,6 | 2,6 | Urée/ SiO ₂ |
| Waters | Cortecs | 90 | 2,1 - 3,0 - 3,9 - 4,6 | 1,6 - 2,7 | SiO ₂ |

Ce tableau met en évidence que la moitié des phases stationnaires dédiées au mode HILIC ne sont pas fonctionnalisées. Les autres sont fonctionnalisées par des groupements polaires typiques du mode HILIC tels que l'urée, amide, zwitterionique, diol, cyano. Les fournisseurs ChromaNik Technologies et Thermo-Scientific sont les seuls à commercialiser des colonnes remplies de SPP fonctionnalisées par des groupements amide. Par contre, aucune n'existe avec un diamètre interne de 1 mm. Il est toutefois à noter qu'une colonne à fonction amide de format capillaire avec un diamètre interne de 75 µm est commerciale, mais nécessite l'utilisation d'une nano-pompe chromatographique couplée à une nano source ESIMS. Une étude à part entière dédiée à ce couplage spécifique sera menée dans de futurs travaux.

IV. L'ESIMS, un outil pour l'analyse de spéciation

Si l'ESIMS est très largement utilisée pour l'analyse de composés organiques, notamment pour le domaine de la protéomique et métabolomique, son utilisation pour l'analyse de spéciation est beaucoup moins étendue. Pourtant son processus d'ionisation doux permet de conserver l'intégrité des espèces et donc d'étudier les interactions métal-ligand. Lors d'une approche non ciblée, l'observation dans un même spectre de masse, du complexe métal-ligand, du métal non complexé aussi bien que du ligand libre, offre la possibilité d'utiliser cette technique pour l'analyse de spéciation. Ainsi, divers aspects de l'analyse de spéciation peuvent être explorés avec l'ESIMS, comme la caractérisation structurale, la détermination de constantes thermodynamiques, la quantification ou encore la caractérisation isotopique, et sont illustrés ci-dessous par les exemples pertinents. La grande majorité de ces études sont fondamentales et ont été menées sur un signal stationnaire, obtenu par introduction directe des échantillons dans les instruments.

IV.1. Caractérisation structurale

Lorsque le métal possède plusieurs isotopes, son massif isotopique caractéristique permet d'identifier les complexes dans lesquels il est engagé en spectrométrie de masse simple. La spectrométrie de masse en tandem permet la caractérisation structurale plus précise des complexes en les fragmentant. La connaissance des voies de fragmentation permet d'identifier le nombre et le type d'atomes donneurs, la stœchiométrie des complexes et parfois l'état d'oxydation du métal.

La caractérisation structurale de complexes de Ln ou d'uranium a été réalisée dans la littérature par dissociation induite par collision (CID : Collision Induced Dissociation) c'est-à-dire par activation des espèces, puis dissociation suite à des collisions avec un gaz inerte [51-53]. Les expériences ont permis de déterminer notamment le nombre de coordination du centre métallique, la nature des ligands associés et la stœchiométrie des espèces. Par exemple, les expériences en mode CID avec des complexes du type acétone-uranyle ont permis d'obtenir le produit $[\text{UO}_2]^{+\circ}$ en MS^5 avec un spectromètre de masse équipée d'une trappe ionique linéaire [51]. La fragmentation des complexes Ln-DOTA [53] a donné lieu à des pertes non spécifiques comme des pertes de CO_2 , mais aussi des pertes spécifiques comme des chaînes alkyles. Ces différentes études démontrent que les fragmentations successives peuvent donner lieu, dans certaines conditions, à l'obtention du cation métallique libre, ce qui ouvre la voie à la possibilité de réaliser des études moléculaires et élémentaires par ESIMS en une seule analyse. Ce type

d'approche est récemment décrite dans la littérature pour identifier les espèces métalliques d'intérêt, en particulier dans les milieux biologiques [54, 55]. Elle consiste à fragmenter les espèces métalliques par dissociation induite par collision à plus haute énergie (HCD : Higher energy Collisional Dissociation), avec des énergies de collision supérieures à celles appliquées en mode CID classique, afin d'obtenir le métal libre (Figure I- 14).

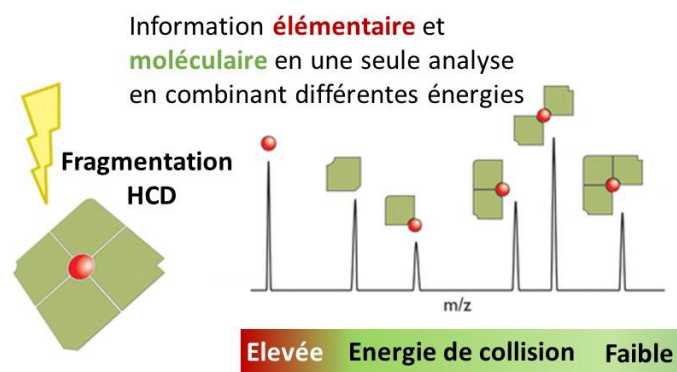


Figure I- 14 : Représentation schématique du spectre de masse obtenu en fonction de l'énergie de collision normalisée appliquée : avec en rouge le métal et en vert le ligand (Adaptée de [54])

En appliquant cette approche avec un ESIMS couplé à deux analyseurs trappe ionique linéaire et un orbitrap, des éléments libres ou avec le minimum de contributions isotopiques du ligand ont été observés, tels que Pt^+ , Eu^+ , Yb^+ et LnO^+ [54, 55] ou $[Ln(HO)_2]^+$ à partir des complexes Ln-DOTA [53]. Ces différentes études démontrent que le mode de fragmentation HCD permet d'obtenir l'élément d'intérêt avec le minimum de contributions isotopiques, ce qui peut s'avérer particulièrement intéressant pour la caractérisation structurale, élémentaire et également la mesure de compositions isotopiques en ESIMS.

IV.2. Détermination des constantes de stabilités

La détermination des constantes de stabilité des complexes métal-ligand par ESIMS a été démontrée avec des sels alcalins et des éthers-couronne [56]. La détermination de constantes thermodynamiques de complexes est d'importance pour établir des diagrammes de spéciation théoriques, qui permettent de prédire le comportement d'un élément dans un milieu donné. Dans le cadre des recherches sur le traitement de combustibles usés, le potentiel de l'ESIMS a été démontré pour la détermination de constantes de stabilité de Ln avec des ligands d'intérêt pour les procédés d'extraction liquide-liquide [57-62]. Cette technique permettant d'observer à la fois le ligand ou le métal libre et complexé, les constantes de formation thermodynamiques des complexes Ln-ligands, ont été déterminées pour prédire la spéciation des radioéléments dans les phases des procédés de traitements et pour sélectionner des molécules extractantes efficaces

et sélectives. Sur le même principe, les constantes d'hydrolyse du thorium ont été établies [61] ainsi que celles de complexes de Ln contenant des ions sulfates [63]. Dans le domaine de la toxicologie nucléaire, l'interaction entre l'uranium (VI) et l'acide 1-hydroxyethane 1,1-diphosphonique (HEDP : 1-HydroxyEthane 1,1-DiPhosphonic acid), acide phosphonique considéré comme décorporant potentiel, a été étudiée [64]. Des expériences en mode MS et tandem ont permis d'identifier les complexes présents dans des échantillons à différentes valeurs de pH, de confirmer leur stœchiométrie et de déterminer les constantes thermodynamiques du complexe UO_2^{2+} -HEDP. Dans tous les cas, les résultats ont été croisés avec ceux obtenus par d'autres techniques, en particulier la Spectrofluorimétrie Laser à Résolution Temporelle (SLRT). D'autres études ont été réalisées pour déterminer par ESIMS les constantes de stabilité des complexes de type métal-EDTA et métal-4-C₁₂-DTPA avec des cations métalliques Cu^{2+} , Ni^{2+} , Zn^{2+} et Co^{2+} [65, 66].

IV.3. Méthodes de quantification d'éléments et d'espèces

Des méthodes de quantification d'éléments ont été développées pour quantifier des métaux, notamment le césium ou le cobalt par ESIMS [67], basées sur la mesure de rapports isotopiques de différents éléments. Des méthodes de quantification telles que la méthode par étalonnage externe, étalonnage interne, ou ajout dosés permettraient de déterminer la concentration des complexes métalliques, mais dans la suite de ce paragraphe, nous nous focaliserons sur les approches basées sur la dilution isotopique qui permettent cependant d'envisager une forte amélioration des justesses et des précisions lors de la quantification des complexes métalliques [68].

Le principe de la dilution isotopique consiste à introduire dans l'échantillon, une quantité connue de traceur ou dans le cas des études de spéciation, d'une espèce marquée contenant le même élément chimique que l'élément à quantifier, mais de composition isotopique différente [69]. Le traceur, ou l'espèce marquée, est enrichi en un isotope d'un élément, qui sera de préférence faiblement abondant dans l'échantillon. Après homogénéisation, le rapport de mélange entre l'isotope de l'élément dans le traceur et l'isotope de référence de l'élément initialement présent l'échantillon, est mesuré et permet de déterminer la concentration de l'analyte. L'avantage de cette méthode de quantification est qu'elle est uniquement basée sur la mesure de rapports d'intensités, contrairement aux méthodes classiques qui font appel à la réponse instrumentale, soit la sensibilité. Ainsi, après homogénéisation du mélange échantillon traceur, les pertes liées aux rendements de séparation ou aux dérives instrumentales n'ont que

très peu d'impact sur la mesure de la concentration de l'élément dans le mélange [70]. Cependant, cette méthode de quantification implique l'absence d'interférences spectrales aux rapports m/z d'intérêt.

Dans le cas des études de spéciation, deux modes de traçage peuvent être utilisés :

- Le traçage **spécifique** : consiste à ajouter une quantité connue de l'espèce d'intérêt marquée isotopiquement dans l'échantillon contenant la même espèce de concentration inconnue. La dilution isotopique spécifique présente de nombreux avantages : elle permet de déterminer la quantité exacte de l'espèce à quantifier sans établir une droite d'étalonnage et permet également de s'affranchir des éventuelles pertes d'échantillons après homogénéisation du mélange [71]. Néanmoins, pour quantifier plusieurs espèces chimiques présentes dans un mélange, il est nécessaire de connaître au préalable la nature des espèces à quantifier et de disposer ou de synthétiser un traceur spécifique pour chacune d'entre elles.
- Le traçage **non spécifique** consiste à ajouter le traceur, la plupart du temps un isotope enrichi de l'élément d'intérêt, en continu en aval de la séparation chromatographique des espèces. Ce mode de traçage est utilisé lorsque les espèces marquées ne sont pas connues ou pas disponibles commercialement. Cependant, le mélange échantillon-traceur étant effectué après la séparation chromatographique, toute perte d'échantillon en amont du mélange ne pourra être corrigée [70].

La dilution isotopique est la technique de référence pour les caractérisations élémentaires « inorganiques » en spectrométrie de masse à thermo ionisation (TIMS : Thermal Ionisation Mass Spectrometry), ICPMS et LC-ICPMS. Les méthodes de quantification des complexes de Ln par dilution isotopique par ICPMS, en mode couplage ou non, sont un peu moins nombreuses [72-74]. À titre d'exemple, deux études par dilution isotopique ont été réalisées par ICPMS-quadrupolaire pour quantifier des agents de contraste à base de gadolinium [31, 75]. Pour une de ces deux études, la dilution isotopique spécifique a été mise en œuvre en introduction directe par ICPMS en complément du couplage HILIC-ICPMS [31]. La RSD des mesures a été estimée à 1,9%. Dans la seconde étude, les performances des méthodes de dilution isotopique spécifique et non spécifique ont été comparées en couplage par chromatographie d'exclusion stérique couplée à l'ICPMS, pour différents échantillons contenant des agents de contraste à base de gadolinium [75]. Les auteurs ont observé que les résultats étaient dégradés avec la méthode de la dilution isotopique spécifique en raison des problèmes d'interconversions des espèces. En effet, dans un mélange, des changements de répartition d'espèces peuvent avoir

lieu lors d'ajout d'espèce spécifique. Les auteurs ont trouvé que la méthode de la dilution isotopique non spécifique permettait donc d'obtenir de meilleures performances.

La dilution isotopique est également employée en contexte « organique » pour déterminer la concentration de composés organiques dans un échantillon. La disponibilité de composés marqués au ^{13}C ou deutérés a permis de réaliser expériences par dilution isotopique pour des composés organiques ou biochimiques et le nombre d'applications a considérablement augmenté [70-71]. Le besoin de résultats justes et précis pour la caractérisation des médicaments et des bio-composés, particulièrement en chimie clinique, ont contraint à l'utilisation de la méthode de quantification par dilution isotopique [70].

Cette méthode de quantification est également employée dans le domaine de la spéciation, par exemple pour quantifier par couplage LC-ICPMS des adduits Pt-ADN dans des cellules pulmonaires exposées au carboplatine et le chrome complexé à l'EDTA dans des échantillons de sols [76, 77] ou pour quantifier des espèces de chrome (VI) à l'état de traces dans des eaux par CI-ESI-MS/MS [78]. Des espèces de Ln sont également utilisés à présent pour marquer des protéines et les quantifier plus précisément en ICPMS [79]

Dans le contexte de ce travail, les méthodes de quantification par dilution isotopique n'ont à notre connaissance jamais été mises en œuvre en HILIC-ESIMS, en HILIC-ICPMS, ou en couplage simultané HILIC-ESIMS/ICPMS pour l'analyse de spéciation des Ln. Les développements associés seront présentés dans le chapitre V.

IV.4. Mesures isotopiques

A notre connaissance, il n'existe que très peu d'études dans la littérature dans lesquelles la composition isotopique d'un élément a été déterminée par ESIMS. De plus, la mesure de compositions isotopiques d'éléments n'a jamais été réalisée par couplage HILIC-ESIMS, et de manière générale en LC-ESIMS.

Agnès et Horlick ont démontré les potentialités de l'ESIMS pour l'analyse de spéciation élémentaire de métaux [67, 80, 81]. Leurs premières études étaient focalisées sur la potentialité d'obtenir le cation métallique en ESIMS et ont ensuite été étendues pour des études de quantification d'éléments. Les expériences ont été réalisées avec un prototype, à savoir un ICPMS modifié dont la source a été remplacée par une source ESIMS. Les études suivantes [82, 83], ont permis de démontrer que le même instrument offrait la possibilité de mesurer des rapports isotopiques d'éléments (Pb, Ag et B).

Dans ces différentes études, les mesures ont été réalisées avec des sels inorganiques, notamment avec des nitrates, des chlorures ou des acétates. Les ions métalliques ont été observés en mode d'ionisation positif sous forme M^{n+} et sous forme ML_n^- en mode d'ionisation négatif. Ketterer et al. ont mesuré les rapports isotopiques du plomb, du thallium et de l'argent avec une RSD inférieure à 1% pour ces trois éléments [82]. Moreas et al. ont mesuré le rapport d'abondance du $^{10}BF_4^-/^{11}BF_4^-$ à partir des spectres de masse du $NaBF_4$ [83]. Ils ont déterminé le rapport isotopique $^{10}B/^{11}B$ en corrigeant le rapport d'abondance mesuré par l'analyse d'un échantillon certifié NIST. Une RSD de 0,4 %, comparable à la méthode de référence, TIMS, a été obtenue, après l'optimisation du temps d'intégration du rapport $^{10}B/^{11}B$ pour lequel l'abondance du ^{10}B est plus faible (19,9%).

Plus récemment, un nouveau prototype a été conçu pour l'analyse isotopique de l'uranium dans des composés inorganiques de nitrate d'uranyle à partir d'un spectromètre de masse LTQ-XL, avec une trappe ionique linéaire. La source ESIMS a été remplacée par une source d'ionisation électrospray extractive (EESIMS) adaptée pour l'analyse d'échantillons contenant une matrice complexe, notamment inorganique. Les auteurs ont adopté une autre approche, visant à fragmenter le complexe de nitrate d'uranyle en mode CID [84]. À chaque étape de fragmentation (MS^2 , MS^3 et MS^4), le rapport d'abondance des ions produits obtenus contenant les isotopes ^{235}U et ^{238}U a été mesuré et comparé au rapport isotopique théorique $^{235}U/^{238}U$. Ces étapes de fragmentation permettent d'obtenir un produit comportant de l'uranium avec le minimum de contributions provenant des isotopes de l'oxygène et de l'azote. Lorsque le nombre d'étapes MS^n augmente, la justesse entre le rapport du produit observé et le rapport théorique $^{235}U/^{238}U$ diminue, en raison de la diminution des contributions isotopiques de N et O. Le mode de fragmentation MS^4 a été sélectionné dans cette étude et a permis d'obtenir des justesses du rapport d'abondance $^{235}UO_7N_1H_2/^{238}UO_7N_1H_2$ et des RSD respectivement inférieures à 2% et à 6%.

Toutes les études présentées ci-dessus permettent d'obtenir la composition isotopique d'élément par « ESIMS », avec des RSD de l'ordre de quelques %. On peut noter que ces mesures ont toutes été réalisées avec des prototypes et très souvent des composés inorganiques tels que le nitrate d'argent, le tétrafluoroborate de sodium, nitrate d'uranyle, etc. Dans ce travail de thèse, les ESIMS employés sont des instruments commerciaux, de basse résolution. Leurs performances pour la mesure de compositions isotopiques des Ln dans les complexes Ln-acides polyaminocarboxyliques seront évaluées dans le Chapitre IV. Les rapports isotopiques des Ln seront déterminés à partir des spectres de masse des complexes d'EDTA ou DTPA, enregistrés

par ESIMS en mode d'ionisation négatif. Dans ce cas, la difficulté réside dans les contributions isotopiques importantes des éléments H, C, N et O des ligands, avec au minimum 10 atomes de carbone (C), 8 atomes d'oxygène (O) et 2 atomes d'azote (N).

Pour obtenir la composition isotopique du Ln lorsque celui-ci est complexé à un acide polyaminocarboxylique, deux approches peuvent être entreprises : 1) À l'instar des travaux de Liu *et al.*, fragmenter le complexe pour obtenir un produit avec le minimum de contributions isotopiques des éléments H, C, N et O [84] et comparer les rapports d'abondances obtenus aux rapports isotopiques théoriques de l'élément. 2) Déconvoluer les spectres de masse des complexes acquis en mode MS afin de s'affranchir des contributions isotopiques des éléments H, C, N et O issus des ligands et ainsi obtenir la composition isotopique du Ln. Cette deuxième approche nécessite le développement d'une méthode de déconvolution dédiée, basée sur des approches mathématiques de la littérature brièvement rappelées ci-dessous.

Les spectres de masse obtenus par ESIMS correspondent au massif isotopique de l'espèce ionisée, résultant de la combinaison des compositions isotopiques des éléments individuels la composant, en respectant la stœchiométrie de l'espèce [85]. Le principe d'obtention du massif isotopique d'une espèce, est décrit de façon simplifiée en Figure I- 15 à partir d'une molécule composée de trois atomes, PbCl_2 [86].

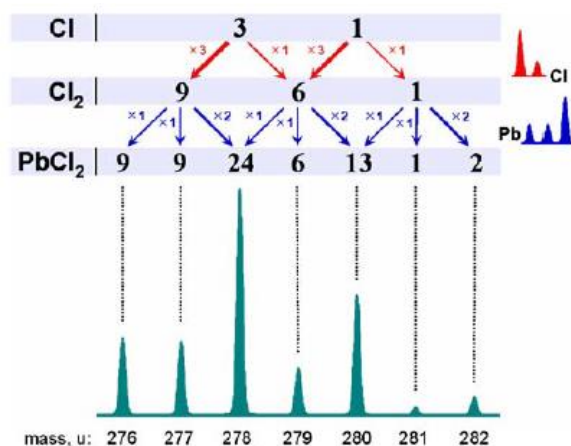


Figure I- 15 : Profil isotopique du PbCl_2 résultant de la combinaison des profils isotopiques des éléments la constituant : abondances du ^{35}Cl de 75,8%, du ^{37}Cl de 24,2%, du ^{204}Pb de 1,4%, ^{206}Pb de 24,1%, ^{207}Pb de 22,1% et ^{208}Pb de 52,4% [86]

Dans cet exemple, le massif isotopique initial considéré est celui du chlore, avec un rapport d'abondance isotopique naturel : $^{35}\text{Cl} : ^{37}\text{Cl} 3 : 1$. À cet élément, un deuxième chlore est ajouté avec la même abondance isotopique. Les abondances des différentes permutations sont calculées en multipliant les abondances des isotopes considérés, permettant de constituer le massif isotopique du Cl_2 de proportions 9 : 6 : 1 pour les rapports m/z 70, 72 et 74. Les contributions des isotopes du Pb sont ensuite prises en compte, en effectuant de la même façon,

le produit des abondances constituant le massif isotopique du Cl_2 par les abondances des isotopes du plomb $^{206}\text{Pb} : ^{207}\text{Pb} : ^{208}\text{Pb} \ 1 : 1 : 2$. Le massif isotopique de l'espèce PbCl_2 est ainsi aisément établi en raison du faible nombre de permutations possibles, 3 permutations par isotope du Pb. Pour les complexes métalliques contenant un ou plusieurs ligands organiques, il sera nécessaire de prendre en compte les différentes permutations possibles des isotopes des éléments H, C, N et O pour chaque isotope du métal. Pour les complexes Ln-EDTA et Ln-DTPA, plus de 100 permutations par isotope de Ln devront être considérées. Comme détaillé dans le chapitre IV, les massifs isotopiques des complexes Ln-acides polyaminocarboxyliques seront calculés à partir des compositions isotopiques des éléments suivant une approche par développement polynomial, méthode permettant de convoluer les spectres de masse [85, 87]. De nombreuses méthodes alternatives basées sur différentes approches mathématiques ont été développées dans la littérature [88-92]. À partir de ces méthodes, de nombreux algorithmes et logiciels ont été mis au point pour la détermination des massifs isotopiques expérimentaux observés en ESIMS [89, 93].

Dans ce travail, l'approche polynomiale [87], facilement applicable sous EXCEL a été sélectionnée dans un premier temps pour les calculs de convolution afin de déterminer les massifs isotopiques des complexes étudiés, et ce, en considérant des compositions isotopiques des éléments H, C, N et O naturelles. Cette approche sera détaillée dans le chapitre IV. Sur cette base, une méthode novatrice de déconvolution a été développée, afin d'être en mesure de déterminer l'isotopie du lanthanide libre, d'isotopie naturelle ou non naturelle dans le cas des échantillons nucléaires, et ce, directement à partir des mesures réalisées sur les massifs isotopiques des complexes obtenus en ESIMS.

Références :

- [1] Cotton S., *Lanthanide and actinide chemistry*: John Wiley & Sons, 2007.
- [2] Seaborg G. T., "Overview of the actinide and lanthanide (the f) elements," *Radiochimica acta*, 61, (1993), 115-122.
- [3] Choppin G. R., Rizkalla E. N., "Solution chemistry of actinides and lanthanides," *Handbook on the physics and chemistry of rare earths*, 18, (1994), 559-590.
- [4] Rizkalla E. N., Choppin G. R., "Lanthanides and actinides hydration and hydrolysis," *Handbook on the physics and chemistry of rare earths*, 18, (1994), 529-558.
- [5] Pearson R. G., "Hard and soft acids and bases, HSAB, part 1: Fundamental principles," *J. Chem. Educ.*, 45, (1968), 581-587.
- [6] Smith R., Martell A., Motekaitis R., "NIST standard reference database 46," *NIST Critically Selected Stability Constants of Metal Complexes Database Ver, 2*, (2004).
- [7] Beuvier L., "Développement d'une méthode de séparation chromatographique couplée aux spectrométries de masse à source d'ionisation électrospray (ESI-MS) et à source plasma à couplage inductif (ICP-MS): application à l'analyse de spéciation des lanthanides," Université Pierre et Marie Curie-Paris VI, (2015), 1-243.
- [8] Anderegg G., Arnaud-Neu F., Delgado R., Felcman J., Popov K., "Critical evaluation of stability constants of metal complexes of complexones for biomedical and environmental applications (IUPAC Technical Report)," *Pure and applied chemistry*, 77, (2005), 1445-1495.
- [9] Alpert A. J., "Hydrophilic-interaction chromatography for the separation of peptides, nucleic acids and other polar compounds," *J. Chromatogr. A*, 499, (1990), 177-196.
- [10] Buszewski B., Noga S., "Hydrophilic interaction liquid chromatography (HILIC)-a powerful separation technique," *Anal. Bioanal Chem.*, 402, (2012), 231-247.
- [11] Hendrickx S., Adams E., Cabooter D., "Recent advances in the application of hydrophilic interaction chromatography for the analysis of biological matrices," *Bioanalysis*, 7, (2015), 2927-2945.
- [12] Marrubini G., Appelblad P., Maietta M., Papetti A., "Hydrophilic interaction chromatography in food matrices analysis: An updated review," *Food Chem.*, 257, (2018), 53-66.
- [13] Zhang Q., Yang F. Q., Ge L., Hu Y. J., Xia Z. N., "Recent applications of hydrophilic interaction liquid chromatography in pharmaceutical analysis," *Journal of separation science*, 40, (2017), 49-80.
- [14] Salas D., Borrull F., Fontanals N., Marcé R. M., "Hydrophilic interaction liquid chromatography coupled to mass spectrometry-based detection to determine emerging organic contaminants in environmental samples," *TrAC, Trends Anal. Chem.*, 94, (2017), 141-149.
- [15] Jandera P., "Stationary and mobile phases in hydrophilic interaction chromatography: a review," *Anal. Chim. Acta.*, 692, (2011), 1-25.
- [16] Guo Y., "Recent progress in the fundamental understanding of hydrophilic interaction chromatography (HILIC)," *Analyst*, 140, (2015), 6452-6466.
- [17] Jandera P., Janás P., "Recent advances in stationary phases and understanding of retention in hydrophilic interaction chromatography. A review," *Anal. Chim. Acta.*, 967, (2017), 12-32.
- [18] McCalley D. V., "Understanding and manipulating the separation in hydrophilic interaction liquid chromatography-a review," *J. Chromatogr. A*, 1523, (2017), 49-71.

- [19] Nguyen H. P., Schug K. A., "The advantages of ESI-MS detection in conjunction with HILIC mode separations: Fundamentals and applications," *J. Chromatogr. Sci.*, 31, (2008), 1465-1480.
- [20] Leclercq A., Nonell A., Todoli Torro J. L., Bresson C., Vio L., Vercouter T., *et al.*, "Introduction of organic/hydro-organic matrices in inductively coupled plasma optical emission spectrometry and mass spectrometry: a tutorial review. Part I. Theoretical considerations," *Anal. Chim. Acta.*, 885, (2015), 33-56.
- [21] Leclercq A., Nonell A., Torró J. L. T., Bresson C., Vio L., Vercouter T., *et al.*, "Introduction of organic/hydro-organic matrices in inductively coupled plasma optical emission spectrometry and mass spectrometry: A tutorial review. Part II. Practical considerations," *Anal. Chim. Acta.*, 885, (2015), 57-91.
- [22] Koster J., Shi R., von Wiren N., Weber G., "Evaluation of different column types for the hydrophilic interaction chromatographic separation of iron-citrate and copper-histidine species from plants," *J. Chromatogr. A*, 1218, (2011), 4934-4943.
- [23] Clases D., Sperling M., Karst U., "Analysis of metal-based contrast agents in medicine and the environment," *TrAC, Trends Anal. Chem.*, 104, (2018), 135-147.
- [24] Telgmann L., Sperling M., Karst U., "Determination of gadolinium-based MRI contrast agents in biological and environmental samples: a review," *Anal. Chim. Acta.*, 764, (2013), 1-16.
- [25] Künemeyer J., Terborg L., Nowak S., Scheffer A., Telgmann L., Tokmak F., *et al.*, "Speciation analysis of gadolinium-based MRI contrast agents in blood plasma by hydrophilic interaction chromatography/electrospray mass spectrometry," *Anal. Chem.*, 80, (2008), 8163-8170.
- [26] Telgmann L., Wehe C. A., Künemeyer J., Bulter A. C., Sperling M., Karst U., "Speciation of Gd-based MRI contrast agents and potential products of transmetalation with iron ions or parenteral iron supplements," *Anal. Bioanal Chem.*, 404, (2012), 2133-2141.
- [27] Rogowska J., Olkowska E., Ratajczyk W., Wolska L., "Gadolinium as a new emerging contaminant of aquatic environments," *Environ. Toxicol. Chem.*, 37, (2018), 1523-1534.
- [28] Sperling M., Karst U., "Advances in speciation techniques and methodology," *TrAC, Trends Anal. Chem.*, (2018), 1-3.
- [29] Kesava Raju C. S., Cossmer A., Scharf H., Panne U., Lück D., "Speciation of gadolinium based MRI contrast agents in environmental water samples using hydrophilic interaction chromatography hyphenated with inductively coupled plasma mass spectrometry," *J. Anal. At. Spectrom.*, 25, (2010), 55-61.
- [30] Birka M., Wehe C. A., Telgmann L., Sperling M., Karst U., "Sensitive quantification of gadolinium-based magnetic resonance imaging contrast agents in surface waters using hydrophilic interaction liquid chromatography and inductively coupled plasma sector field mass spectrometry," *J. Chromatogr. A*, 1308, (2013), 125-131.
- [31] Telgmann L., Wehe C. A., Birka M., Künemeyer J., Nowak S., Sperling M., *et al.*, "Speciation and isotope dilution analysis of gadolinium-based contrast agents in wastewater," *Environ Sci Technol*, 46, (2012), 11929-11936.
- [32] Künemeyer J., Terborg L., Meermann B. r., Brauckmann C., Möller I., Scheffer A., *et al.*, "Speciation analysis of gadolinium chelates in hospital effluents and wastewater treatment plant sewage by a novel HILIC/ICP-MS method," *Environ Sci Technol*, 43, (2009), 2884-2890.
- [33] Lindner U., Lingott J., Richter S., Jakubowski N., Panne U., "Speciation of gadolinium in surface water samples and plants by hydrophilic interaction chromatography hyphenated with inductively coupled plasma mass spectrometry," *Anal. Bioanal Chem.*, 405, (2013), 1865-1873.

- [34] Lindner U., Lingott J., Richter S., Jiang W., Jakubowski N., Panne U., "Analysis of gadolinium-based contrast agents in tap water with a new hydrophilic interaction chromatography (ZIC-cHILIC) hyphenated with inductively coupled plasma mass spectrometry," *Anal. Bioanal Chem.*, 407, (2015), 2415-2422.
- [35] Birka M., Wentker K. S., Lusmüller E., Arheilger B., Wehe C. A., Sperling M., *et al.*, "Diagnosis of nephrogenic systemic fibrosis by means of elemental bioimaging and speciation analysis," *Anal. Chim. Acta.*, 87, (2015), 3321-3328.
- [36] Birka M., Wehe C. A., Hachmoller O., Sperling M., Karst, U., "Tracing gadolinium-based contrast agents from surface water to drinking water by means of speciation analysis," *J. Chromatogr. A*, 1440, (2016), 105-111.
- [37] Blanchard E., Nonell A., Chartier F., Rincel A., Bresson C., "Evaluation of superficially and fully porous particles for HILIC separation of lanthanide-polyaminocarboxylic species and simultaneous coupling to ESIMS and ICPMS," *RSC Adv.*, 8, (2018), 24760–24772.
- [38] Xie D., Mattusch J., Wennrich R., "Separation of Organoarsenicals by Means of Zwitterionic Hydrophilic Interaction Chromatography (ZIC-HILIC) and Parallel ICP-MS/ESI-MS Detection," *Engineering in Life Sciences*, 8, (2008), 582-588.
- [39] Xie D., Mattusch J., Wennrich R., "Retention of arsenic species on zwitterionic stationary phase in hydrophilic interaction chromatography," *J Sep Sci*, 33, (2010), 817-825.
- [40] Welch C. J., Wu N., Biba M., Hartman R., Brkovic T., Gong X., *et al.*, "Greening analytical chromatography," *TrAC, Trends Anal. Chem.*, 29, (2010), 667-680.
- [41] Olives A. I., González-Ruiz V., Martín M. A., "Sustainable and eco-friendly alternatives for liquid chromatographic analysis," *ACS Sustainable Chem. Eng.*, 5, (2017), 5618-5634.
- [42] Lesellier E., West C., "The many faces of packed column supercritical fluid chromatography – A critical review," *J. Chromatogr. A*, 1382, (2015), 2-46.
- [43] Liu H. C., Liu R. H., Ho H. O., Lin D. L., "Development of an information-rich LC-MS/MS database for the analysis of drugs in postmortem specimens," *Analytical chemistry*, 81, (2009), 9002-9011.
- [44] Kubwabo C., Vais N., Benoit F. M., "A pilot study on the determination of perfluorooctanesulfonate and other perfluorinated compounds in blood of Canadians," *Journal of Environmental Monitoring*, 6, (2004), 540-545.
- [45] Destefano J. J., Schuster S. A., Lawhorn J. M., Kirkland J. J., "Performance characteristics of new superficially porous particles," *J Chromatogr A*, 1258, (2012), 76-83.
- [46] Nováková L., Havlíková L., Vlčková H., "Hydrophilic interaction chromatography of polar and ionizable compounds by UHPLC," *TrAC, Trends Anal. Chem.*, 63, (2014), 55-64.
- [47] Periat A., Debrus B., Rudaz S., Guillaume D., "Screening of the most relevant parameters for method development in ultra-high performance hydrophilic interaction chromatography," *J. Chromatogr. A*, 1282, (2013), 72-83.
- [48] Borges E. M., Rostagno M. A., Meireles M. A. A., "Sub-2 µm fully porous and partially porous (core-shell) stationary phases for reversed phase liquid chromatography," *RSC Adv.*, 4, (2014), 22875-22887.
- [49] González-Ruiz V., Olives A. I., Martín M. A., "Core-shell particles lead the way to renewing high-performance liquid chromatography," *TrAC, Trends Anal. Chem.*, 64, (2015), 17-28.
- [50] Bell D. S., Majors R. E., "Retention and Selectivity of Stationary Phases Used in HILIC," *LC GC*, 28, (2015), 102-109.

- [51] Van Stipdonk M. J., O'Malley C., Plaviak A., Martin D., Pestok J., Mihm P. A., *et al.*, "Dissociation of gas-phase, doubly-charged uranyl-acetone complexes by collisional activation and infrared photodissociation," *Int. J. Mass spectrom.*, 396, (2016), 22-34.
- [52] Tsierkezos N. G., Roithova J., Schroder D., Oncak M., Slavicek P., "Can electrospray mass spectrometry quantitatively probe speciation? Hydrolysis of uranyl nitrate studied by gas-phase methods," *Inorg. Chem.*, 48, (2009), 6287-6296.
- [53] Beck S., Trog S., Knizia S., Linscheid M. W., "Fragmentation behavior of DOTA complexes under different activation conditions," *J Mass Spectrom*, 52, (2017), 442-451.
- [54] Esteban-Fernandez D., El-Khatib A. H., Moraleja I., Gomez-Gomez M. M., Linscheid M. W., "Bridging the gap between molecular and elemental mass spectrometry: higher energy collisional dissociation (HCD) revealing elemental information," *Anal. Chem.*, 87, (2015), 1613-1621.
- [55] Tsednee M., Huang Y. C., Chen Y. R., Yeh K. C., "Identification of metal species by ESI-MS/MS through release of free metals from the corresponding metal-ligand complexes," *Sci Rep*, 6, (2016), 1-13.
- [56] Young D. S., Hung H. Y., Liu L. K., "An easy and rapid method for determination of stability constants by electrospray ionization mass spectrometry," *Rapid Commun Mass Spectrom*, 11, (1997), 769-773.
- [57] Moulin C., Amekraz B., Colette S., Doizi D., Jacopin C., Lamouroux C., *et al.*, "Electrospray mass spectrometry for actinides and lanthanide speciation," *J. Alloys Compd.*, 408-412, (2006), 1242-1245.
- [58] Lamouroux C., Rateau S., Moulin C., "Use of electrospray ionization mass spectrometry for the study of Ln(III) complexation and extraction speciation with calixarene-CMPO in the fuel partitioning concept," *Rapid Commun Mass Spectrom*, 20, (2006), 2041-2052.
- [59] Colette S., Amekraz B., Madic C., Berthon L., Cote G., Moulin C., "Trivalent lanthanide interactions with a terdentate bis (dialkyltriazinyl) pyridine ligand studied by electrospray ionization mass spectrometry," *Inorg. Chem.*, 42, (2003), 2215-2226.
- [60] Moulin C., Amekraz B., Steiner V., Plancque G., Ansoborlo E., "Speciation studies on DTPA using the complementary nature of electrospray ionization mass spectrometry and time-resolved laser-induced fluorescence," *Appl. Spectrosc.*, 57, (2003), 1151-1161.
- [61] Moulin C., Amekraz B., Hubert S., Moulin V., "Study of thorium hydrolysis species by electrospray-ionization mass spectrometry," *Anal. Chim. Acta.*, 441, (2001), 269-279.
- [62] Colette S., Amekraz B., Madic C., Berthon L., Cote G., Moulin C., "Use of electrospray mass spectrometry (ESI-MS) for the study of europium (III) complexation with bis (dialkyltriazinyl) pyridines and its implications in the design of new extracting agents," *Inorg. Chem.*, 41, (2002), 7031-7041.
- [63] Vercouter T., Amekraz B., Moulin C., Giffaut E., Vitorge P., "Sulfate complexation of trivalent lanthanides probed by nanoelectrospray mass spectrometry and time-resolved laser-induced luminescence," *Inorg. Chem.*, 44, (2005), 7570-7581.
- [64] Jacopin C., Sawicki M., Plancque G., Doizi D., Taran F., Ansoborlo E., *et al.*, "Investigation of the Interaction between 1-Hydroxyethane-1, 1 '-diphosphonic Acid (HEDP) and Uranium (VI)," *Inorg. Chem.*, 42, (2003), 5015-5022.
- [65] Boija S., Almesåker A., Hedenström E., Bylund D., Edlund H., Norgren M., "Determination of conditional stability constants for some divalent transition metal ion-EDTA complexes by electrospray ionization mass spectrometry," *J. Mass Spectrom.*, 49, (2014), 550-556.

- [66] Svanedal I., Boija S., Almesåker A., Persson G., Andersson F., Hedenström E., *et al.*, "Metal ion coordination, conditional stability constants, and solution behavior of chelating surfactant metal complexes," *Langmuir*, 30, (2014), 4605-4612.
- [67] Agnes G. R., Horlick G., "Electrospray mass spectrometry as a technique for elemental analysis: quantitative aspects," *Appl. Spectrosc.*, 48, (1994), 649-654.
- [68] Lobinski R., Schaumlöffel D., Szpunar J., "Mass spectrometry in bioinorganic analytical chemistry," *Mass Spectrom Rev*, 25, (2006), 255-289.
- [69] Chartier F., Isnard H., Nonell A., "Analyses isotopiques par spectrométrie de masse-Méthodes et applications," *Techniques de l'Ingénieur*, 3740, (2014), 1-28.
- [70] Rodríguez-González P., Marchante-Gayón J. M., García Alonso J. I., Sanz-Medel A., "Isotope dilution analysis for elemental speciation: a tutorial review," *Spectrochimica Acta Part B: Atomic Spectroscopy*, 60, (2005), 151-207.
- [71] Pröfrock D., Prange A., "Inductively Coupled Plasma–Mass Spectrometry (ICP-MS) for quantitative analysis in environmental and life sciences: a review of challenges, solutions, and trends," *Appl. Spectrosc.*, 66, (2012), 843-868.
- [72] Perna L., Bocci F., de las Heras L. A., De Pablo J., Betti, M., "Studies on simultaneous separation and determination of lanthanides and actinides by ion chromatography inductively coupled plasma mass spectrometry combined with isotope dilution mass spectrometry," *J. Anal. At. Spectrom.*, 17, (2002), 1166-1171.
- [73] Garcia Alonso J. I., "Determination of fission products and actinides in spent nuclear fuels by isotope dilution ion chromatography inductively coupled plasma mass spectrometry," *J. Anal. At. Spectrom.*, 10, (1995), 381-393.
- [74] Bourgeois M., Isnard H., Gourgiotis A., Stadelmann G., Gautier C., Mialle S., *et al.*, "Sm isotope composition and Sm/Eu ratio determination in an irradiated ¹⁵³Eu sample by ion exchange chromatography-quadrupole inductively coupled plasma mass spectrometry combined with double spike isotope dilution technique," *J. Anal. At. Spectrom.*, 26, (2011), 1660-1666.
- [75] Cleveland D., Long S. E., Sander L. C., Davis W. C., Murphy K. E., Case R. J., *et al.*, "Chromatographic methods for the quantification of free and chelated gadolinium species in MRI contrast agent formulations," *Anal. Bioanal Chem.*, 398, (2010), 2987-2995.
- [76] Cuello-Nuñez S., Larios R., Deitrich C., Lekishvili T., Nischwitz V., Sharp B. L., *et al.*, "A species-specific double isotope dilution strategy for the accurate quantification of platinum–GG adducts in lung cells exposed to carboplatin," *J. Anal. At. Spectrom.*, 32, (2017), 1320-1330.
- [77] Wolle M. M., Rahman G. M., Kingston H. S., Pamuku, M., "Optimization and validation of strategies for quantifying chromium species in soil based on speciated isotope dilution mass spectrometry with mass balance," *J. Anal. At. Spectrom.*, 29, (2014), 1640-1647.
- [78] Mädler S., Todd A., Pamuku M., Sun F., Tat C., Tooley R. J., *et al.*, "Ultra-trace level speciated isotope dilution measurement of Cr (VI) using ion chromatography tandem mass spectrometry in environmental waters," *Talanta*, 156, (2016), 104-111.
- [79] Schwarz G., Mueller L., Beck S., Linscheid, M. W., "DOTA based metal labels for protein quantification: a review," *J. Anal. At. Spectrom.*, 29, (2014), 221-233.
- [80] Agnes G. R., Horlick G., "Electrospray mass spectrometry as a technique for elemental analysis: preliminary results," *Appl. Spectrosc.*, 46, (1992), 401-406.
- [81] Agnes G. R., Stewart I. I., Horlick G., "Elemental speciation measurements with electrospray mass spectrometry: an assessment," *Appl. Spectrosc.*, 48, (1994), 1347-1359.

- [82] Ketterer M. E., Guzowski J. P., "Isotope ratio measurements with elemental-mode electrospray mass spectrometry," *Anal. Chem.*, 68, (1996), 883-887.
- [83] Moraes M. C., Neto J. G. B., do Lago C. L., "Boron isotopic ratio by electrospray mass spectra of tetrafluoroborate Part 1. Instrumental conditions, data acquisition, memory effect, and ion stability," *J. Anal. At. Spectrom.*, 16, (2001), 1259-1265.
- [84] Liu C., Hu B., Shi J., Li, J., Zhang, X., Chen, H., "Determination of uranium isotopic ratio ($^{235}\text{U}/^{238}\text{U}$) using extractive electrospray ionization tandem mass spectrometry," *J. Anal. At. Spectrom.*, 26, (2011), 2045-2051.
- [85] Margrave J., Polansky R., "Relative abundance calculations for isotopic molecular species," *J. Chem. Educ.*, 39, (1962), 335-337.
- [86] Meija J., "Mathematical tools in analytical mass spectrometry," *Anal. Bioanal Chem.*, 385, (2006), 486-499.
- [87] Yergey J. A., "A general approach to calculating isotopic distributions for mass spectrometry," *Int. J. Mass spectrom. and Ion Physics*, 52, (1983), 337-349.
- [88] Valkenburg D., Jansen I., Burzykowski T., "A model-based method for the prediction of the isotopic distribution of peptides," *J. Am. Soc. Mass Spectrom.*, 19, (2008), 703-712.
- [89] Claesen J., Dittwald P., Burzykowski T., Valkenburg D., "An efficient method to calculate the aggregated isotopic distribution and exact center-masses," *J. Am. Soc. Mass Spectrom.*, 23, (2012), 753-763.
- [90] Kaur P., O'Connor P. B., "Use of statistical methods for estimation of total number of charges in a mass spectrometry experiment," *Anal. Chem.*, 76, (2004), 2756-2762.
- [91] Rockwood A. L., Van Orden S. L., "Ultrahigh-speed calculation of isotope distributions," *Anal. Chem.*, 68, (1996), 2027-2030.
- [92] Hsu C. S., "Diophantine approach to isotopic abundance calculations," *Anal. Chem.*, 56, (1984), 1356-1361.
- [93] Fernandez-de-Cossio J., Gonzalez L. J., Satomi Y., Betancourt L., Ramos Y., Huerta V., *et al.*, "Isotopica: a tool for the calculation and viewing of complex isotopic envelopes," *Nucleic acids research*, 32, (2004), W674-W678.

Chapitre II

Techniques Analytiques

Ce chapitre décrit les différentes technologies de phases stationnaires utilisées pour réduire les volumes d'effluents chromatographiques, à savoir les colonnes remplies de particules entièrement poreuses (FPP : Fully Porous Particles) de diamètre sub-2- μm et superficiellement poreuses (SPP : Superficially Porous Particles). Les principes de fonctionnement des techniques de spectrométrie de masse à source d'ionisation électrospray (ESIMS : ElectroSpray Ionisation Mass Spectrometry) et à source plasma à couplage inductif (ICPMS : Inductively Coupled Plasma Mass Spectrometry) sont également décrits.

I. Descriptif des différentes technologies de phases stationnaires

Avant de décrire les technologies FPP et SPP, rappelons que le nombre de plateaux théoriques N d'une colonne chromatographique peut être reliée à la longueur de la colonne L et à la hauteur équivalente à un plateau théorique H *via* l'équation II-1.

$$N = \frac{L}{H} \quad (\text{Eq. II- 1})$$

Cette relation montre que pour obtenir la plus grande valeur de nombre de plateaux théoriques, la valeur de H doit être minimale pour une colonne de longueur donnée et que la séparation sera d'autant plus efficace que la colonne sera longue.

Une des relations permettant de caractériser la performance cinétique d'une colonne est l'équation de Van Deemter (Eq. II- 2) et l'équation de Knox (Eq. II-3), reliant la hauteur équivalente à un plateau théorique H aux caractéristiques physiques de la phase stationnaire et de la phase mobile.

$$H = A + \frac{B}{u} + Cu \quad (\text{Eq. II- 2})$$

Avec u : vitesse linéaire représentative du débit de la phase mobile, A : anisotropie d'écoulement ; B/u : diffusion longitudinale et Cu : résistance au transfert de masse.

$$H = Au^{1/3} + \frac{B}{u} + Cu \quad (\text{Eq. II- 3})$$

Avec $Au^{1/3}$: anisotropie d'écoulement ; B/u : diffusion longitudinale et Cu : résistance au transfert de masse.

L'équation de Van Deemter permet de calculer la hauteur équivalente à un plateau théorique en fonction de la vitesse linéaire de la phase mobile dans les colonnes remplies en chromatographie en phase gazeuse et l'équation de Knox pour les colonnes en chromatographie

en phase liquide. Cependant, dans certaines études, l'équation de Van Deemter est utilisée pour qualifier des colonnes en chromatographie en phase liquide. Dans ce travail, l'équation de Knox sera utilisée.

D'après les équations II-1, 2 et 3, la valeur de H sera minimale et donc N maximale, lorsque les valeurs des termes A (Van Deemter) ou $Au^{1/3}$ (Knox), B/u et Cu seront les plus faibles.

Le **terme A** de l'équation de Van Deemter ou le **terme $Au^{1/3}$** de l'équation de Knox représente **l'anisotropie d'écoulement**, qui reflète la diffusion turbulente de la phase mobile à travers la phase stationnaire, due à l'hétérogénéité de la taille et de la forme des particules. La progression irrégulière des solutés entraîne des élargissements des pics chromatographiques (Figure II- 1).

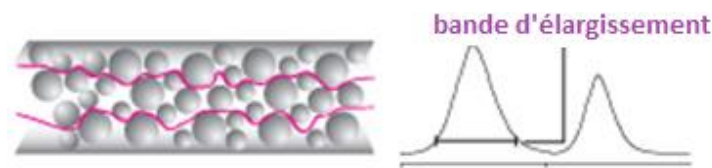


Figure II- 1 : Illustration du terme $Au^{1/3}$ de l'équation de Knox et du terme A de l'équation de Van Deemter (Adapté de [1])

Plus les particules sont petites, plus le remplissage de la colonne est homogène, induisant une diminution du terme A et donc une amélioration du nombre de plateaux théoriques.

Le **terme B/u** représente la **diffusion longitudinale**, qui rend compte de la diffusion du soluté dans la direction de l'écoulement de la phase mobile, généralement dans les pores des particules aussi bien qu'à l'extérieur des particules (Figure II- 2). Ce terme est indépendant de la taille des particules.

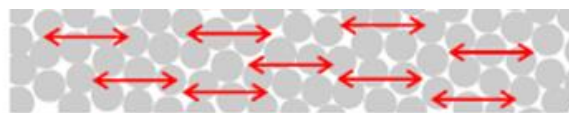


Figure II- 2 : Illustration du terme B/u de l'équation de Knox ou de Van Deemter [2]

À de faibles débits, les solutés résident plus longtemps dans la colonne, engendrant une augmentation du terme B/u et donc une un élargissement de la bande d'élution du soluté. Ce terme peut être minimisé en travaillant à des débits de phase mobile élevés.

Le **terme Cu** représente la **résistance au transfert de masse** du soluté dans les particules de la phase stationnaire et dans la phase mobile stagnante à la surface de la phase stationnaire. Lorsque les échanges du soluté entre les deux phases, appelés transfert de masse, ne sont pas assez rapides la bande d'élution s'élargit, traduisant une perte du nombre de plateaux théoriques et donc d'efficacité (Figure II- 3).

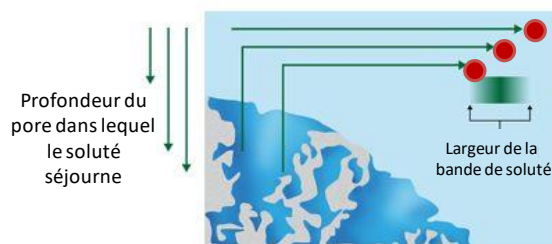


Figure II- 3 : Illustration du terme C_u de l'équation de Knox ou de Van Deemter [3]

Le transfert de masse sera rapide et le terme C_u réduit en travaillant à de faibles débits de phase mobile et en réduisant le diamètre des particules d_p .

L'influence de ces termes sur le nombre de plateaux théoriques en fonction du débit de la phase mobile permet de décrire les spécificités liées aux particules entièrement poreuses de diamètre sub-2- μm et aux particules superficiellement poreuses.

I.1. Caractéristiques des FPP sub-2- μm

À l'origine, les premières particules entièrement poreuses n'étaient pas sphériques, elles avaient des formes irrégulières et mesuraient environ 10 μm . L'efficacité a été améliorée dans les années 70 avec le développement de particules sphériques, permettant un remplissage de colonne plus homogène qu'avec des particules irrégulières et entraînant la diminution du terme $Au^{1/3}$ de l'équation de Knox (Eq. II-3). Pour obtenir des séparations encore plus efficaces (Eq. II- 4), le diamètre des particules d_p a été réduit à 5 μm dans les années 80, puis à 3,5 μm dans les années 90 [4].

$$N = \frac{L}{hd_p} \quad \text{avec } H = hd_p \quad (\text{Eq. II- 4})$$

Avec h : hauteur équivalente à un plateau théorique réduite

Dans les années 2000, il est devenu indispensable dans certains secteurs industriels tels que l'industrie pharmaceutique, d'obtenir des séparations efficaces et rapides afin d'augmenter la productivité et de réduire les coûts des analyses [5]. De plus, des séparations à très hautes résolutions sont devenues nécessaires dans les domaines tels que la protéomique, la génomique et la métabolomique [5]. Ces nombreux besoins ont incité à diminuer encore le diamètre des particules, mais aussi les paramètres géométriques des colonnes. En 2004, la société Waters a introduit sur le marché des colonnes remplies de FPP de diamètre sub-2- μm , résistant à des conditions extrêmes : pression jusqu'à 1000 bars, pH 1 à 12, température 180°C. C'est le début de l'ère de la « fast HPLC », avec une prédominance d'applications en chromatographie de

partage à polarité de phases inversée (RPLC : Reverse Phase Liquid Chromatography) dans de nombreux domaines [4].

1.1.1. Avantages

Le principal avantage des FPP de diamètre sub-2- μm est illustré en Figure II- 4 montrant la comparaison des courbes de Van Deemter obtenues avec trois colonnes de dimensions différentes et remplies de FPP de différentes granulométries. Ces colonnes possèdent le même support et la même fonctionnalisation, à savoir des chaînes alkyles C_{18} pour des séparations en RPLC (Figure II- 4) [6].

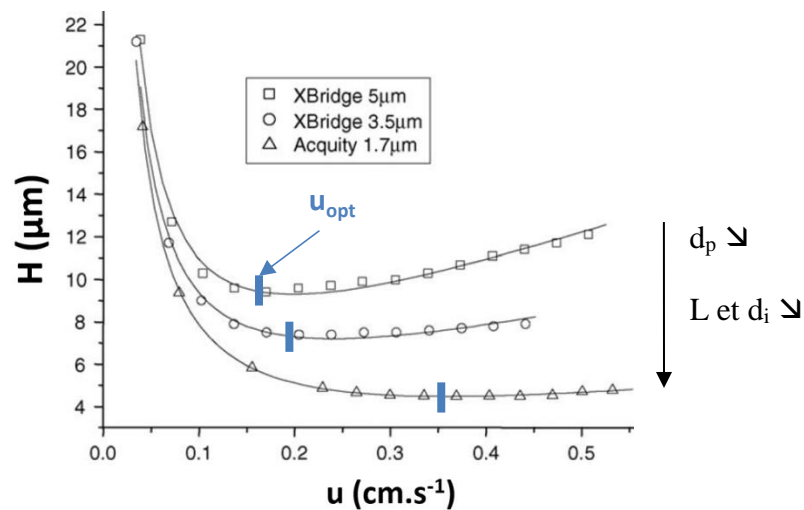


Figure II- 4 : Comparaison des courbes de Van Deemter obtenues avec des colonnes remplies de FPP : XBridge C_{18} 250 \times 4,6 mm 5 μm , XBridge C_{18} 150 \times 4,6 mm 3,5 μm , Acquity BEH (Ethylene Bridged Hybrid) C_{18} 100 \times 2,1 mm 1,7 μm [6]

La Figure II- 4 montre qu'en diminuant d_p , la valeur de la hauteur équivalente à un plateau théorique minimale (H_{\min}) diminue au débit optimal (u_{opt}). Etant donné que H_{\min} diminue, le nombre de plateaux théoriques augmente (Eq. II-4) et permet donc d'améliorer l'efficacité. Cette figure montre également que la valeur de la vitesse linéaire optimale u_{opt} augmente avec la diminution de d_p , en accord avec l'équation II-5 :

$$u_{\text{opt}} = \frac{v_{\text{opt}} \times D_m}{d_p} \quad (\text{Eq. II- 5})$$

Avec v_{opt} : la vitesse linéaire réduite optimale et D_m : le coefficient de diffusion du soluté dans la phase mobile.

L'augmentation de la valeur du débit optimal permet ainsi de réduire le temps d'analyse.

Pour les FPP de diamètre sub-2- μm , les valeurs de H sont constantes pour des débits supérieurs au débit optimal, permettant ainsi d'obtenir des séparations efficaces. Le transfert de masse est

plus rapide à des débits de phase mobile élevés, ce qui engendre une diminution du terme C_u de l'équation de Van Deemter et donc des valeurs de H . Les FPP de diamètre sub-2- μm permettent ainsi de travailler à des débits élevés, tout en ayant des séparations plus efficaces qu'avec des granulométries supérieures.

Compte tenu des propriétés des FPP de diamètre sub-2- μm , il est donc possible de réduire les dimensions de colonnes, tout en conservant des séparations rapides et efficaces, du moins comme démontré en mode RPLC.

La diminution des dimensions de colonnes et de particules conduira de plus à une diminution de volumes d'effluents. Les séparations obtenues avec la colonne $100 \times 2,1 \text{ mm} ; 1,7 \mu\text{m}$ génèrera 7 fois moins de volumes d'effluents que la colonne $150 \times 4,6 \text{ mm} ; 3,5 \mu\text{m}$ en plus d'être rapides et efficaces.

1.1.2. Inconvénients

La réduction du diamètre de particules (d_p) entraîne l'augmentation de la perte de charge ΔP , correspondant à la résistance au passage du solvant. D'après la loi de Darcy (Eq. II-6), ΔP est inversement proportionnelle au carré de d_p .

$$\Delta P = \frac{\eta \Phi L u}{d_p^2} \quad (\text{Eq. II- 6})$$

avec η : viscosité de la phase mobile, Φ : facteur de résistance à l'écoulement

Les particules de diamètre sub-2- μm génèrent des pressions (ou pertes de charge) bien supérieures aux 400 bars supportées par les instrumentations classiques et requièrent l'utilisation d'une chaîne chromatographique à ultra-haute pression (UHPLC : Ultra High Performance Liquid Chromatography). La première utilisation de l'UHPLC a été démontrée en 1997 avec des capillaires remplis de particules de silice non poreuse de diamètre 1,5 μm [5]. La potentialité de l'UHPLC à résister jusqu'à 3600 bars a été également démontrée [7]. La première chaîne chromatographique résistant à une pression de 1000 bars a été commercialisée en 2004 par la société Waters. Les volumes extra-colonnes de ces modules sont minimisés afin de réduire la dispersion des pics chromatographiques. Les temps d'analyse étant plus courts, les détecteurs ont été adaptés de telle sorte à atteindre une fréquence d'acquisition du signal très élevée afin d'obtenir suffisamment de points pour une bonne définition des pics chromatographiques [8].

Néanmoins, un des inconvénients de l'UHPLC est la compressibilité des solvants à travers la colonne à des pressions de l'ordre de 1000 bars et au-delà, générant de la chaleur par effet joule

[8]. Ce phénomène, appelé échauffement par friction, entraîne une augmentation de la température de la phase mobile conduisant à un gradient de température à l'intérieur de la colonne et à une perte d'efficacité. Son impact est toutefois moins significatif en mode HILIC qu'en mode RPLC puisque le pourcentage de solvant organique est plus important et donc la viscosité de la phase mobile plus faible [5].

Moyennant une instrumentation adaptée, l'exploitation des avantages des colonnes de dimensions réduites et remplies de FPP sub-2- μm est susceptible d'apporter des gains significatifs pour les applications du nucléaire.

I.2. Caractéristiques des SPP

À la fin des années 60, Horváth et Lipinski ont développé le concept de particule superficiellement poreuse, appelée encore core-shell ou fused-core, avec une sphère de verre non poreuse revêtue d'une fine couche d'un polymère poreux pour la séparation de nucléosides [9]. À la même époque, Kirkland a contribué également aux développements des particules SPP, composées d'un noyau dur de silice et d'une couche poreuse de silice, d'un diamètre total d'une cinquantaine de microns [10]. Avec ce type de particules, deux avantages étaient attendus : 1) une grande capacité de charge des solutés injectés 2) un chemin de diffusion limité pour les grosses molécules comme les protéines et par conséquent, un transfert de masse plus rapide et une amélioration de l'efficacité, sans générer plus de pertes de charge (Figure II- 5) [11]. La diffusion lente de ces molécules, inhérente à leur taille importante, contribue en effet à dégrader l'efficacité.

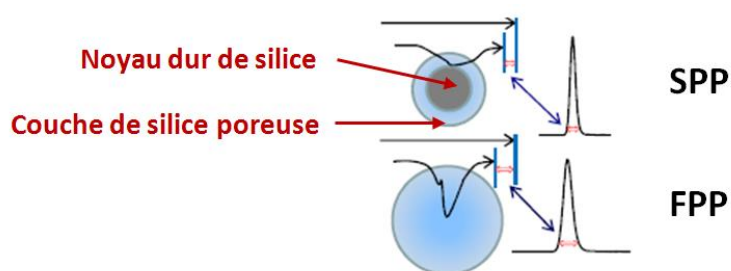


Figure II- 5 : Chemin de diffusion intra-particulaire du soluté pour une particule SPP et une particule FPP (Adapté de [2])

Toutefois, ces particules n'ont pas été adoptées par la communauté scientifique en raison des trop faibles performances encore atteintes [12]. En 1992, des SPP d'un diamètre total de 7 μm sont apparues pour séparer des peptides et des polystyrènes de masse molaire comprise entre 2000 et 200 000 Da, mais elles n'étaient pas assez efficaces. En 2006, Kirkland et *al.* ont commercialisé une nouvelle génération de SPP de diamètre de 2,7 μm , comportant un noyau dur et une couche poreuse de silice [13]. Ce fut un véritable essor. Contrairement aux SPP

développées précédemment, ces particules ne sont plus limitées par la capacité de charge des solutés. En revanche, leur capacité de charge est toujours plus faible que celle des particules FPP. De plus, elles ont conduit à de grandes efficacités et un transfert de masse rapide pour des molécules de taille moyenne en mode RPLC [12]. Afin d'améliorer davantage le nombre de plateaux théoriques, la dernière génération de SPP est élaborée avec un diamètre sub-2- μm , mais les performances de ce type de particules font encore l'objet d'études [14].

1.2.1. Avantages

Avec le noyau dur, le chemin de diffusion intra-particulaire dans les SPP est réduit par rapport à celui des FPP (Figure II- 5). Le transfert de masse est alors plus rapide, induisant une diminution du terme C_u de l'équation de Van Deemter (Eq. II-2) ou de Knox (Eq. II-3) et donc une amélioration de l'efficacité pour des débits supérieurs ou égaux au débit optimal, avec des phases mobiles classiquement utilisées en RPLC (Figure II- 6).

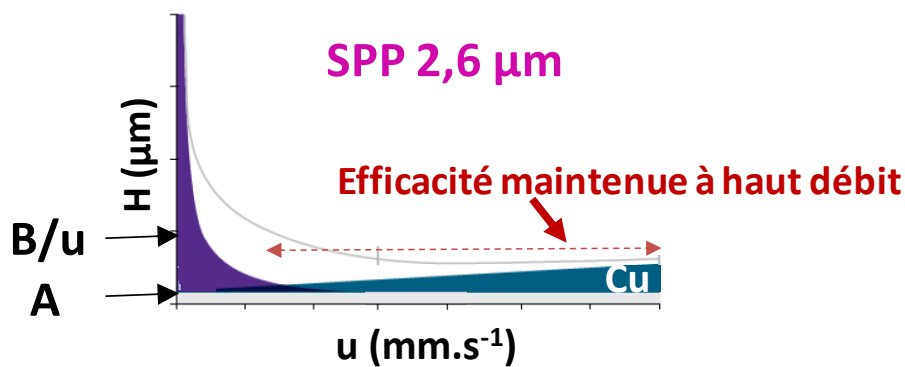


Figure II- 6 : Représentation schématique de la courbe de Van Deemter en RPLC d'une colonne remplie de SPP avec A : l'anisotropie d'écoulement, B/u : la diffusion longitudinale et C_u : la résistance au transfert de masse (Adaptée de [15])

En réalité, ce sont les termes A (Van Deemter) ou $Au^{1/3}$ (Knox) et B/u , qui expliquent le plus l'amélioration de l'efficacité puisque ce sont les termes prépondérants, à de faibles débits, dans le cas des SPP. La densité des SPP étant plus importante que celles des FPP en raison du noyau dur, le remplissage de la colonne est alors plus homogène et le terme A (Van Deemter) ou $Au^{1/3}$ (Knox) correspondant à l'anisotropie d'écoulement est réduit (Figure II- 7) [12].

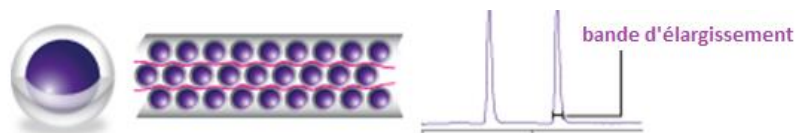


Figure II- 7 : Illustration du terme $Au^{1/3}$ de l'équation de Knox et du terme A de l'équation de Van Deemter pour des particules SPP [1]

La présence du noyau dur implique également un faible volume accessible pour la diffusion du soluté, qui ne diffuse pas à l'intérieur du noyau. Le terme B/u de l'équation de Van Deemter et de Knox exprimant la diffusion longitudinale, est donc réduit (Figure II- 8) [12].

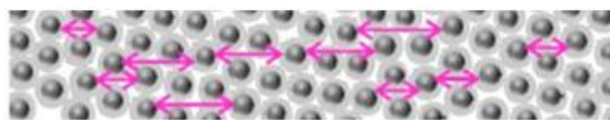


Figure II- 8 : Illustration du terme B de l'équation de Knox ou de Van Deemter pour des particules SPP [2]

En résumé, le noyau dur des SPP permet d'améliorer l'efficacité en induisant une diminution des termes A (Van Deemter) ou $Au^{1/3}$ (Knox) et B/u de l'équation de Van Deemter à de faibles débits de phase mobile et une diminution des termes A (Van Deemter) ou $Au^{1/3}$ (Knox) et B/u à des débits élevés.

Le gain apporté par une colonne remplie de SPP de diamètre 2,7 μm en mode RPLC par rapport à une colonne remplie de FPP de diamètre sub-2- μm est illustré en Figure II- 9 [16]. Il est noté que les performances d'une colonne avec un support monolithique ont été étudiées, mais ne font pas l'objet de ce travail.

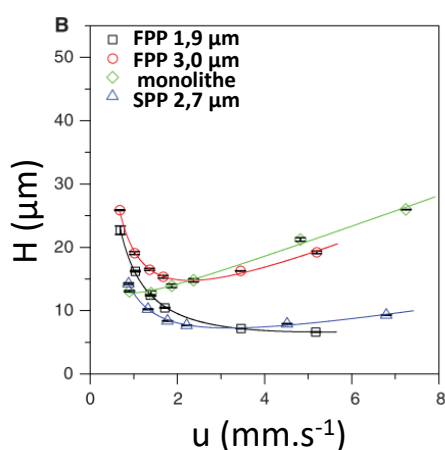


Figure II- 9 : Courbes de Van Deemter établies pour le naphthalène avec les colonnes Eksigent Halo C_{18} ($50 \times 0,3 \text{ mm}$; 2,7 μm) remplie de SPP, monolithe Merck caprod C_{18} ($150 \times 0,2 \text{ mm}$; 2,7 μm), YMC Triart ($50 \times 3,0 \text{ mm}$; 1,9 μm) remplie de FPP et YMC Triart ($50 \times 0,3 \text{ mm}$; 3,0 μm) remplie de FPP [16]

Cet exemple met en évidence qu'en mode RPLC, la colonne remplie de SPP de diamètre 2,7 μm est aussi efficace que la colonne remplie de FPP de diamètre sub-2- μm . Les mêmes tendances ont été observées pour l'analyse d'autres composés organiques avec des colonnes remplies de FPP sub-2- μm et SPP de diamètre 2,6 μm , avec ce même mode de séparation [17, 18].

Un des principaux avantages des SPP est qu'elles génèrent moins de perte de charges que les FPP de granulométrie identique, quel que soit le débit de phase mobile [18]. Les chaînes chromatographiques conventionnelles peuvent donc être utilisées avec les colonnes remplies de SPP tout en ayant des séparations rapides et efficaces, ce qui est particulièrement intéressant

puisqu'elles ne nécessitent pas l'investissement d'un appareillage spécifique. De plus, des séparations avec de très hautes résolutions sont envisageables en couplant plusieurs colonnes remplies de SPP sans générer trop de perte de charge. Cabooter et *al.* ont couplé en série 4 colonnes C₁₈ remplies de SPP de diamètre 2,7 µm. Des séparations ont été obtenues avec un nombre de plateaux théoriques supérieur à 100 000 plateaux, avec une perte de charges aux alentours de 550 bars [19].

Un autre avantage des colonnes remplies de SPP est que les volumes d'effluents peuvent être réduits par rapport à ceux générés par des colonnes de mêmes dimensions remplies de FPP. Par exemple, la séparation de composés organique de type benzène, acétophénone avec une colonne de dimensions 100 × 2,1 mm et remplie de SPP sub-3-µm fonctionnalisée par des groupements C₁₈ génère 15% d'effluents de moins qu'une colonne de dimensions 100 × 2,1 mm et remplie de FPP sub-2-µm, à des débits de phase mobile élevés [20].

Les colonnes remplies de SPP permettent donc d'obtenir des séparations efficaces et rapides, sans générer des volumes d'effluents et des pertes de charges trop importants, ce qui représente un atout pour les applications dans le domaine du nucléaire.

II.2.2. Inconvénients

Il est préconisé de minimiser les phénomènes extra-colonne lors de l'utilisation des SPP avec les chaînes chromatographiques conventionnelles mais aussi avec les systèmes UHPLC en raison de leur porosité interstitielle élevée et leur noyau dur, qui limite les échanges [21]. Il existe plusieurs stratégies pour les réduire ces phénomènes : diminuer la longueur et le diamètre interne des tubulures en amont et en aval de la colonne chromatographique ainsi que le volume de la boucle d'injection.

II. La spectrométrie de masse à source électrospray

II.1. Principe général

La spectrométrie de masse à source d'ionisation électrospray (ESI : ElectroSpray Ionisation) est une technique permettant d'ioniser à pression atmosphérique les analytes contenu dans échantillon, de les transférer en phase gazeuse vers l'analyseur où ils sont séparés en fonction de leurs rapports masse sur charge (m/z), puis sont envoyés vers le détecteur. Les principales composantes du spectromètre de masse sont présentées en Figure II- 10.

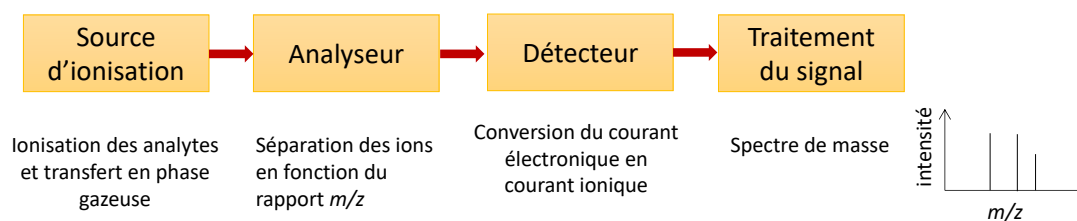


Figure II- 10 : Principe général d'un spectromètre de masse à source ESI

L'échantillon à l'état liquide est introduit dans la source soit directement, soit en aval d'une technique séparative. La **source d'ionisation** permet d'ioniser les analytes, de les désolvater et de transférer les ions en phase gazeuse vers l'analyseur. L'**analyseur** sépare ensuite les ions selon leur rapport m/z . Une grande variété d'analyseurs existe dont le principe de séparation est différent : quadripôles, pièges à ions, orbitrap, temps de vol... ainsi que des hybrides correspondant à l'association de plusieurs types d'analyseurs. De façon simplifiée, les espèces chargées sont séparées par application de champs magnétiques et/ou électriques sous vide, entre 10^{-5} et 10^{-10} bars, afin d'éviter toute collision des ions avec des molécules de gaz résiduels avant leur détection. Le **détecteur** a pour fonction de collecter les ions séparés et de convertir le signal en un signal électrique, amplifié et numérisé par le système informatique.

II.2. Source d'ionisation par électrospray

L'intérêt de la source d'ionisation par électrospray (ESI) a été mis en évidence dans les années 80 par Yamashita et Fenn pour l'analyse des protéines [22]. Son utilisation a très vite été étendue pour l'analyse de molécules moyennement polaires à très polaires.

L'ESI est un processus d'ionisation doux, c'est-à-dire peu énergétique, qui permet de conserver l'intégrité des espèces contenues dans l'échantillon. Dans ce travail, les expériences réalisées en ESIMS ont été réalisées en mode d'ionisation négatif : ESI (-).

Le principe général du mécanisme d'ionisation de l'ESI est le suivant :

1) Production de gouttelettes chargées

L'échantillon en solution est introduit dans la source par l'intermédiaire d'un capillaire métallique. Une différence de potentiel (ddp) négative, comprise entre -3,7 et -3,5 kV dans ce travail, a été appliquée entre ce capillaire et le tube lens de l'instrument TSQ Quantum par exemple (Figure II- 11). Le gaz séchant est au contact de l'échantillon et permet d'évaporer le solvant. Le gaz auxiliaire permet de focaliser le spray formé.

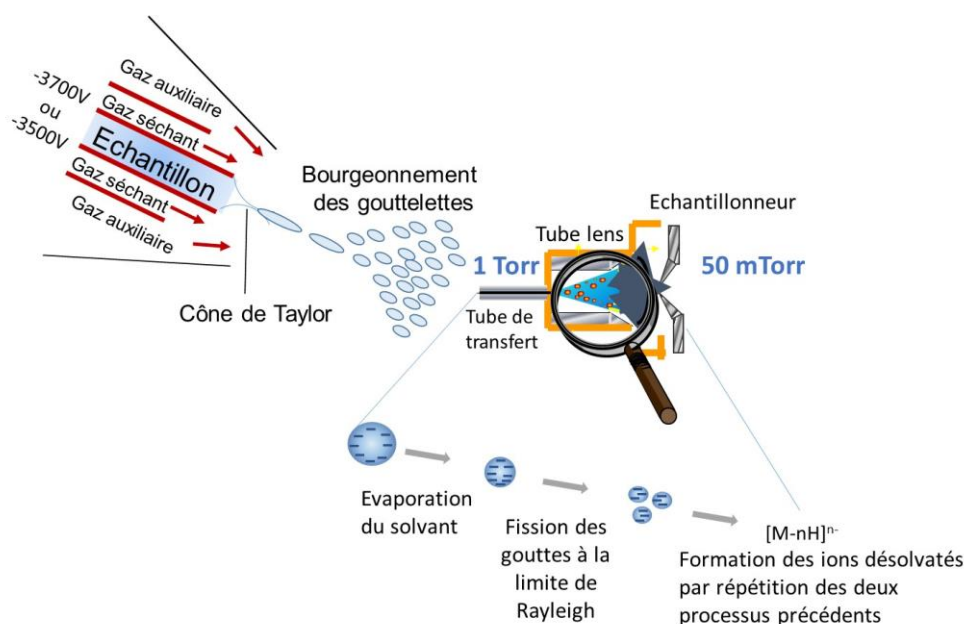


Figure II- 11 : Schéma de principe de la source d'ionisation électrospray de l'instrument TSQ Quantum en mode négatif ([23] et Adapté de [24]).

Cette ddp induit une accumulation de charges à la surface du liquide situé à l'extrémité du capillaire, provoquant une déstabilisation de la surface du liquide, prenant la forme d'un cône, appelée « cône de Taylor ». Des gouttelettes chargées contenant les ions sont émises de façon continue à la pointe de ce cône. Ces gouttelettes sont attirées vers le tube de transfert, à pression atmosphérique par un gradient de pression décroissant pour être dirigées vers le tube lens et l'échantillonneur. Un gradient de potentiel est appliqué afin de focaliser les ions vers l'ouverture du skimmer et d'assister la désolvatation des ions en les accélérant à travers la pression résiduelle de gaz qui règne dans cette région.

2) Fission des gouttelettes, explosions coulombiennes

L'évaporation du solvant provoque une diminution de la taille des gouttelettes et une augmentation de la densité de charge. Lorsque le rayon critique atteint la limite de Rayleigh [25], les forces de répulsions électrostatiques l'emportent sur les tensions de surface et les gouttelettes explosent, produisant des gouttelettes plus petites : c'est l'explosion coulombienne (Figure II- 11) [26]. Pour l'émission des ions en phase gazeuse, deux modèles ont été proposés [27] : le modèle de Dole comprenant de multiples explosions coulombiennes jusqu'à totale désolvatation et émission des ions en phase gazeuse et le modèle d'Iribarne et Thomson comprenant une seule explosion coulombienne. Selon le deuxième modèle, le solvant contenu dans les gouttelettes de rayon inférieur à 10 nm est évaporé et les ions formés sont directement émis en phase gazeuse.

3) Transfert des ions en phase gazeuse

Les ions désolvatés sont transférés vers l'analyseur via l'échantillonneur, puis par l'optique ionique qui permet de focaliser et transmettre les ions, en combinaison avec un gradient de vide.

II.3. Les analyseurs

Deux types d'analyseurs ont été utilisés dans ce travail : un triple quadripôle et une trappe ionique linéaire, nommés respectivement par la suite : QqQ (triple quadripole) et LIT (Linear Ion Trap).

Ces analyseurs sont caractérisés par :

- La **gamme en masse** : qui détermine les valeurs limites des rapports m/z mesurables
- La **vitesse de balayage** : domaine de masse mesurable par unité de temps. Elle est exprimée en unité de masse atomique par seconde ($u.s^{-1}$) ou en dalton par seconde ($Da.s^{-1}$).
- La **fréquence d'acquisition** correspond au nombre de spectres acquis en une seconde.
- Le **pouvoir de résolution** correspond à la capacité d'un analyseur à séparer deux ions de masses voisines.
- La résolution R est définie à une masse donnée par la relation :

$$R = \frac{m}{\Delta m} \quad (\text{Eq. II- 7})$$

La largeur du pic à mi-hauteur (FWHM : Full Width at Half Maximum) est le paramètre communément employé pour caractériser la résolution. Δm correspond donc à la largeur du pic à mi-hauteur et m : le rapport m/z de l'ion considéré

Cette relation montre qu'une diminution de la largeur à mi-hauteur engendre une amélioration de la résolution.

Les analyseurs utilisés dans le cadre de ce travail sont de basse résolution.

Pour enregistrer des spectres de masse par ESIMS, deux modes d'analyse existent :

- 1) spectrométrie de Masse Simple (MS), avec deux types d'acquisitions :
 - le balayage complet appelé également full scan, qui permet de balayer la totalité d'une gamme de masse prédéterminée par l'utilisateur. Ce mode de balayage est utilisé dans le cas d'une approche non ciblée pour effectuer un criblage des molécules présentes dans un échantillon.

- le suivi d'ions sélectionnés appelé Single Ion Monitoring (SIM), qui permet de détecter des composés ciblés, dont les caractéristiques spectrales sont connues. L'analyseur agit comme un filtre et seuls les ions de rapport m/z défini sont transmis au détecteur. Pour observer le massif isotopique d'un composé, l'ion central est sélectionné avec une fenêtre d'isolation $\pm \Delta m$

2) spectrométrie de masse en tandem : MS² ou MSⁿ

Elle consiste à sélectionner un ion appelé précurseur, à le fragmenter, en une étape ou de façon successive, pour obtenir des ions produits. Les caractéristiques de fragmentations donnent ainsi des informations plus spécifiques sur l'ion précurseur, notamment des informations structurales. Comme en mode MS, l'acquisition des spectres de masse peut être réalisée selon un mode de balayage complet des produits de fragmentation ou bien en sélectionnant des produits ciblés.

Les principes de ces différents modes seront détaillés pour l'ESIMS-QqQ et l'ESIMS-LIT.

II.3.1. Fonctionnement de l'ESIMS-QqQ

Le schéma de principe de l'ESIMS-QqQ provenant de la société Thermo Scientific, TSQ Quantum est présenté en Figure II- 12.

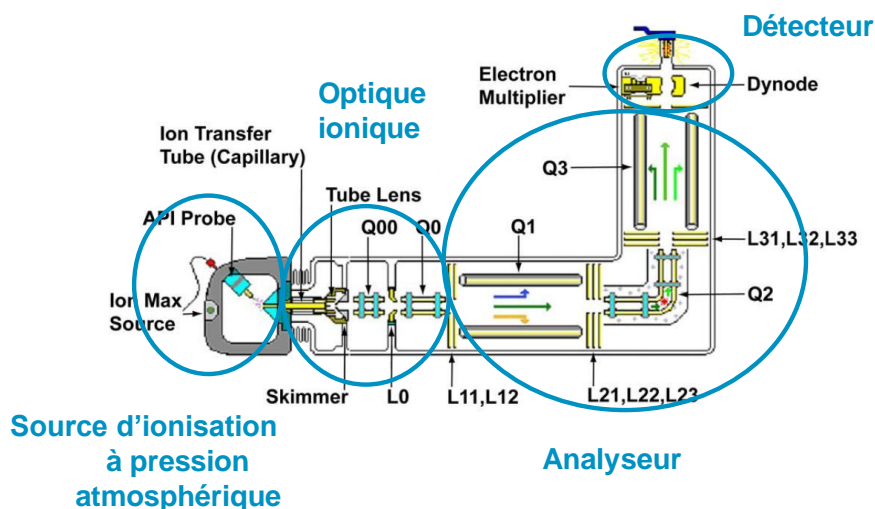


Figure II- 12 : Schéma de principe du TSQ Quantum [23]

L'instrument est doté d'une source ESI, d'un système d'optique ionique constitué de lentilles et de quadripôles Q_0 et Q_{00} , fonctionnant en mode guide d'ions, dont le rôle est uniquement de focaliser et transmettre les ions formés dans la source vers l'analyseur. L'analyseur est un triple quadripôle comportant deux analyseurs de masse quadripolaires Q_1 et Q_3 en série, avec entre les deux, un quadripôle dont les barreaux à section carré forment un angle droit. Ce dernier est utilisé pour réaliser des réactions de fragmentations il est appelé cellule de collision Q_2 .

Le principe de fonctionnement d'un quadripôle est le suivant : il comprend deux paires de barres métalliques de section cylindriques ou hyperboliques, portées à un potentiel opposé $\Phi_0 = U - V\cos(\omega t)$ et $-\Phi_0 = -U + V\cos(\omega t)$. Avec Φ_0 : tension appliquée aux barres, ω la fréquence angulaire en ra.s^{-1} ($=2\pi f$ avec f la fréquence du champ radiofréquence (RF), V l'amplitude de la composante sinusoïdale (RF) et U : la tension continue (DC).

En appliquant une différence de potentiel entre chaque paire de barres alternativement, les ions ont une trajectoire oscillante suivant l'axe du quadripôle (Figure II- 13).

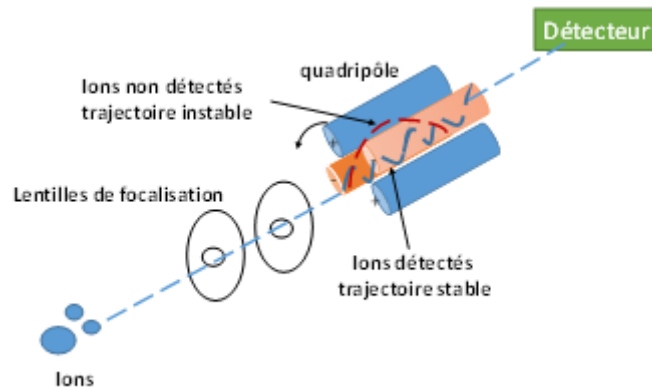


Figure II- 13 : Principe du quadripôle

Les ions ayant une trajectoire stable, comme celle indiquée en bleue sur la Figure III-13, permet aux ions d'être détectés.

L'oscillation des ions dans le quadripôle suit les équations de Mathieu.

$$\frac{d^2u}{d\xi^2} + (a_u - 2q_u \cos 2\xi)u = 0 \quad (\text{Eq. II- 8})$$

$$\text{Avec } \xi = \frac{\omega t}{2}, \quad a_u = \frac{8zeU}{mr_0^2\omega^2} \quad \text{et} \quad q_u = \frac{4zeV}{mr_0^2\omega^2}$$

Avec a_u et q_u les paramètres de stabilité, m : masse d'un ion, ze : sa charge et r_0 : rayon du cercle inscrit entre les quatre barres du quadripôle

La résolution de ces équations définit les zones de stabilité des ions pour qui seront transmis au détecteur, c'est-à-dire les différents couples a et q pour lesquels les ions auront une trajectoire stable entre les quatre barres du quadripôle. Aux valeurs a et q pour un ion donné, leurs sont associés des valeurs de U et V .

Quatre domaines de stabilités existent, celui qui est couramment utilisé est présenté en Figure II- 14.

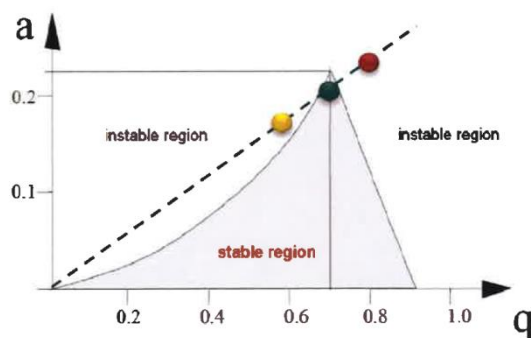


Figure II- 14 : Diagramme de stabilité des ions avec l'ESIMS-QqQ [23]

Dans cet exemple, les ions représentés en rouge et jaune sont dans des zones instables, seul l'ion représenté en vert pourra être transmis au détecteur.

Pour balayer une gamme de masse, les valeurs de U et V sont augmentées progressivement, en gardant le rapport U/V constant. Son fonctionnement est décrit ci-après.

II.3.1.1. Fonctionnement de l'ESIMS-QqQ en mode MS

Lorsque $U=0$, donc $q=0$, la résolution devient nulle. Tous les ions ont une trajectoire stable et seront donc transmis : c'est le mode RF only. Le quadripôle est utilisé alors comme guide d'ions. C'est le cas pour Q_0 et Q_{00} (Figure II- 14).



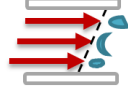



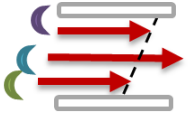


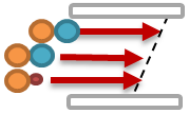


En mode **full scan**, un rapport U/V constant ou a/q constant, est imposé en faisant varier simultanément U et V selon une droite d'équation $U=f(V)$. L'ensemble des ions de rapport m/z croissant et ayant une trajectoire stable sont transmis au détecteur. Le balayage peut être réalisé dans Q_1 ou Q_3 , laissant les deux autres quadripôles uniquement comme guide d'ions.

En mode **SIM**, la transmission des ions correspondant à un seul rapport m/z est réalisée en fixant la valeur de U et de V. Ainsi, les ions sont collectés pendant une durée plus importante, impliquant un gain de sensibilité et de sélectivité par rapport au mode full scan.

II.3.1.2. Fonctionnement de l'ESIMS-QqQ en mode MS/MS

Le principe de la spectrométrie de masse en tandem, est basé sur la mise en série des trois quadripôles. Différents types d'acquisition sont disponibles avec le triple quadripôle. Ils sont répertoriés dans le Tableau I-1.

Tableau II- 1 : Types de balayage du triple quadripôle en mode MS/MS

| Modes d'acquisition | Quadripôle Q ₁ | Cellule de collision | Quadripôle Q ₃ |
|-------------------------|--|---|--|
| Ions produits | Sélection de l'ion précurseur  | Fragmentation  | Balayage  |
| SRM | Sélection de l'ion précurseur  | Fragmentation  | Sélection d'un ion produit  |
| Ions précurseurs | Balayage  | Fragmentation  | Sélection de l'ion précurseur  |
| Perte de neutre | Balayage  | Fragmentation  | Balayage  |

Avec le type de balayage d'ions produits, un ion précurseur est sélectionné dans Q₁, puis est fragmenté dans la cellule de collision Q₂ par dissociation induite par collision (CID) avec un gaz inerte, de l'argon, puis l'ensemble des ions produits formés sont balayés par Q₃ pour donner le spectre des ions fils. Le processus de fragmentation CID avec cet instrument comprend deux étapes [28]. La première étape correspond à l'activation des ions précurseurs à des états d'énergie supérieurs, par collision avec des atomes de gaz inerte. La deuxième étape est la dissociation de l'ion activé. Une partie de l'énergie de l'ion précurseur est convertie en énergie interne, permettant à l'ion de se fragmenter.

Avec le mode balayage d'un ou plusieurs ions de fragmentation sélectionnés SRM (Selected Reaction Monitoring) ou MRM (Multiple Reaction Monitoring), les ions précurseurs sélectionnés sont fragmentés dans la cellule de collision, puis un ion ou plusieurs ions produits spécifiques sont suivis dans Q₃. La SRM est utilisée pour quantifier des composés ciblés notamment à l'état de trace.

Le mode de balayage des ions précurseurs consiste à sélectionner un ion produit dans Q₃ et à en déterminer tous ses ions précurseurs en le balayant avec Q₁.

Pour le balayage de perte de neutre, un fragment neutre est sélectionné, puis toutes les fragmentations engendrant la perte de ce neutre sont détectées. Les gammes de masse balayées par Q₁ et Q₃ ont donc un décalage constant et égal à celle du fragment neutre.

II.3.2. Fonctionnement de l'ESIMS-LIT

Le schéma de principe de l'ESIMS-LIT dénommé LTQ Velos Pro par la société Thermo Scientific est illustré en Figure II- 15.

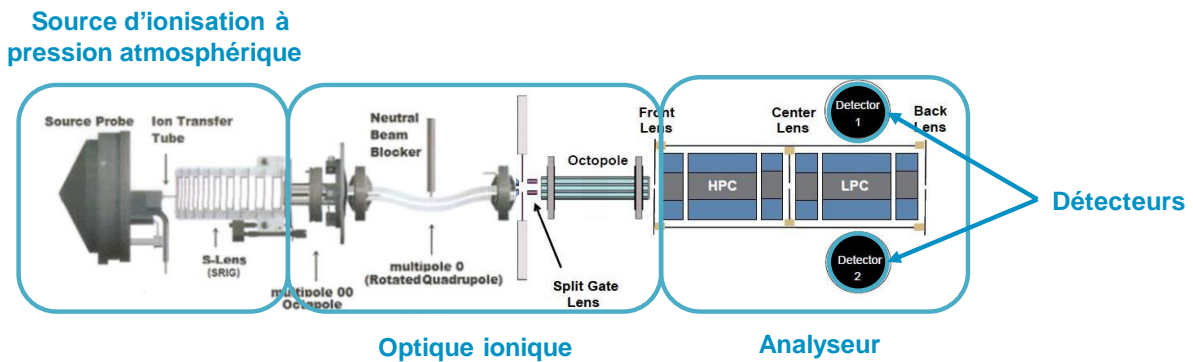


Figure II- 15 : Schéma de principe du LTQ Velos Pro [29]

L'instrument est composé d'une source ESI à pression atmosphérique, d'un guide d'ions appelé S-lens. Il comporte également un système d'optique ionique : permettant de transmettre les ions vers l'analyseur sous vide progressif, ainsi que d'éliminer les neutres restants et les ions de charges opposés. L'analyseur de masse, la trappe ionique linéaire, est composé de deux cellules : une à haute pression (HPC : High Pressure Cell) à 9×10^{-3} mBar et une autre à basse pression (LPC : Low Pressure Cell) à 4×10^{-4} mBar (Figure II- 16). La HPC permet de piéger, d'isoler les ions, et de fragmenter les ions précurseurs. Les ions sont ensuite transmis dans la LPC et éjectés. L'hélium est utilisé, à une pression plus basse dans la LPC, de manière à réduire les fragmentations éventuelles induites par collision. L'instrument comprend deux détecteurs, pour améliorer la sensibilité.

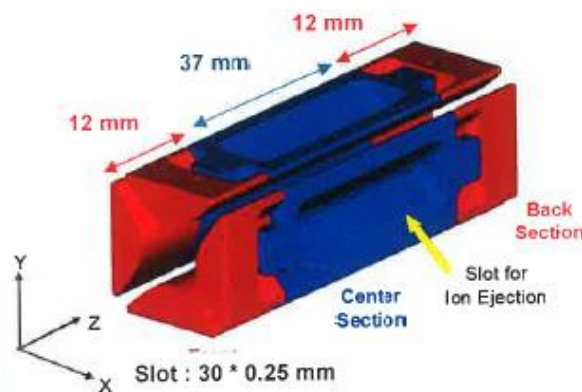


Figure II- 16 : Schéma d'une cellule de la trappe ionique linéaire [29]

Les cellules HPC et LPC sont composées de quatre barres métalliques de section hyperboliques, comme un quadripôle. La trajectoire des ions suit donc les équations de Mathieu (Eq. II-8). Les cellules HPC et LPC sont toutefois segmentées en trois sections. Le fonctionnement de chaque cellule est décrit dans le prochain paragraphe pour les différents modes d'acquisition.

II.3.2.1. Fonctionnement de l'ESIMS-LIT en mode MS

Le mode **fullscan** comprend deux étapes : le piégeage des ions et l'éjection des ions avant leur détection (Figure II- 17) :

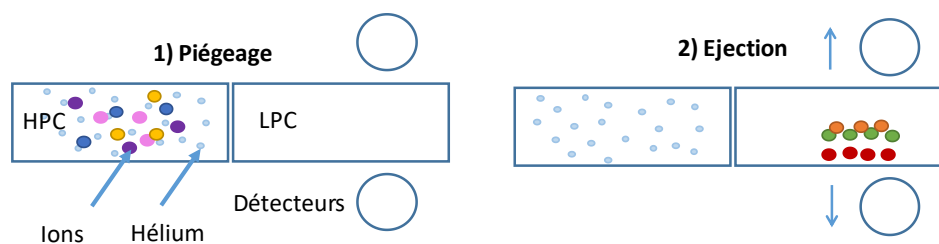


Figure II- 17 : Principe de fonctionnement de l'ESIMS-LIT en mode full scan (Adapté de [29])

Les ions sont piégés dans la HPC, dans la direction radiale c'est-à-dire dans le plan XY en appliquant une radiofréquence. Des tensions distinctes sont appliquées pour chaque section de la cellule haute pression selon l'axe Z pour former un puits de potentiel piégeant les ions dans la direction axiale. Les ions rentrent alors en collision avec de l'hélium. L'énergie cinétique est convertie en énergie vibrationnelle et en chaleur. Aucune fragmentation ne se produit.

Les ions collectés dans la HPC sont transmis dans la LPC puis éjectés avant d'être détectés. L'éjection des ions est effectuée dans l'ordre suivant : du plus petit au plus grand rapport m/z , avec une vitesse de balayage.

Avec le mode **SIM**, trois étapes sont réalisées : le piégeage des ions, l'isolation d'un ou plusieurs ions et l'éjection des ions de l'analyseur. L'étape de piégeage des ions est identique au mode full scan. Pour isoler un ou plusieurs ions d'intérêts, un gradient de fréquences RF est appliqué à tous les rapports m/z sauf à celui d'intérêt pour $q=0,83$ (Figure II- 18).

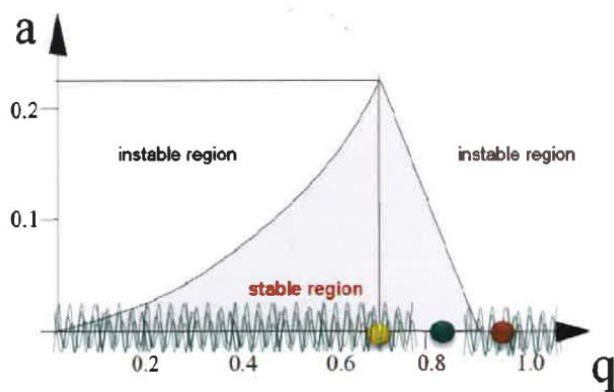


Figure II- 18 : Irradiation à toutes les valeurs de q sauf celui de l'ion précurseur [29].

Cette valeur permet de fragmenter l'ion précurseur et que les ions produits soient stables.

Les ions représentés en rouge et jaune sur la figure sont déstabilisés pour être éjectés de la HPC. Ensuite, l'ion d'intérêt est éjecté comme décrit précédemment en mode full scan.

II.3.2.2. Fonctionnement de l'ESIMS-LIT en mode MS^n

En spectrométrie de masse en tandem, deux modes de fragmentation existent avec l'ESIMS-LIT provenant de la société Thermo-Scientific : le mode Collision Induced Dissociation (CID) et Higher Energy Collision Induced Dissociation (HCD).

II.3.2.2.1. Mode de fragmentation CID

Les expériences en mode CID se déroulent selon quatre étapes : (1) le piégeage des ions, (2) l'isolation de l'ion précurseur, (3) l'excitation et la fragmentation de l'ion précurseur et (4) éjection des ions produits (Figure II- 19) :

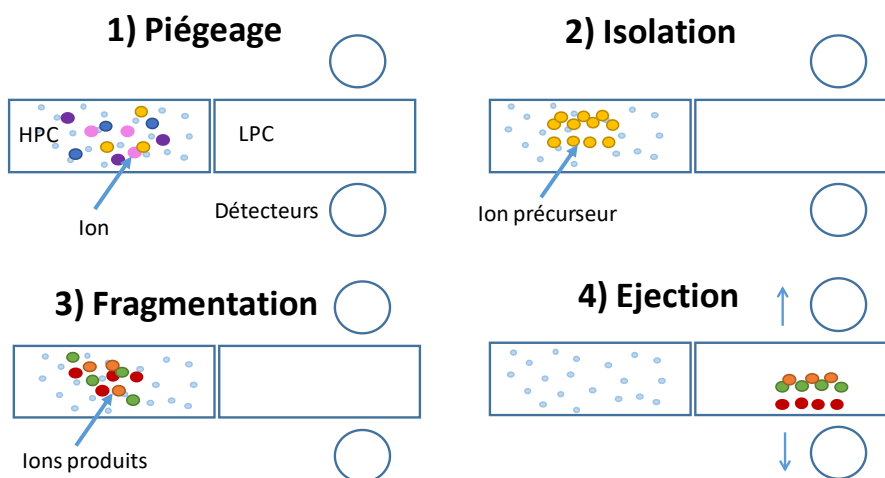


Figure II- 19 : Principe de fonctionnement de l'ESIMS-LIT en mode MS^2 (Adapté de [29]).

Les ions sont piégés dans la HPC, puis les ions du précurseur sont isolés à $q_u=0,25$ (à optimiser) afin de détecter les ions produits de rapport m/z plus faible que l'ion précurseur. Une énergie de fragmentation est appliquée pendant une durée appelée temps d'activation.

Ce sont des conditions de basse énergie, puisque les ions sont excités dans leur état fondamental, leur énergie interne augmente jusqu'à rupture de certaines liaisons chimiques lors de collisions avec l'hélium. Les ions produits obtenus sont soit éjectés de la LPC selon le même processus que dans qu'en mode full scan ou soit isolés et fragmentés à leur tour. En effectue alors de la MS^n , jusqu'à l'observation d'une perte de signal.

Avec ce mode de fragmentation, aucune fragmentation secondaire ou tertiaire n'est observée puisque les ions produits formés ne sont pas en résonance avec la fréquence d'activation de l'ion précurseur.

L'utilisateur a accès au temps d'activation et à l'énergie de collision normalisée (pourcentage d'énergie de collision en eV), qui sont de l'ordre de 10 ms et 30% en CID.

II.3.2.2.2. Mode de fragmentation HCD

Une particularité de cet instrument est qu'il est possible d'obtenir des spectres MS/MS comparables à ceux obtenus avec l'ESIMS-QqQ, avec le mode de fragmentation HCD (Figure II- 20) [29].

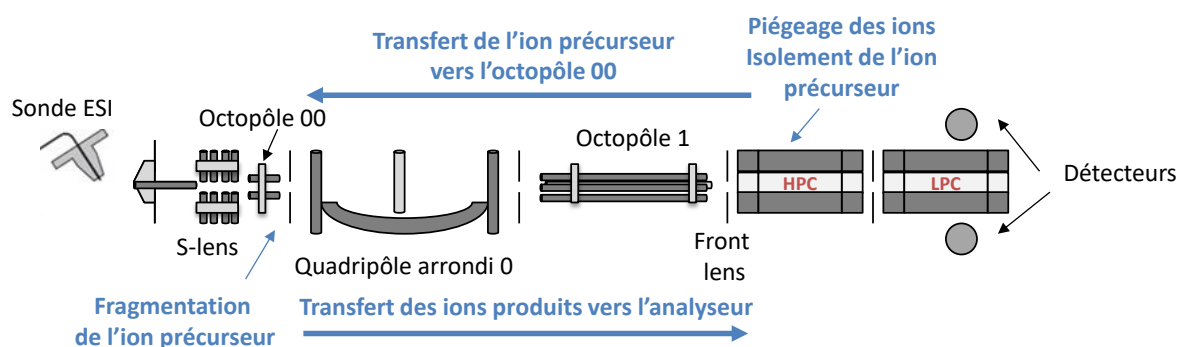


Figure II- 20 : Principe du mode de fragmentation HCD (Adapté de [29])

Les ions sont piégés dans la HPC de l'analyseur comme précédemment, en présence d'hélium, puis l'ion précurseur est isolé et accéléré vers l'octopôle 00 où il se fragmente par collision avec de l'azote, à une énergie plus importante que dans la HPC. Les ions produits formés sont ensuite transférés vers la cellule à haute pression pour être piégés, puis éjectés de la HPC pour être détectés. Avec ce mode de fragmentation, l'énergie de collision normalisée et les temps d'activation sont respectivement de l'ordre de 30% et de 2 ms. L'énergie de collision normalisée est du même ordre de grandeur qu'en mode CID généralement, mais la pression

étant plus élevée dans l'octopôle 00 que dans l'analyseur, des collisions plus importantes ont lieu.

II.4. Paramètres de la source et d'acquisition

II.4.1. Paramètres de la source

Les deux instruments ont la même source HESI-II. La première étape est d'obtenir le signal le plus intense et le plus stable possible. Pour ce faire, les paramètres de la source doivent être ajustés en tenant compte du débit imposé par le mode d'introduction de l'échantillon, c'est-à-dire direct ou en mode couplage chromatographique.

L'optimisation du signal porte sur les paramètres de :

- Source : les conditions de spray (gaz séchant et auxiliaire, la tension de spray et la température du tube de transfert des ions) afin de produire un spray stable et intense.
- Tension appliquée pour fragmenter des adduits
- L'optique ionique : tensions appliquées sur l'optique ionique pour focaliser l'analyte vers l'analyseur.

II.4.2. Paramètres d'acquisition

II.4.2.1. Paramètres d'acquisition communs aux deux ESIMS

Les paramètres communs aux deux instruments sont :

- **Mode d'acquisition : centroïde/profil**

À titre d'exemple, des spectres de masse du complexe Sm-EDTA enregistrés avec les deux modes et en mode d'ionisation négatif, sont illustrés en Figure II- 21 :

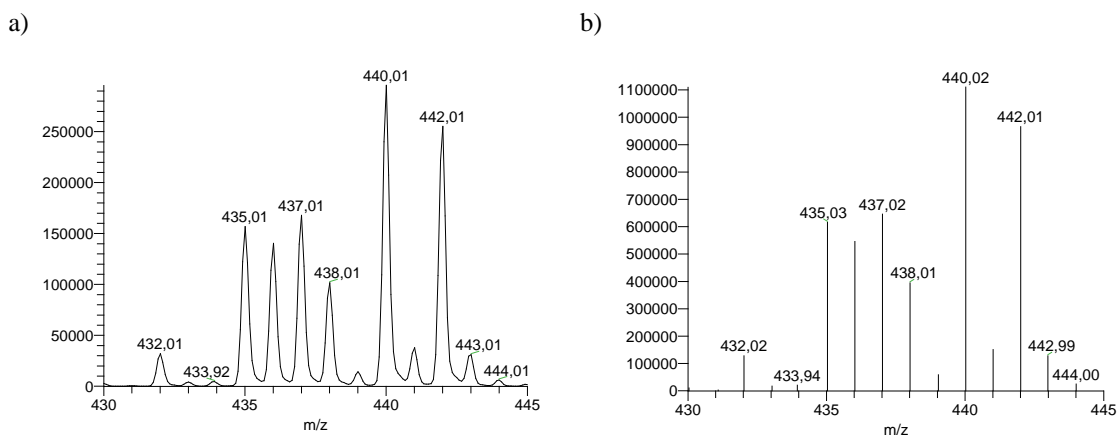


Figure II- 21 : Spectres de masse du Sm-EDTA acquis avec l'ESIMS-LIT en mode a) profil b) centroïde, avec une vitesse de balayage de 33 kDa.s⁻¹ et une résolution de 5300.

Le mode **profil** permet de conserver l'intégralité du pic de masse, sans limite de discrétisation [30]. Le **centroïde** est obtenu par un algorithme qui définit les limites du pic et sa position. Lorsque les pics de masse sont symétriques, les positions des centroïdes sont équivalentes aux positions des maxima locaux.

L'influence du mode d'acquisition sur les mesures de rapports isotopique n'a pas été étudié avec l'ESIMS-QqQ, puisque des précédentes expériences menées au laboratoire ont démontré que le mode centroïde permettait d'obtenir des mesures plus justes et plus répétables qu'en mode profil [31].

- Modes **full scan/SIM** : Ce paramètre a été étudié en raison de la sensibilité plus élevée en mode SIM qu'en mode full scan avec l'ESIMS-QqQ, et d'un éventuel gain de sensibilité en mode SIM avec l'ESIMS-LIT, en raison la détection des ions à l'apex du pic.
- La **gamme de masse d'acquisition** : Plusieurs intervalles de rapports m/z ont été considérés. La gamme de masse d'acquisition maximale est 10-1500 avec l'ESIMS-QqQ et 50-2000 en mode normal avec l'ESIMS-LIT.

II.4.2.2. Paramètres d'acquisition de l'ESIMS-QqQ

Les paramètres d'acquisition de l'ESIMS-QqQ sont les suivants :

- Le **temps de scan** : correspond au temps nécessaire pour balayer la gamme de masse spécifiée. Ce paramètre est un des paramètres susceptible d'avoir un impact sur les mesures de rapports d'abondances. En effet, plus le temps de scan est important, plus le nombre d'ions mesurés sera important. Le temps de scan peut être compris entre 0,01 et 600s.
- Résolution/largeur du pic de masse à mi-hauteur (**FWHM : Full Width at Half Maximum**) : La valeur standard est de 0,7 u, mais elle peut être comprise entre 0,01 et 10 u.
- Le nombre de **micro scans** : un micro scan correspond à une analyse des ions en mode MS ou MS², suivie de la détection des ions. Il est sélectionné par l'utilisateur et est compris entre 1 et 100. Il a été fixé à 1 dans ce travail, valeur standard, puisqu'une étude préliminaire réalisée au laboratoire a permis de démontrer que ce paramètre n'a pas d'influence sur les mesures de rapports isotopiques en accord avec les travaux de Hoegg et al [32].

- Le **nombre de scans** : un scan résulte de la moyenne d'un ou plusieurs micro scan(s). Seules les données associées à chaque scan sont enregistrées. Il n'y a pas de limite maximale pour ce paramètre.

En mode MS/MS, deux paramètres supplémentaires doivent être considérés : la **pression du gaz** dans la cellule de collision et **l'énergie de collision** pour fragmenter avec le meilleur rendement les ions précurseurs. La pression d'argon dans la cellule de collision peut atteindre une valeur de 5 mTorr avec une valeur standard de l'ordre de 1 mTorr. Ce paramètre a été optimisé dans ce travail. L'énergie de fragmentation dépend de la stabilité de l'ion. Elle peut être comprise entre 0 et 200 V.

II.4.2.3. Paramètres d'acquisition de l'ESIMS-LIT

Les autres paramètres d'acquisition de l'ESIMS-LIT sont les suivants :

- **Vitesses de balayage** : Les vitesses de balayage et résolution de l'ESIMS-LIT sont indiquées en Figure II- 22 pour un complexe Ln-acide polyaminocarboxylique, le Sm-EDTA. À chacune, lui est associée une résolution calculée pour m/z 440.

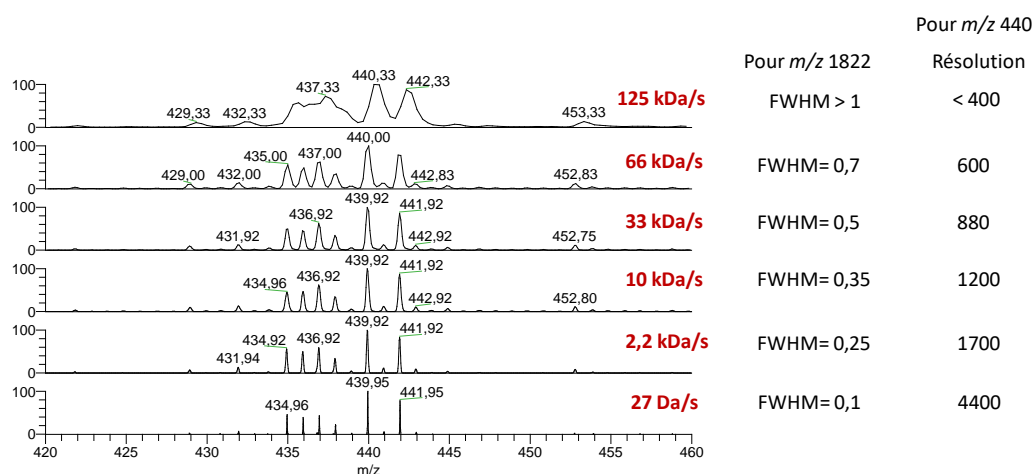


Figure II- 22 : Vitesses de balayage et résolutions associées de l'ESIMS-LIT pour le complexe Sm-EDTA

Plus la vitesse de balayage est lente, plus le temps d'acquisition et la résolution augmentent.

- L'**AGC (Automatic Gain Control)** : est un dispositif qui permet de contrôler le flux d'ions dans l'analyseur, en fixant un nombre d'ions maximal, appelé AGC target et en appliquant des potentiels sur la « front lens » située avant la cellule à haute pression (Figure II- 15). Dans ce travail, les valeurs standards de l'AGC target pour des expériences en mode MS et MS/MS ont été conservées étant donné que la résolution est maximale pour ces valeurs.

- Le **temps d'injection** : c'est la durée d'accumulation des ions dans la cellule à haute pression. Avant un scan analytique, un préscan est réalisé pour déterminer la durée du temps d'injection des ions nécessaire pour atteindre la valeur de l'AGC target fixée (Figure II- 23).

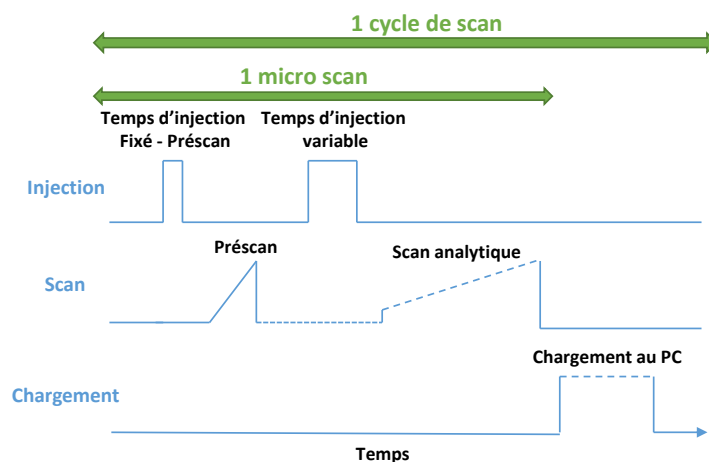


Figure II- 23 : Fonctionnement de l'analyseur

Lors de ce préscan, l'analyseur accumule des ions dans la cellule à haute pression pendant 1 ms. Ils sont ensuite transférés dans la cellule basse pression et éjectés de l'analyseur à une vitesse de balayage de 125 kDa.s^{-1} . Le nombre d'ions collectés en 1 ms permet de déduire la durée du temps d'injection nécessaire aux ions contenus dans l'échantillon pour atteindre l'AGC target lors du scan analytique. L'utilisateur n'a pas accès au temps d'injection, mais il peut indiquer un temps d'injection maximal pour piéger les ions, qui ne peut pas excéder 8000 ms. L'influence de ce paramètre n'a pas été étudié puisque le temps d'injection était inférieur au temps d'injection maximal préconisé par le constructeur pour les expériences en mode MS et MSⁿ.

- **Nombre de micro scans** : un micro scan correspond à l'ensemble des étapes effectuées lors du préscan et du scan analytique, en incluant le temps d'injection des ions (Figure II-23). Dans ce travail, le nombre de micro scan a été fixé à sa valeur standard, à savoir 3, puisqu'une étude préliminaire a démontré que ce paramètre n'avait pas d'influence sur les mesures de rapports isotopiques, en accord avec les travaux de Hoegg et al [32].
- Le **nombre de scans** : un scan résulte de la moyenne d'un ou plusieurs micro scans. Seules les données à chaque scan sont enregistrées (Figure II- 23). Il n'y a pas de limite maximale pour ce paramètre.

En mode MSⁿ, le rapport m/z de l'ion précurseur est sélectionné avec une **largeur d'isolation** de $\pm \Delta m$, définie par l'utilisateur. Elle peut être comprise entre 0,4 u et 100 u. En mode CID, le

paramètre d'activation q_u doit être optimisé pour obtenir le maximum d'ions produit. Sa valeur de q_u est comprise entre 0,01 et 0,90.

L'énergie de collision normalisée appelée **NCE (Normalized Collision Energy)** est comprise entre 0 et 400%. La valeur standard est de 30%. Elle est contrôlée par l'amplitude de la RF dans la cellule haute pression de l'analyseur.

Le **temps d'activation** c'est la durée pendant laquelle le gradient de RF est appliqué sur les différentes valeurs d'activation q excepté pour celle de l'ion précurseur d'intérêt, exprimée en milliseconde. Elle peut être appliquée pendant 0,03 à 60 000 ms. La valeur standard en CID est de 10 ms et de 2 ms en HCD pour des composés organiques.

II.4.2.4. Récapitulatif des paramètres d'acquisition étudiés

Les avantages et inconvénients de l'ESIMS-LIT et l'ESIMS-QqQ sont regroupés dans le Tableau II-2.

Tableau II- 2 : Avantages et inconvénients de l'ESIMS-QqQ et de l'ESIMS-LIT

| | QqQ | LIT |
|----------------------|---|---|
| Avantages | <p>Possibilité MS² : 4 types de balayages : ions produits, SRM ou MRM, Ions Précurseurs, Perte de neutre</p> <p>Diverses expériences possibles simultanément</p> <p>MRM très sélectif pour quantification dans une approche ciblée</p> | <p>Appareils sensibles</p> <p>Possibilité de MSⁿ</p> <p>Possibilité de réactions induites par collision</p> <p>Grandes vitesses de balayage</p> <p>Très adaptée pour l'identification</p> |
| Inconvénients | <p>Basse résolution</p> <p>Basse énergie de collision</p> <p>Spectres parfois peu reproductibles</p> | <p>Basse résolution</p> <p>Basse énergie de collision</p> <p>Nombre d'ions limité dans l'analyseur : problème de charge d'espace</p> <p>Type de balayage : ion produit uniquement</p> <p>Gamme de masse limitée en MS/MS</p> <p>Pas différentes expériences simultanément</p> |

En considérant les caractéristiques des deux analyseurs, les paramètres d'acquisition qui seront étudiés lors de la mise au point des mesures de rapports d'abondances par ESIMS sont récapitulés dans le Tableau II- 33.

Tableau II- 3 : Paramètres d'acquisition étudiés avec les deux ESIMS

| Paramètres d'acquisition | ESIMS-QqQ | ESIMS-LIT |
|--|---|---|
| Mode MS | Fixé lors de travaux précédents : centroïde | Mode d'acquisition centroïde/profil |
| | Full scan /SIM | |
| | Gamme de masse | |
| | Nombre de scans | |
| | Temps de scan | - |
| | Résolution | - |
| | - | Vitesse de balayage |
| Mode MS² ou MSⁿ | Largeur du pic à mi-hauteur (Q ₁) | Fenêtre d'isolation de l'ion précurseur |

II.5. Détecteur

Les ions provenant de l'analyseur sont dirigés vers le(s) détecteur(s) pour être transformés en un signal mesurable. Les systèmes de détection des deux ESIMS utilisés dans ce travail, sont composés d'une dynode de conversion et d'un multiplicateur d'électrons. La dynode de conversion possède une surface concave, qui est portée à un potentiel de +15kV pour la détection d'anions. Lorsqu'un anion entre en contact avec la surface de la dynode de conversion, des particules secondaires positives sont produites. Celles-ci sont accélérées par un gradient de potentiel et sont envoyés vers le multiplicateur d'électrons. La collision d'un ion avec la surface du multiplicateur d'électrons produit un électron, qui est multiplié en cascade (10^6 à 10^7) pour produire un courant électrique. Ce dernier est amplifié en sortie de détecteur et est converti en un signal analogique pour réaliser le traitement du signal adapté à l'enregistrement de spectres de masse.

III. La spectrométrie de masse à source plasma à couplage inductif

III.1. Principe général de l'ICPMS-Q

La spectrométrie de masse à source d'ionisation à plasma à couplage inductif (ICPMS) permet l'analyse élémentaire et isotopique d'échantillons liquides à de très faibles niveaux d'incertitudes et à de très faibles limites de détection de l'ordre du ppt (pg/g), notamment en raison des rendements d'ionisation très élevées obtenus grâce à la source plasma. Ces performances analytiques en font l'une des techniques de référence en analyse inorganique. Dans ce travail, un ICPMS à filtre de masse quadripolaire a été utilisé pour la réalisation du couplage simultané HILIC-ESIMS/ICPMS en laboratoire conventionnel et l'obtention de

données élémentaires et isotopiques de référence. Cet instrument comprend un système d'introduction de l'échantillon, une torche à plasma, un système d'extraction et de focalisation des ions, un analyseur et un détecteur (Figure II-24).

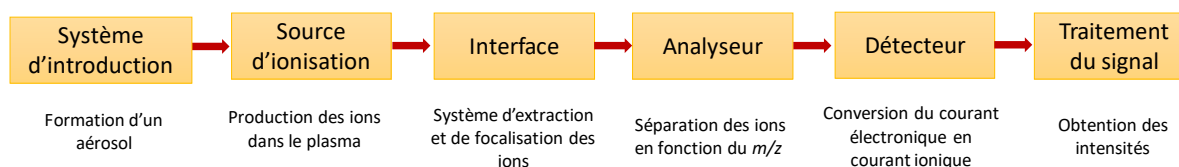


Figure II- 24 : Schéma de principe de l'ICPMS [33].

L'instrument utilisé au cours de ce travail est un ICPMS à filtre de masse quadripolaire (ICPMS-Q) X Série II (Thermo Fisher).

III.2. Fonctionnement de l'ICPMS-Q

III.2.1. Système d'introduction de l'échantillon

Un aérosol est généré par l'interaction d'un échantillon liquide avec le gaz de nébulisation (souvent de l'argon) dans le nébuliseur. Les gouttelettes les plus fines (de diamètre inférieur à 10 μm) sont ensuite sélectionnées dans une chambre de nébulisation (de type cyclonique dans cette étude) avant d'être envoyées vers la torche à plasma décrite ci-après.

III.2.2. Source d'ionisation

Le principe de fonctionnement de cette source d'ionisation est basé sur la formation d'un plasma à pression atmosphérique, obtenu par couplage inductif entre un champ électromagnétique radiofréquence et le flux d'argon dans lequel l'échantillon est introduit sous forme d'aérosol (Figure II- 25).

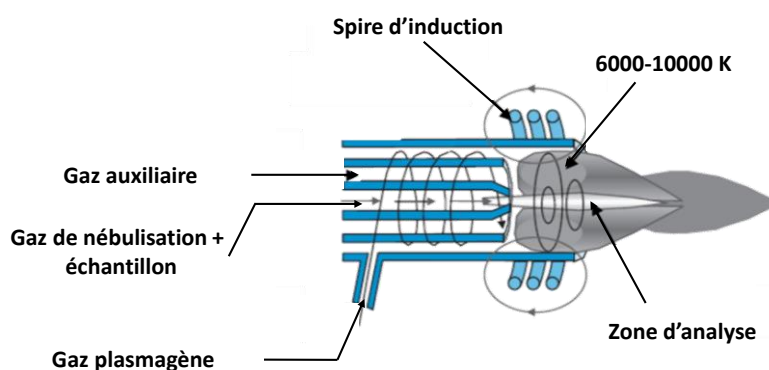


Figure II- 25 : Schéma de principe d'une source en ICPMS (Adapté de [34])

Le champ électromagnétique est obtenu à l'aide d'un générateur radiofréquence (1400W, 27, 12 MHz) relié une spire d'induction métallique située autour de la torche. L'ionisation est déclenchée par une décharge électrique produisant les premiers électrons [34]. Le plasma ainsi

obtenu permet d'ioniser efficacement la plupart des éléments chimiques du fait du potentiel de première ionisation élevé de l'argon (15,76 eV) et d'obtenir essentiellement des cations monochargés dans le cas des lanthanides (Ln^+). Dans le plasma, l'analyte est vaporisé, atomisé et ionisé à une température comprise entre 6000 et 10 000 K. La torche à plasma comprend 3 tubes concentriques [34] :

- Un **tube central**, nommé injecteur, dans lequel l'échantillon est transporté sous forme d'aérosol par le gaz de nébulisation à un débit de l'ordre d' $1 \text{ L}\cdot\text{min}^{-1}$.
- Un **tube intermédiaire**, situé autour de l'injecteur, conduit le gaz auxiliaire, notamment de l'argon à un débit de 0,5 à $2 \text{ L}\cdot\text{min}^{-1}$. Ce gaz permet de positionner le plasma formé par rapport la spire d'induction et à l'extrémité de l'injecteur. .
- Un **tube extérieur** permettant d'amener tangentiellement le gaz plasmagène ou de refroidissement, à un débit de l'ordre de $14 \text{ L}\cdot\text{min}^{-1}$, dont la fonction est de confiner le plasma et de refroidir la torche.

III.2.3. Système d'extraction et de focalisation des ions

Les ions formés dans le plasma sont introduits dans le spectromètre de masse par l'intermédiaire d'une interface, qui a deux fonctions : réduire la température de 6000-10 000 K au niveau du plasma à une température proche de la température ambiante et passer de la pression atmosphérique à une pression de l'ordre de 10^{-9} bars. L'interface est composée de deux cônes, le cône échantillonneur et le cône écrêteur (Figure II- 26).

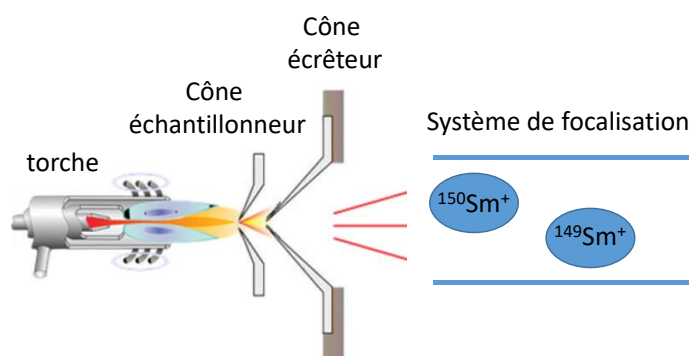


Figure II- 26 : Interface avec système d'extraction et de focalisation des ions (Adaptée de [35])

L'échantillonneur ou sampler permet d'extraire les ions du plasma. Ce cône est constitué d'un matériau de forte résistance thermique et avec une réactivité chimique limitée. Il est généralement en nickel ou en platine, avec un orifice central d'un diamètre de l'ordre de 1 mm, qui permet de passer de la pression atmosphérique à une pression de 10^{-3} bars à l'aide d'une pompe primaire [34]. En aval de l'orifice de ce cône, un jet supersonique se produit dans la chambre d'expansion située entre les cônes.

L'écrêteur appelé également écorceur ou skimmer, a pour rôle de prélever le centre du jet supersonique et de transmettre les ions vers l'analyseur dans une chambre où le vide est de l'ordre de 10^{-9} bars. Ce cône est fabriqué avec le même matériau que l'échantillonneur, mais possède un orifice plus petit, compris entre 0,4 et 0,9 mm de diamètre. Les ions sont ensuite focalisés vers l'analyseur par des lentilles électrostatiques.

III.2.4. Analyseur et détecteur

Comme indiqué précédemment, l'analyseur utilisé est ici un quadripôle. Son principe de fonctionnement est identique à celui décrit pour l'ESIMS-QqQ. Le quadripôle agit comme un filtre permettant de stabiliser un seul rapport m/z à la fois. La détection des ions est réalisée avec un multiplicateur d'électrons à dynodes discrètes à deux étages, utilisable en mode comptage d'impulsions ioniques ou en mode analogique lorsque l'intensité du signal est supérieure à 2 millions de coups environ. Dans cette étude, seul le mode comptage sera utilisé lors du couplage HILIC-ICPMS-Q. L'acquisition séquentielle des courants d'ions des isotopes d'intérêt ainsi produits permettra la réalisation de mesures élémentaires et isotopiques de précision sur les lanthanides sélectionnés.

Références :

- [1] <https://www.phenomenex.com/Kinetex/CoreShellTechnology>, consulté le 01/10/2018.
- [2] http://chromanik.co.jp/en/product/CoreShell_en.html, consulté le 01/10/2018.
- [3] http://www.waters.com/waters/fr_FR/The-Promise-of-Small-Particles/nav.htm?cid=134804750&locale=fr_FRs., consulté le 01/10/2018.
- [4] Mattrey F. T., Makarov A. A., Regalado E. L., Bernardoni F., Figus M., Hicks M. B., *et al.*, "Current challenges and future prospects in chromatographic method development for pharmaceutical research," *TrAC, Trends Anal. Chem.*, 95, (2017), 36-46.
- [5] Fekete S., Schappler J., Veuthey J.-L., Guillaume, D., "Current and future trends in UHPLC," *TrAC, Trends Anal. Chem.*, 63, (2014), 2-13.
- [6] de Villiers A., Lestremau F., Szucs R., Gelebart S., David F., Sandra P., "Evaluation of ultra performance liquid chromatography. Part I. Possibilities and limitations," *J Chromatogr A*, 1127, (2006), 60-69.
- [7] Lippert J. A., Xin B., Wu N., Lee M. L., "Fast ultrahigh-pressure liquid chromatography: On-column UV and time-of-flight mass spectrometric detection," *J. Microcolumn Sep.*, 11, (1999), 631-643.
- [8] De Vos J., Broeckhoven K., Eeltink S., "Advances in Ultrahigh-Pressure Liquid Chromatography Technology and System Design," *Anal Chem*, 88, (2016), 262-78.
- [9] Horvath, C., Lipsky, S., "Column design in high pressure liquid chromatography," *J. Chromatogr. Sci.*, 7, (1969), 109-116.
- [10] Kirkland J. J., "Controlled surface porosity supports for high-speed gas and liquid chromatography," *Analytical Chemistry*, 41, (1969), 218-220.
- [11] González-Ruiz V., Olives A. I., Martín M. A., "Core-shell particles lead the way to renewing high-performance liquid chromatography," *TrAC, Trends Anal. Chem.*, 64, (2015), 17-28.
- [12] Guiochon G., Gritti F., "Shell particles, trials, tribulations and triumphs," *J. Chromatogr. A*, 1218, (2011), 1915-1938.
- [13] Kirkland J. J., Langlois T. J., Wang O., "Porous silica microsphere scavengers," ed: Google Patents, (2006).
- [14] Tanaka N., McCalley D. V., "Core-Shell, Ultrasmall Particles, Monoliths, and Other Support Materials in High-Performance Liquid Chromatography," *Anal. Chem.*, 88, (2016), 279-298.
- [15] <https://phenomenex.blob.core.windows.net/documents/e738383f-1b49-4976-bbb4-d96feff4690f.pdf>, consulté le 01/10/2018.
- [16] Hetzel T., Loeker D., Teutenberg T., Schmidt T. C., "Characterization of the efficiency of microbore liquid chromatography columns by van Deemter and kinetic plot analysis," *J Sep Sci*, 39, (2016), 3889-3897.
- [17] Shaaban H., Górecki T., "Fused core particles as an alternative to fully porous sub-2 μm particles in pharmaceutical analysis using coupled columns at elevated temperature," *Analytical Methods*, 4, (2012), 2735-2743.
- [18] DeStefano J. J., Boyes B. E., Schuster S. A., Miles W. L., Kirkland J. J., "Are sub-2 μm particles best for separating small molecules ? An alternative," *J. Chromatogr. A*, 1368, (2014), 163-172.
- [19] Cabooter D., Lestremau F., Lynen F., Sandra P., Desmet G., "Kinetic plot method as a tool to design coupled column systems producing 100,000 theoretical plates in the shortest possible time," *J. Chromatogr. A*, 1212, (2008), 23-34.

- [20] Cunliffe J. M., Maloney T. D., "Fused-core particle technology as an alternative to sub-2- μm particles to achieve high separation efficiency with low backpressure," *J Sep Sci*, 30, (2007), 3104-3109.
- [21] Walter T. H., Andrews R. W., "Recent innovations in UHPLC columns and instrumentation," *TrAC, Trends Anal. Chem.*, 63, (2014), 14-20.
- [22] Yamashita M., Fenn J. B., "Electrospray ion source. Another variation on the free-jet theme," *The Journal of Physical Chemistry*, 88, (1984), 4451-4459.
- [23] "Manuel de l'ESIMS-QqQ TSQ Quantum," *Unity Lab Services - Thermo Fisher Scientific*, 2-134.
- [24] Vinh J., "Etude et caractérisation structurale de modifications post-traductionnelles de la tubuline par spectrométrie de masse : la polyglycylation et la polyglutamylolation," Université Pierre et Marie Curie-Paris VI, (1999), 1-265.
- [25] Rayleigh L., "On the equilibrium of liquid conducting masses charged with electricity," *The London, Edinburgh, and Dublin Philosophical Magazine and Journal of Science*, 14, (1882), 184-186.
- [26] Gomez A., Tang K., "Charge and fission of droplets in electrostatic sprays," *Physics of Fluids*, 6, (1994), 404-414.
- [27] Gamero-Castano M., de la Mora J. F., "Mechanisms of electrospray ionization of singly and multiply charged salt clusters," *Analytica Chimica Acta*, 406, (2000), 67-91.
- [28] Dass C., *Fundamentals of contemporary mass spectrometry* vol. 16: John Wiley & Sons, (2007).
- [29] "Manuel de l'ESIMS LTQ Velos Pro," *Unity Lab Services - Thermo Fisher Scientific*, 1-147.
- [30] Urban J., Afseth N. K., Štys D., "Fundamental definitions and confusions in mass spectrometry about mass assignment, centroiding and resolution," *TrAC, Trends Anal. Chem.*, 53, (2014), 126-136.
- [31] Beuvier L., "Développement d'une méthode de séparation chromatographique couplée aux spectrométries de masse à source d'ionisation électrospray (ESI-MS) et à source plasma à couplage inductif (ICP-MS) : application à l'analyse de spéciation des lanthanides," Université Pierre et Marie Curie-Paris VI, (2015), 1-243.
- [32] Hoegg E. D., Barinaga C. J., Hager G. J., Hart G. L., Koppelaar D. W., Marcus R. K., "Isotope ratio characteristics and sensitivity for uranium determinations using a liquid sampling-atmospheric pressure glow discharge ion source coupled to an Orbitrap mass analyzer," *J. Anal. At. Spectrom.*, 31, (2016), 2355-2362.
- [33] Potin-Gautier M., Casiot C., "Couplage HPLC-ICP-MS et application à la spéciation," *Techniques de l'ingénieur. Analyse et caractérisation*, 5, (2001), 1-13.
- [34] Paucot H., Potin-Gautier M., "ICP-MS: couplage plasma induit par haute fréquence-spectrométrie de masse": *Techniques de l'Ingénieur*, (2010), 1-15.
- [35] Pröfrock D., Prange A., "Inductively Coupled Plasma-Mass Spectrometry (ICP-MS) for quantitative analysis in environmental and life sciences: a review of challenges, solutions, and trends," *Appl. Spectrosc.*, 66, (2012), 843-868.

Chapitre III

Séparation des complexes Ln-
acides polyaminocarboxyliques
par HILIC : approches pour
réduire les volumes d'effluents

I. Introduction

La chimie analytique verte connaît depuis ces dernières années un grand intérêt, en adéquation avec le concept des 3R : réduire, remplacer, recycler [1]. Cette discipline encourage les utilisateurs à remplacer les solvants toxiques par des alternatives plus vertes et/ou à réduire les volumes d'effluents générés lors des procédures analytiques. Pour les applications nucléaires, elle est d'un intérêt majeur puisqu'elle permet de limiter l'exposition du personnel aux irradiations en diminuant le temps d'exposition, les volumes d'effluents et d'échantillons radioactifs. Les coûts associés aux installations et aux traitements des déchets en sont ainsi diminués. Cette démarche a été initiée lors de précédents travaux dédiés à la mise au point des conditions de séparation des complexes de Ln-acides polyaminocarboxyliques par chromatographie d'interaction hydrophile (HILIC : Hydrophilic Interaction LIquid Chromatography), dans le cadre de l'analyse de spéciation des lanthanides (Ln) pour les procédés de traitement de combustibles nucléaires usés [2]. Cette étude a permis de sélectionner une combinaison phase stationnaire (PS) / phase mobile (PM) : PS fonctionnalisée par des groupements amide / PM : 70/30 acétonitrile/eau (v/v) 15 mM acétate d'ammonium 0,5 % d'acide formique.

Afin de réduire les volumes d'effluents des séparations HILIC précédemment mises au point, tout en conservant l'efficacité et la vitesse de séparation des complexes de Ln, deux approches chromatographiques dites « éco-responsables » ont été entreprises dans cette partie [3]. La première approche consiste à réduire les paramètres géométriques (longueur L, diamètre interne d_c) des colonnes remplies de particules entièrement poreuses (FPP : Fully Porous Particles) ainsi que la granulométrie des particules (d_p) à un diamètre inférieur à 2 μm (sub-2- μm). La seconde approche consiste à employer des colonnes remplies de particules superficiellement poreuses (SPP : Superficially Porous Particles) [4]. Ces deux technologies représentent une avancée majeure dans les techniques chromatographiques depuis ces dernières années, motivées par les besoins croissants dans de nombreux secteurs industriels d'analyses à haut débits, de séparations rapides et efficaces et/ou à ultra très haute résolution (Figure III- 1) [5, 6]. La majorité de leurs applications réside néanmoins dans l'analyse de composés organiques par chromatographie de partage à polarité de phases inversée (RPLC : Reversed Phase Liquid Chromatography) [7].

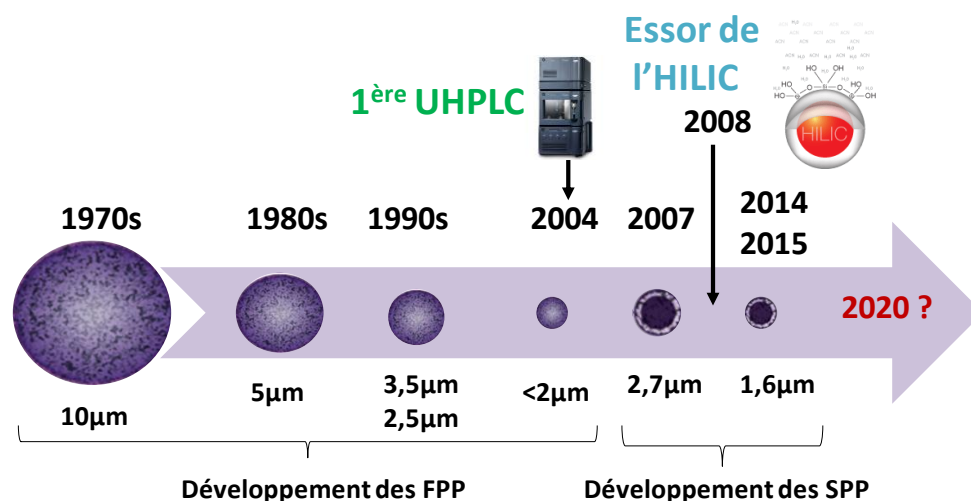


Figure III- 1 : Evolution des technologies de particules utilisées en chromatographie (Adapté de [5, 8]).

Bien que le mode HILIC soit adapté à des séparations pour l'analyse de spéciation, les applications de l'HILIC dans ce domaine sont encore limitées, malgré l'essor que connaît ce mode de séparation dans de nombreux domaines depuis une dizaine d'années (Figure III- 1).

Les séparations par HILIC développées pour l'analyse de spéciation des Ln décrites dans le chapitre I, sont très majoritairement réalisées avec des colonnes remplies de FPP de diamètre supérieur à 3 µm, fonctionnalisées par des groupements zwitterionique et dans une moindre mesure par des groupements diol [9, 10]. À notre connaissance, et en excluant nos précédents travaux, des colonnes remplies de FPP sub-2-µm ont été utilisées dans une seule étude de spéciation [11], bien que de nombreuses phases stationnaires polaires ont été développées avec cette technologie depuis son introduction commerciale en 2004 [12, 13]. Par ailleurs, la seule séparation par HILIC impliquant la technologie core-shell pour l'analyse de spéciation, a été réalisée avec une colonne remplie de SPP de silice vierge [14]. Par conséquent, les technologies FPP sub-2-µm et SPP sont très peu utilisées pour les études de spéciation faisant appel à des séparations par HILIC.

Dans ce travail, des phases stationnaires à fonction amide, de différents diamètres et longueurs, remplies de FPP de 3,5 µm et sub-2-µm, ainsi que des colonnes remplies de SPP sub-3-µm, ont été évaluées pour la séparation par HILIC de complexes Ln-acides polyaminocarboxyliques contenus dans des échantillons modèles représentatifs des phases aqueuses des procédés de traitement du combustible usé. Les conditions menant au meilleur compromis entre résolution, efficacité, rapidité de séparations et volumes d'effluents, ont permis de sélectionner la meilleure technologie pour nos applications. Différentes approches pour améliorer la résolution sont ensuite décrites. Ces expériences ont été réalisées en laboratoire conventionnel en couplant les

séparations à la spectrométrie de masse à source d'ionisation électrospray (ESIMS : ElectroSpray Ionisation Mass Spectrometry).

II. Matériels et Méthodes

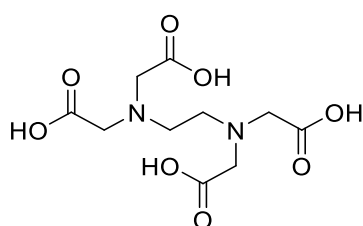
Cette partie est dédiée à la description des échantillons modèles et au rappel des règles de réduction d'échelle pour le mode d'élution isocratique. Les spectres de masse extraits des pics chromatographiques, permettant d'identifier les complexes de Ln sont également décrits.

II.1. Echantillons modèle

Des échantillons modèles représentant les phases aqueuses de desextraction de procédés de traitements de combustibles usés ont été considérés. Ils ont été ajustés à un pH de 3,2 et comportent :

- des **Ln** au degré d'oxydation +III permettant à la fois de simuler les actinides (+III) et d'étudier la spéciation des Ln, notamment dans les phases finales de récupération des actinides, où ils sont susceptibles d'être à l'état de traces.
- des **acides polyaminocarboxyliques** tels que l'acide Ethylène Diamine Tétra Acétique (EDTA) et l'acide Diéthylène Triamine Penta Acétique (DTPA), utilisés comme agents complexants forts dans les phases aqueuses de procédés de traitement (Figure III- 2).

a)



b)

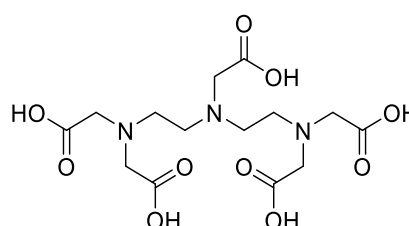


Figure III- 2 : Structure chimique a) de l'EDTA b) du DTPA

Trois échantillons modèles ont été considérés pour cette étude et ont été systématiquement analysés avec les différentes colonnes. Leur composition est décrite ci-après :

- **Echantillon modèle 1** : Il est composé de néodyme (Nd) et de samarium (Sm), et de 2 ligands : EDTA et DTPA (Figure III- 3).

| | | | | | | | | | | | | | | | |
|----------|--------|------------|---------|------------|-------|----------|----------|------------|---------|------------|---------|--------|---------|----------|----------|
| 57 | 58 | 59 | 60 | 61 | (145) | 62 | 63 | 64 | 65 | 66 | 67 | 68 | 69 | 70 | 71 |
| La | Ce | Pr | Nd | Pm | | Sm | Eu | Gd | Tb | Dy | Ho | Er | Tm | Yb | Lu |
| LANTHANE | CÉRIUM | PRASÉODYME | NÉODYME | PROMÉTHIUM | | SAMARIUM | EUROPIUM | GADOLINIUM | TERBIUM | DYSPROSIUM | HOLMIUM | ERBIUM | THULIUM | YTTÉRIUM | LUTÉTIUM |

Figure III- 3 : Ln contenus dans l'échantillon modèle 1

Cet échantillon a été défini en raison des interférences isobariques naturelles entre le Nd et le Sm aux rapports masse/charge m/z 144, m/z 148 et m/z 150, interférences également rencontrées dans les échantillons de combustibles irradiés. Ces interférences sont présentes au niveau des complexes Ln-EDTA aux rapports m/z 432, m/z 436 et m/z 438 et au niveau des complexes Ln-DTPA, aux rapports m/z 533, m/z 537 et m/z 539. Afin de pouvoir analyser la spéciation du Sm et du Nd, ces interférences doivent être levées et donc les espèces être séparées. Par ailleurs, lors du développement de procédés de traitement de combustibles usés en laboratoire conventionnel, le Nd est sélectionné comme analogue de l'américium et le Sm celui du curium.

- **Echantillon modèle 2** : Il contient du néodyme (Nd), de l'europtium (Eu), du gadolinium (Gd), de l'erbium (Er) et de 2 ligands : EDTA et DTPA (Figure III- 4).

| | | | | | | | | | | | | | | |
|-----------|-----------|------------|-----------|------------|-----------|-----------|------------|-----------|------------|-----------|-----------|-----------|-----------|-----------|
| 57 138.91 | 58 140.12 | 59 140.91 | 60 144.24 | 61 (145) | 62 150.36 | 63 151.96 | 64 157.25 | 65 158.93 | 66 162.50 | 67 164.93 | 68 167.26 | 69 168.93 | 70 173.05 | 71 174.97 |
| La | Ce | Pr | Nd | Pm | Sm | Eu | Gd | Tb | Dy | Ho | Er | Tm | Yb | Lu |
| LANTHANE | CÉRIUM | PRASEODYME | NÉODYME | PROMÉTHIUM | SAMARIUM | EUROPIUM | GADOLINIUM | TERBIUM | DYSPROSIUM | HOLMIUM | ERBIUM | THULIUM | YTTÉRIUM | LUTÉTIUM |

Figure III- 4 : Ln contenus dans l'échantillon modèle 2

Le Nd et l'Er ont été sélectionnés afin de représenter respectivement les Ln légers et lourds. L'Eu et le Gd correspondent par ailleurs au couple de Ln dont la séparation chromatographique est connue comme étant critique [15]. De plus, Eu et Gd présentent des interférences isobariques aux rapports m/z 152, m/z 154 et m/z 155 dans des échantillons issus de combustibles irradiés et leur caractérisation isotopique précise présente un intérêt majeur pour les problématiques de Credit Burn Up et de sureté radiologique [16]. Les complexes Ln-EDTA et Ln-DTPA comportant ces éléments auront donc des interférences aux rapports m/z 440, m/z 442, m/z 443, m/z 533, m/z 537 et m/z 539.

- **Echantillon modèle 3** : Il comprend de l'EDTA et l'ensemble des Ln hormis le prométhium qui ne présente pas d'isotopes stables.

Outre un intérêt dans le domaine du nucléaire, les Ln sont de plus en plus employés dans les technologies modernes pour fabriquer des aimants permanents pour les éoliennes, des supraconducteurs, des fibres optiques, des batteries rechargeables, des catalyseurs, des écrans TV, des téléphones portables...[17]. De par leur utilisation intensive, les Ln sont de plus en plus retrouvés dans l'environnement et dans la chaîne alimentaire [18, 19]. La séparation de la série des Ln et des espèces associées est par conséquent intéressante pour le suivi et l'analyse de spéciation des Ln présents à l'état de trace dans

l'environnement mais également pour les procédés de recyclage. Actuellement, seulement 1% des Ln sont recyclés [18].

La préparation des échantillons est décrite en Annexe 1 partie 3. Les ligands ont été introduits en excès par rapport aux lanthanides avec un rapport $L_{nT} : L_T = 1 : 1,25$, avec L_{nT} : totalité des Ln et L_T : totalité des ligands pour les échantillons modèles 1 et 2 et un rapport $L_{nT} : L_T = 1 : 1,6$ pour l'échantillon modèle 3, afin de complexer la totalité de Ln. Le détail des proportions et concentrations est le suivant (Tableau III- 1) :

Tableau III- 1 : Echantillons injectés en HILIC-ESIMS

| Echantillon modèle | Proportion | Concentration |
|--------------------|--|--|
| 1 | $L_{nT} : EDTA : DTPA \ 2 : 1,75 \ 0,75$ | $[Ln]_T = 10^{-4} \text{ mol.L}^{-1}$ |
| 2 | $L_{nT} : EDTA : DTPA \ 2 : 1,75 \ 0,75$ | $[Ln]_T = 10^{-4} \text{ mol.L}^{-1}$ |
| 3 | $L_{nT} : EDTA \ 1 : 1,6$ | $[Ln]_T = 5 \times 10^{-5} \text{ mol.L}^{-1}$ |

Les constantes de formation des complexes Ln-DTPA étant supérieures à celles des complexes Ln-EDTA, le DTPA est introduit en défaut par rapport aux Ln afin de favoriser la formation des complexes Ln-EDTA.

II.2. Règles de réduction d'échelles géométriques pour le mode d'élution isocratique

Pour conserver la résolution entre les pics chromatographiques lors de la réduction des dimensions des colonnes et du diamètre des particules, il est nécessaire de maintenir le rapport L/d_p constant, avec L représentant la longueur de la colonne et d_p le diamètre des particules. Il est également primordial de conserver la vitesse de séparation des espèces (v) puisqu'elle est indépendante de la géométrie de la colonne et du débit de phase mobile (Eq. III- 1).

$$v = \frac{u \times d_p}{D_m} \quad (\text{Eq. III- 1})$$

Avec u : vitesse linéaire, D_m : coefficient de diffusion du soluté dans la phase mobile, d_p : diamètre des particules.

La valeur de D_m étant identique pour les deux colonnes puisqu'elle est associée au soluté, le produit $u \times d_p$ doit par conséquent être constant. Pour répondre au critère $u \times d_p = \text{constante}$, les règles de réduction d'échelle pour le mode d'élution isocratique ont été appliquées [20]. Elles permettent de calculer, à partir du débit de la phase mobile et du volume d'injection appliqués pour une colonne de géométrie et de taille de particules données, le débit de phase mobile et le volume d'injection pour la nouvelle colonne de dimensions inférieures (Eq. III-2 et 3). Dans

toutes les équations, l'indice 1 désignera les paramètres chromatographiques pour la colonne initiale et l'indice 2 ceux de la nouvelle colonne.

- **Débit de phase mobile**

Le débit D_2 pour la colonne 2 est calculé à partir du débit de phase mobile D_1 appliqué avec la colonne 1, du diamètre interne des colonnes (d_c) et de d_p (Eq. III-2) :

$$D_2 = D_1 \times \frac{d_{c2}^2}{d_{c1}^2} \times \frac{d_{p1}}{d_{p2}} \quad (\text{Eq. III- 2})$$

- **Volume d'injection (V_{inj})**

Le volume d'échantillon à injecter est ré-évalué afin d'obtenir toujours le même niveau de sensibilité et éviter des élargissements de pic (Eq. III-3) :

$$V_{inj_2} = V_{inj_1} \times \frac{d_{c2}^2}{d_{c1}^2} \times \frac{L_2}{L_1} \quad (\text{Eq. III- 3})$$

Les gains théoriques apportés en appliquant le débit et le volume d'injection calculés à la nouvelle colonne ont été évalués à partir des paramètres suivants :

- **Temps d'analyse (t)**

Le temps d'analyse dépend de la longueur des deux colonnes et du diamètre des particules. Il est calculé à partir de la relation (Eq. III-4) :

$$t_2 = t_1 \times \frac{d_{p2}}{d_{p1}} \times \frac{L_2}{L_1} \quad (\text{Eq. III- 4})$$

- **Volumes d'effluents ($V_{effluent}$)**

Les volumes d'effluents générés $V_{effluent2}$ avec la colonne 2 peuvent être calculés de deux manières, tout en donnant les mêmes résultats (Eq. III- 5 et 6) :

$$V_{effluent2} = D_2 \times t_2 \quad (\text{Eq. III- 5})$$

$$V_{effluent2} = V_{effluent1} \times \frac{d_{c2}^2}{d_{c1}^2} \times \frac{L_2}{L_1} \quad (\text{Eq. III- 6})$$

Avec $V_{effluent1}$: volumes d'effluents générés avec la colonne initiale

- **Perte de charges (ΔP)**

Elle est calculée à partir de la loi de Darcy (Eq. II-6) :

$$\Delta P = \frac{\eta \Phi L u}{d_p^2} \quad (\text{Eq. II-6})$$

Avec η : viscosité de la phase mobile et Φ : facteur de résistance à l'écoulement

En considérant le rapport des pertes de charges $\Delta P_2/\Delta P_1$, les termes η , Φ et u sont simplifiables puisqu'ils sont identiques pour les deux colonnes. Ce rapport devient (Eq. III- 7) :

$$\Delta P_2 = \Delta P_1 \times \frac{L_2}{L_1} \times \frac{d_{p1}^3}{d_{p2}^3} \quad (\text{Eq. III- 7})$$

- **Efficacité et nombre de plateaux théoriques**

L'efficacité d'une colonne est exprimée par le nombre de plateaux théoriques (N) qui peut être calculée à partir de l'équation III-8 :

$$N = \frac{L}{hd_p} \quad (\text{Eq. III- 8})$$

Avec h : hauteur équivalente à un plateau théorique réduite

Le nombre de plateaux théoriques N_2 obtenue avec la colonne 2 peut être estimé à l'aide de l'équation III-9 :

$$N_2 = N_1 \times \frac{L_2}{L_1} \times \frac{d_{p1}}{d_{p2}} \quad (\text{Eq. III- 9})$$

Cette équation permet de déterminer le nombre de plateaux théoriques avec la colonne de plus petites dimensions à partir de celui obtenu avec la colonne initiale. En pratique, le nombre de plateaux théoriques sera calculé à partir des données expérimentales avec l'équation de Foley-Dorsey décrite en Annexe 2.

II.3. Identification des complexes de Ln par ESIMS

Pour cette étude, l'ESIMS a été utilisé comme détecteur en aval de la séparation chromatographique. Les paramètres de la source d'ionisation ont été optimisés en conditions LC à un débit de 0,07 mL.min⁻¹, 0,15 mL.min⁻¹ et 0,3 mL.min⁻¹ et les spectres de masse ont été acquis en mode MS en full scan et SIM (Annexe 1). Le mode SIM étant plus sensible que le mode full scan, les spectres de masse sont présentés avec ce type de balayage, sauf exception précisée dans la légende. À titre d'exemple, les spectres de masse acquis en mode SIM ont été extraits de chaque pic chromatographique pour identifier les complexes contenus dans l'échantillon modèle 1 (Figure III- 5).

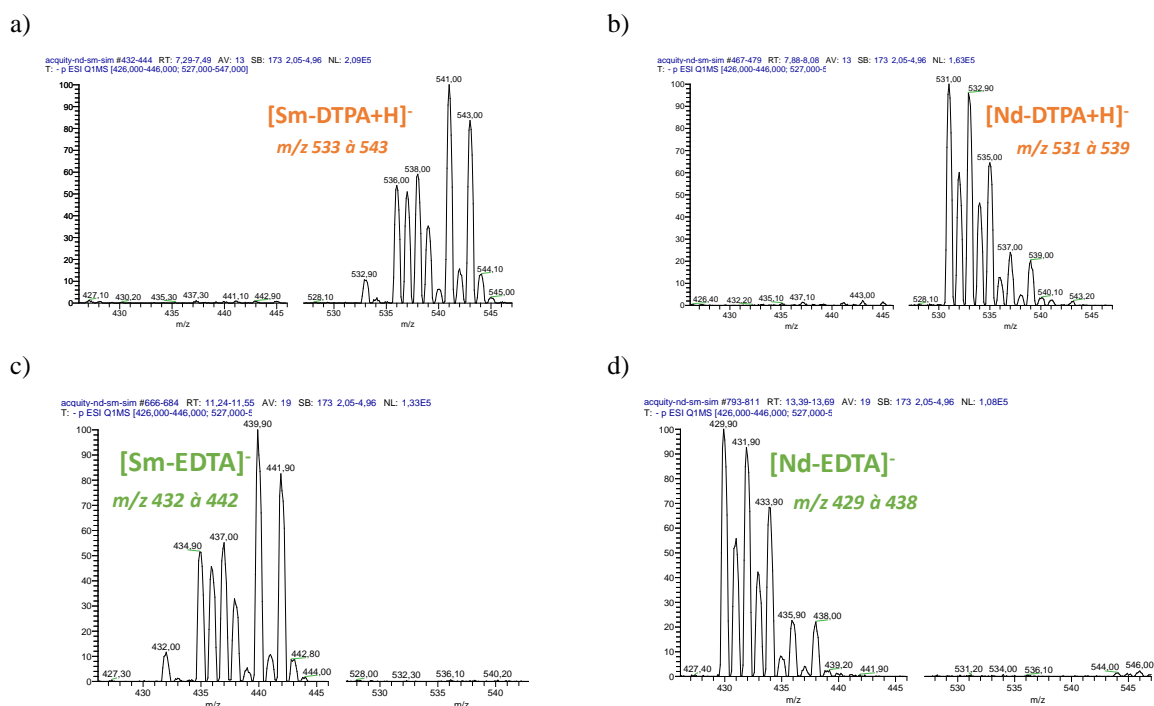


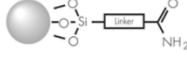
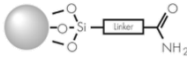
Figure III- 5 : Spectres de masse ESIMS (-) extrait de chaque pic chromatographique et acquis en mode SIM. a) Sm-DTPA, b) Nd-EDTA, c) Sm-EDTA, d) Nd-EDTA. Colonne Acquity (100 × 2,1 mm ; 1,7 μm).

Chaque espèce est identifiée à partir du massif isotopique du Ln et des rapports m/z des ions du complexe de Ln. Les complexes sont tous de stœchiométrie 1:1 et monochargés, correspondant à l'EDTA complexé aux Ln^{3+} sous forme L^{4-} et au DTPA complexé aux Ln^{3+} sous forme HL^{4-} . Ils seront notés Ln-EDTA et Ln-DTPA dans la suite du manuscrit.

III. Approche 1 : Séparation HILIC des complexes Ln-acides polyamino-carboxyliques avec des colonnes remplies de FPP

Les phases stationnaires utilisées dans cette partie sont constituées du même support, hybride et sont fonctionnalisées par les mêmes groupements amide. Leurs caractéristiques sont répertoriées dans le Tableau III- 2.

Tableau III- 2 : Caractéristiques des colonnes remplies de FPP

| Colonnes Fournisseur | Dimensions | Groupe- ment fonctionnel | Support | Surface spécifique ($\text{m}^2\cdot\text{g}^{-1}$) | Taille des pores (Å) | Greffage amide Taux de carbone (%) |
|--------------------------------|--|--|----------------|---|-------------------------|--|
| XBridge BEH Amide Waters | 150 × 2,1 mm, 3,5 μm | Carbomoyl  | hydrate BEH | 182 | 138 | 7,34 μmol.m ⁻² 12% C |
| Acquity BEH Amide Waters | 100 × 2,1 mm, 1,7 μm 100 × 1,0 mm, 1,7 μm | Carbomoyl  | hydrate BEH | 186 | 134 | 7,37 μmol.m ⁻² 12% C |

La séparation des complexes de Ln contenus dans les échantillons 1 et 2 a été mise au point avec une colonne XBridge remplie de FPP $150 \times 2,1 \text{ mm}$; $3,5 \mu\text{m}$ et une phase mobile composée de 70/30 acétonitrile/eau (v/v) 15 mM acétate d'ammonium 0,5 % d'acide formique (Figure III- 6A), lors de précédents travaux [2]. Ces séparations ont été réalisées en mode isocratique au débit optimal de $0,15 \text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$, déterminé avec la courbe de Knox [15]. Toutefois, la séparation des 14 complexes de Ln à ligand EDTA n'avait pas été réalisée dans l'étude précitée et le sera dans ce travail. Les chromatogrammes des trois échantillons modèles obtenus avec la XBridge sont présentés en Figures III-7, 8 et 9.

Dans un premier temps, la longueur de la colonne et la granulométrie des particules ont été réduites en utilisant une colonne Acquity remplie de FPP sub-2- μm de dimensions $100 \times 2,1 \text{ mm}$; $1,7 \mu\text{m}$ (Figure III- 6B).

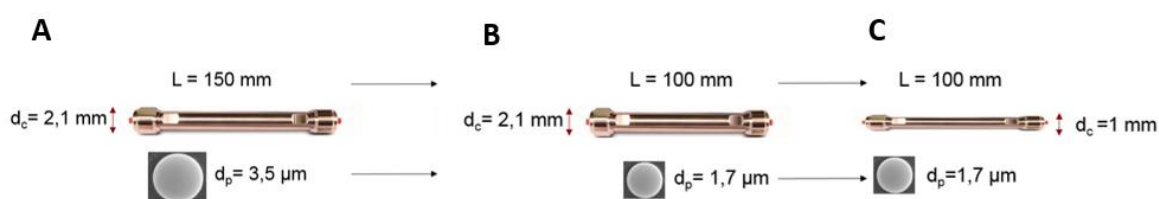


Figure III- 6 : Diminution des paramètres géométriques des colonnes et de la granulométrie des particules : (A) colonne utilisée pour la séparation initiale : XBridge $150 \times 2,1 \text{ mm}$; $3,5 \mu\text{m}$; (B) diminution de d_p et L : Acquity $100 \times 2,1 \text{ mm}$; $1,7 \mu\text{m}$; (C) diminution du d_i : Acquity $100 \times 1,0 \text{ mm}$; $1,7 \mu\text{m}$.

La réduction des paramètres géométriques doit permettre de diminuer le temps d'analyse, les volumes d'échantillons et d'effluents. Les particules sub-2- μm doivent quant à elles conduire à des séparations plus efficaces.

Le débit de phase mobile et le volume d'injection ont été ajustés respectivement à $3 \mu\text{L}$ et $0,3 \text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$ en appliquant les règles de réduction d'échelle (Eq. III-2 et 3) [20]. Les chromatogrammes des trois échantillons modèles obtenus avec la colonne Acquity sont présentés Figures III-7, 8 et 9.

Les volumes d'effluents ont été calculés à partir du débit de phase mobile et du temps à partir duquel l'ensemble des solutés sont élués avec un retour à la ligne de base.

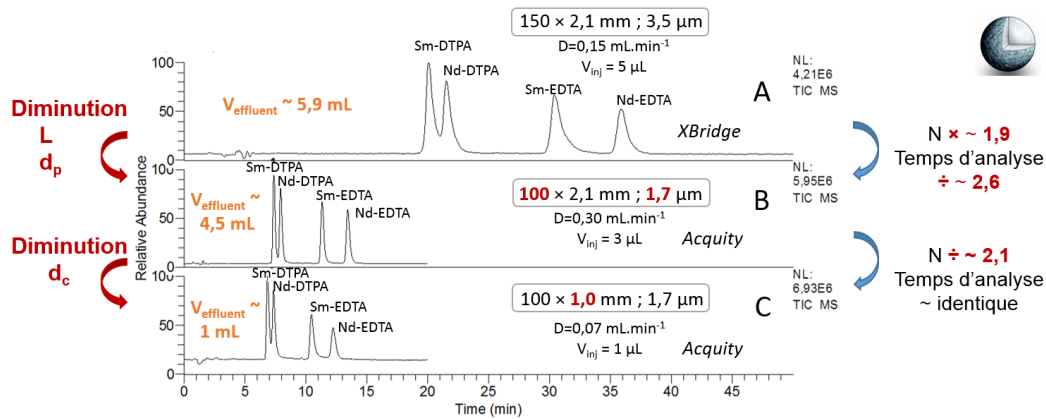


Figure III- 7 : Séparation des complexes de Ln dans l'échantillon modèle 1. Détection par ESIMS en mode SIM avec les gammes de masse d'acquisition 427-447 et 527-547.

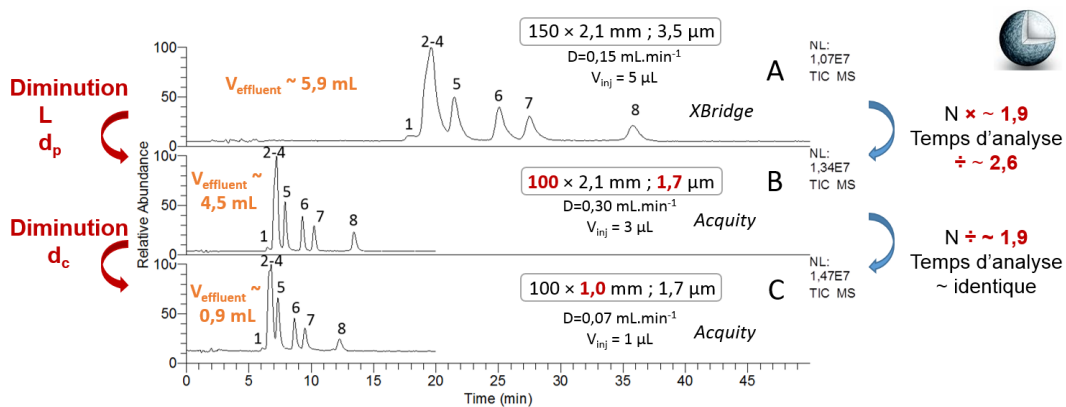


Figure III- 8 : Séparation des complexes de Ln dans l'échantillon modèle 2. (1) Er-DTPA, (2) Gd-DTPA, (3) Eu-DTPA, (4) Er-EDTA, (5) Nd-DTPA, (6) Gd-EDTA, (7) Eu-EDTA, (8) Nd-EDTA. Détection par ESIMS en mode SIM avec les gammes de masse d'acquisition 427-463 et 528-564.

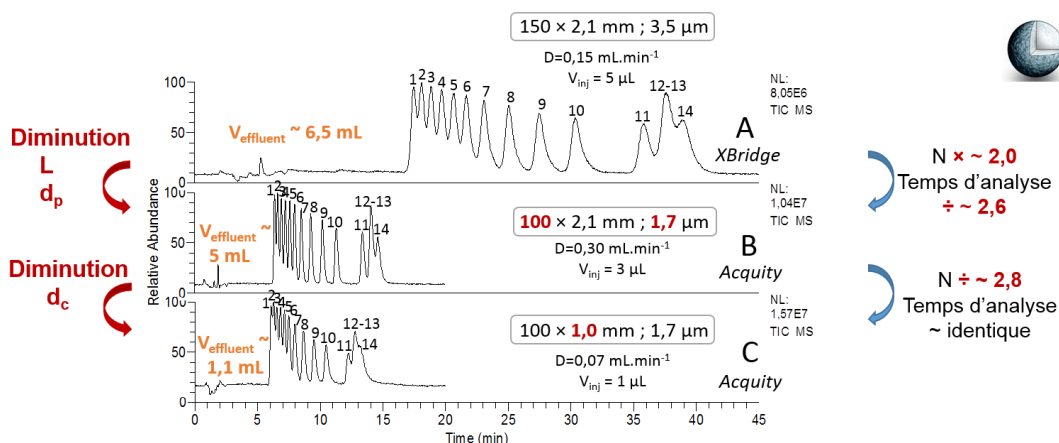


Figure III- 9 : Séparation des complexes de Ln contenus dans l'échantillon modèle 3. Ordre d'élué des complexes Ln-EDTA : (1) Lu, (2) Yb, (3) Tm, (4) Er, (5) Ho, (6) Dy, (7) Tb, (8) Gd, (9) Eu, (10) Sm, (11) Nd, (12) La, (13) Pr, (14) Ce. Détection par ESIMS en mode SIM avec une gamme de masse d'acquisition 421-467.

La résolution, paramètre chromatographique important pour évaluer la qualité d'une séparation, dépend de grandeurs chromatographiques thermodynamiques et cinétiques à savoir du facteur de rétention (k), la sélectivité (α) et le nombre de plateaux théoriques (N), selon la relation de Purnell (Eq. III-10).

$$R_{1,2} = \frac{\sqrt{N_2}}{4} \cdot \frac{\alpha_{1,2} - 1}{\alpha_{1,2}} \cdot \frac{k_2}{1 + k_2} \quad (\text{Eq. III- 10})$$

Avec le soluté 2, plus retenu que le soluté 1, $R_{1,2}$: résolution entre les pics des solutés 1 et 2, $\alpha_{1,2}$: sélectivité entre les solutés 1 et 2, k_2 : facteur de rétention du soluté 2, N_2 : nombre de plateaux théoriques pour le pic du soluté 2.

Les grandeurs k , α et N , définies en Annexe 2, ont été calculées à partir du profil chromatographique de l'ion non interféré le plus abondant de chaque complexe de Ln. Elles sont présentées dans les Tableaux III-3, 4 et 5. Pour appliquer la relation de Purnell, les largeurs à la base des pics doivent être identiques pour les deux pics. N'étant pas le cas pour l'ensemble des pics des complexes de Ln, cette relation n'a donc pas été employée pour calculer la résolution. En raison de l'asymétrie des pics chromatographiques, le facteur de discrimination d_0 a été utilisé pour évaluer la résolution entre les pics au lieu du paramètre classique de résolution R_s . Pour tenir compte de l'asymétrie des pics, El Fallah et Martin ont introduit le facteur de discrimination d_0 [21, 22]. Ce facteur permet d'accéder à la qualité de séparation entre deux pics non résolus ($R_s < 1,5$) en précisant la « profondeur de la vallée » entre les deux pics chromatographiques. Ce facteur est défini par la relation :

$$d_0 = \frac{h_p - h_v}{h_p} \quad (\text{Eq. III- 11})$$

Avec h_p : hauteur du plus petit pic ; h_v : hauteur de la vallée entre les deux pics (Figure III-10).

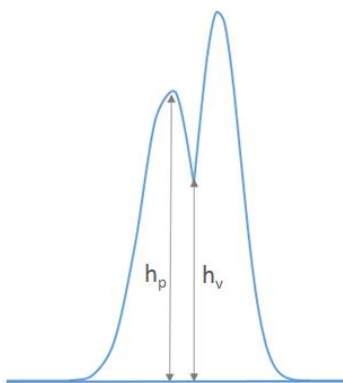


Figure III- 10 : Description de h_p et h_v [21, 22]

Par définition, le facteur de discrimination est compris entre 0 et 1, avec 0 pour des pics confondus et 1 pour un retour à la ligne de base entre les deux pics.

Tableau III- 3 : Données chromatographiques de la séparation des complexes de Ln contenus dans l'échantillon modèle 1.

| Colonne Complexes | k | | | α | | | d_0 | | | N | | |
|----------------------|---------|-------------------|-------------------|----------|-------------------|-------------------|---------|-------------------|-------------------|---------|-------------------|-------------------|
| | Xbridge | Acquity 2,1 mm | Acquity 1,0 mm | Xbridge | Acquity 2,1 mm | Acquity 1,0 mm | Xbridge | Acquity 2,1 mm | Acquity 1,0 mm | Xbridge | Acquity 2,1 mm | Acquity 1,0 mm |
| Sm-DTPA | 8,5 | 8,5 | 8,4 | 1,08 | 1,09 | 1,08 | 0,76 | 0,87 | 0,78 | 1937 | 3392 | 2245 |
| Nd-DTPA | 9,2 | 9,2 | 9,1 | | | | | | | 2382 | 3780 | 2364 |
| Sm-EDTA | 13,5 | 13,5 | 13,3 | 1,46 | 1,47 | 1,47 | 1,00 | 1,00 | 1,00 | 1825 | 4952 | 1763 |
| Nd-EDTA | 16,0 | 16,2 | 15,8 | 1,19 | 1,20 | 1,18 | 1,00 | 1,00 | 1,00 | 4810 | 7447 | 3242 |

Tableau III- 4 : Données chromatographiques de la séparation des complexes de Ln contenus dans l'échantillon modèle 2.

| Colonne Complexes | k | | | α | | | d_0 | | | N | | |
|----------------------|---------|-------------------|-------------------|----------|-------------------|-------------------|---------|-------------------|-------------------|---------|-------------------|-------------------|
| | Xbridge | Acquity 2,1 mm | Acquity 1,0 mm | Xbridge | Acquity 2,1 mm | Acquity 1,0 mm | Xbridge | Acquity 2,1 mm | Acquity 1,0 mm | Xbridge | Acquity 2,1 mm | Acquity 1,0 mm |
| Er-DTPA | 7,5 | 7,4 | 7,4 | 1,08 | 1,09 | 1,08 | 0,21 | 0,42 | 0,2 | - | - | - |
| Gd-DTPA | 8,1 | 8,0 | 8,0 | | | | | | | 2251 | 4812 | 3227 |
| Eu-DTPA | 8,2 | 8,2 | 8,1 | 1,02 | 1,02 | 1,02 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 1229 | 3700 | 2007 |
| Er-EDTA | 8,4 | 8,3 | 8,4 | 1,02 | 1,02 | 1,03 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 2795 | 4910 | 3115 |
| Nd-DTPA | 9,2 | 9,2 | 9,1 | 1,09 | 1,10 | 1,08 | 0,78 | 0,90 | 0,77 | 2345 | 3927 | 2187 |
| Gd-EDTA | 10,9 | 10,9 | 10,8 | 1,19 | 1,19 | 1,20 | 0,98 | 0,97 | 0,93 | 2476 | 4799 | 2196 |
| Eu-EDTA | 12,1 | 12,1 | 12,0 | 1,11 | 1,11 | 1,11 | 0,92 | 0,97 | 0,89 | 2005 | 5143 | 2227 |
| Nd-EDTA | 16,0 | 16,2 | 15,8 | 1,33 | 1,33 | 1,31 | 1,00 | 1,00 | 1,00 | 5033 | 6776 | 2509 |

Tableau III- 5 : Données chromatographiques de la séparation des complexes de Ln contenus dans l'échantillon modèle 3.

| Colonnes Complexes | k | | | α | | | d ₀ | | | N | | |
|-----------------------|---------|-------------------|-------------------|----------|-------------------|-------------------|----------------|-------------------|-------------------|---------|-------------------|-------------------|
| | Xbridge | Acquity 2,1 mm | Acquity 1,0 mm | Xbridge | Acquity 2,1 mm | Acquity 1,0 mm | Xbridge | Acquity 2,1 mm | Acquity 1,0 mm | Xbridge | Acquity 2,1 mm | Acquity 1,0 mm |
| Lu-EDTA | 7,3 | 7,2 | 7,3 | 1,04 | 1,04 | 1,04 | 0,34 | 0,48 | 0,14 | 2934 | 5659 | 2864 |
| Yb-EDTA | 7,6 | 7,5 | 7,6 | 1,05 | 1,05 | 1,05 | 0,47 | 0,63 | 0,31 | 3938 | 5836 | 3742 |
| Tm-EDTA | 8,0 | 7,9 | 7,9 | 1,05 | 1,15 | 1,05 | 0,55 | 0,72 | 0,41 | 2839 | 6248 | 2649 |
| Er-EDTA | 8,4 | 8,3 | 8,3 | 1,06 | 1,05 | 1,05 | 0,57 | 0,77 | 0,47 | 2311 | 3675 | 3703 |
| Ho-EDTA | 8,9 | 8,8 | 8,8 | 1,05 | 1,06 | 1,05 | 0,62 | 0,82 | 0,55 | 3160 | 6546 | 2882 |
| Dy-EDTA | 9,3 | 9,2 | 9,2 | 1,07 | 1,07 | 1,07 | 0,81 | 0,94 | 0,75 | 3390 | 6300 | 3313 |
| Tb-EDTA | 10,0 | 9,9 | 9,9 | 1,10 | 1,10 | 1,09 | 0,94 | 0,98 | 0,92 | 3140 | 6720 | 3142 |
| Gd-EDTA | 10,9 | 10,9 | 10,8 | 1,10 | 1,11 | 1,10 | 0,96 | 0,98 | 0,91 | 3402 | 6632 | 2810 |
| Eu-EDTA | 12,1 | 12,1 | 11,9 | 1,11 | 1,12 | 1,11 | 0,97 | 0,99 | 0,90 | 2976 | 6798 | 2253 |
| Sm-EDTA | 13,4 | 13,5 | 13,3 | 1,19 | 1,19 | 1,18 | 1,00 | 1,00 | 0,84 | 2881 | 7386 | 1817 |
| Nd-EDTA | 16,0 | 16,1 | 15,7 | 1,06 | 1,05 | 1,05 | 0,65 | 0,87 | 0,35 | 3192 | 7238 | 1776 |
| La-EDTA | 16,9 | 16,9 | 16,5 | 1,00 | 1,00 | 1,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 2337 | 2178 | 973 |
| Pr-EDTA | 16,8 | 17,0 | 16,5 | 1,04 | 1,04 | 1,04 | 0,15 | 0,37 | 0,03 | 1771 | 4308 | 956 |
| Ce-EDTA | 17,5 | 17,7 | 17,1 | | | | | | | 2904 | 5400 | 918 |

Théoriquement, ces réductions géométriques doivent permettre d'obtenir des séparations 1,5 fois plus efficaces, 3 fois plus rapides et de réduire de 30% les volumes d'effluents. D'après les chromatogrammes en Figures III-7, 8 et 9 A et B, la colonne Acquity donne des séparations 2,6 fois plus rapides, en moins de 15 min pour les trois échantillons modèles, par rapport à celles obtenues avec la colonne XBridge. De plus, elle permet de réduire de 24 % les volumes d'effluents générés, avec un volume maximal de 5 mL. Pour les trois échantillons modèles, la colonne Acquity est globalement 2 fois plus efficace que la colonne XBridge et les facteurs de

discrimination entre les complexes de Sm et de Nd dans l'échantillon modèle 1 sont sensiblement les mêmes avec les deux colonnes (Tableau III- 3). Pour l'échantillon modèle 3, les facteurs de discrimination entre deux complexes Ln-EDTA consécutifs sont environ 1,5 fois plus élevés avec la colonne Acquity (Tableau III-5). La différence entre les valeurs théoriques et expérimentales est peut-être due à une meilleure qualité de remplissage de colonne avec les particules sub-2- μm ou à une meilleure maîtrise du traitement de surface de ces particules. Nos résultats confirment ceux précédemment obtenus au laboratoire [15] sont en accord avec une étude décrivant la comparaison entre les colonnes XBridge (150 \times 2,1 mm 3,5 μm) et Acquity (100 \times 2,1 mm 1,7 μm), pour la séparation de composés organiques polaires en mode HILIC [23, 24]. Les auteurs ont observé qu'avec la colonne Acquity, les temps d'analyses étaient divisés par 3 pour atteindre des séparations aussi efficaces qu'avec la colonne XBridge.

Pour réduire davantage les volumes d'effluents, le diamètre interne de la colonne Acquity a été réduit tout en gardant la longueur de colonne et le diamètre de particules identiques (Figure III- 6B et C). Le volume d'injection et le débit optimal de phase mobile associés à cette troisième colonne de dimensions 100 \times 1,0 mm 1,7 μm ont été calculés avec les règles de réduction d'échelle [20] et sont respectivement de 0,7 μL et 0,07 $\text{mL}\cdot\text{min}^{-1}$. Etant donné que les spécifications de la chaîne chromatographique recommandent d'injecter un volume minimal de 1 μL , ce volume a été injecté, correspondant à une réduction de 67% des volumes d'échantillons. Dans la mesure où les volumes extra-colonne sont susceptibles d'avoir un impact significatif sur la largeur de pics lors de la réduction du diamètre interne des colonnes, les longueurs et les diamètres des tubulures ont été minimisés (Annexe 3). La réduction du diamètre de colonne doit théoriquement conduire à des analyses aussi rapides et efficaces qu'avec la colonne Acquity de dimensions 100 \times 2,1 mm 1,7 μm , mais environ 80% d'effluents en moins. D'après les Figures III-7, 8 et 9, la réduction du diamètre de colonne a effectivement permis de réduire d'environ 80% les volumes d'effluents, avec un volume maximal de 1,1 mL, et des temps d'analyse du même ordre de grandeur. Bien que cet objectif ait été atteint, le nombre de plateaux théorique a été divisé à minima d'un facteur 2, malgré une minimisation des volumes extra-colonne et l'utilisation d'une instrumentation UHPLC dont les volumes morts sont réduits. L'impact délétère des effets extra-colonne sur l'efficacité des colonnes remplies de FPP sub-2- μm a été reporté avec des colonnes de diamètre interne de 1 mm en utilisant un système UHPLC [25, 26]. La principale source de dispersion a été attribuée aux connectiques entre les modules chromatographiques et le spectromètre de masse [27, 28]. Dans notre cas, le volume injecté de 1 μL au lieu de 0,7 μL , pourrait contribuer à un élargissement supplémentaire des pics. Globalement, pour les trois échantillons, les trois colonnes présentent la même sélectivité

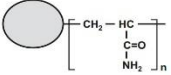
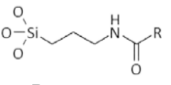
et les mêmes facteurs de rétention (données non montrées), ce qui était attendu puisque le support chromatographique et la fonctionnalisation des phases stationnaires sont les mêmes (Tableaux III-3, 4 et 5).

En résumé, les conditions permettant d'obtenir le meilleur compromis entre résolution, efficacité, volumes d'échantillons et d'effluents et temps d'analyse, ont été obtenues avec la colonne Acquity, de dimensions 100 × 2,1 mm ; 1,7 µm. Cette colonne a donc été sélectionnée pour la suite de l'étude.

IV. Approche 2 : Séparation HILIC des complexes Ln-acides polyaminocarboxyliques avec des colonnes remplies de SPP

Deux types de colonnes ayant un support de silice et remplies de particules superficiellement poreuses fonctionnalisées par des groupements amide ont été considérées dans cette partie. Leurs caractéristiques sont regroupées dans le Tableau III- 6.

Tableau III- 6 : Caractéristiques des colonnes remplies de SPP

| Colonnes Fournisseur | Dimensions | Groupe- ment fonctionnel | Support | Surface spécifique (m ² .g ⁻¹) | Taille des pores (Å) | Greffage amide Taux de Carbone (%) |
|---|--|--|---------|---|----------------------------|--|
| Accucore- Amide Thermo- Scientific | 150 × 2,1 mm, 2,6 µm 100 × 2,1 mm, 2,6 µm |  | Silice | 80 | 150 | NA NA |
| Sunshell HILIC Amide ChromaNik | 100 × 2,1 mm, 2,6 µm |  avec R : groupement hydrophile | Silice | 150 | 89 | NA- 3,3% C |

À l'heure actuelle, le plus petit diamètre de SPP fonctionnalisées par des groupements amide est de 2,6 µm et le diamètre des colonnes commerciales remplies avec ces particules pour une utilisation avec un système chromatographique UHPLC classique, est au minimum de 2,1 mm. Il n'a donc pas été possible d'entreprendre une approche similaire à celle de la partie précédente et seules les performances des colonnes de différentes longueurs ont pu être évaluées (Tableau III- 6). C'est une des principales limites des colonnes remplies de SPP pour le mode HILIC dans notre étude.

Les colonnes remplies de SPP ont initialement été développées pour séparer de grosses molécules comme des protéines ayant une masse moléculaire de plusieurs kDa et un facteur de

diffusion très faible [29]. Ces molécules peuvent être séparées à l'aide de colonnes contenant des particules avec des pores de diamètre relativement élevé, comme la colonne Accucore, dont les pores des particules sont de 150 Å. Les complexes de Ln ayant une masse moléculaire aux alentours de 500 Da, la colonne Sunshell-amide comportant des particules avec des pores 90 Å a été considérée dans un premier temps afin d'obtenir une résolution maximale.

IV.1. Colonne remplie de SPP comportant des particules avec des pores de 90 Å

Des tests préliminaires ont été effectués avec la colonne Sunshell de dimensions 100 × 2,1 mm, remplie de SPP de diamètre de 2,6 µm (Tableau III- 6), avec la phase mobile composée de 70/30 acétonitrile/eau 15 mM acétate d'ammonium 0,5% d'acide formique, à un débit de 0,3 mL.min⁻¹ pour une estimation rapide des propriétés de rétention de cette colonne. Pour l'échantillon modèle 1, aucun pic chromatographique n'a été observé sur une durée de 90 min. Pour l'échantillon modèle 2, les complexes de DTPA n'ont pas été observés et concernant les complexes d'EDTA, seul le complexe Er-EDTA est élué avec un temps de rétention de 28 min (Figure III-11).

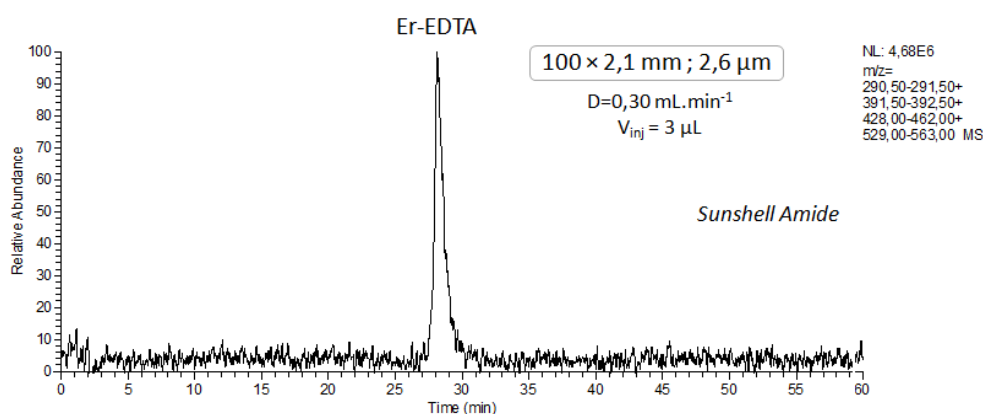


Figure III- 11 : Séparation des complexes de Ln contenus dans l'échantillon modèle 2. Détection par ESIMS en mode fullscan.

L'ordre d'élué avec les phases stationnaires fonctionnalisées par des groupements amides étant du complexe le plus lourd au plus léger [15], ce résultat montre que les complexes Eu-EDTA, Gd-EDTA et Nd-EDTA sont trop retenus pour être observés. De la même manière, avec l'échantillon modèle 3, seuls les complexes de Ln les plus lourds, du Lu-EDTA à Tb-EDTA, sont élués. Comme décrit ci-dessous, différentes compositions de phases mobiles ont été testées afin de modifier la force éluante et/ou les propriétés de sélectivité et ainsi améliorer la qualité des séparations.

IV.1.1 Augmentation de la force éluante de la phase mobile

En mode HILIC, le paramètre ayant le plus d'influence sur la rétention des solutés après la nature de la phase stationnaire, est le pourcentage de solvant organique contenu dans la phase mobile [30]. Par conséquent, la force éluante de la phase mobile a été augmentée par l'ajout d'eau dans la phase mobile (Tableau III- 7).

Tableau III- 7 : Analyse de l'échantillon modèle 2 avec la colonne Sunshell Amide (100 × 2,1 mm ; 2,6 μm) à un débit de 0,3 mL.min⁻¹.

| Acétonitrile/eau (v/v) 0,5 % acide formique 15 mM acétate d'ammonium | 10/90 | 20/80 | 30/70 | 40/60 | 50/50 | 55/45 | 60/40 | 70/30 |
|---|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|
| t_r Er-EDTA. (min) | 4,54 | 5,12 | 6,17 | 8,18 | 11,46 | 12,66 | 15,87 | 28,15 |

Même en augmentant significativement la force éluante, les complexes Gd-EDTA, Nd-EDTA et Eu-EDTA sont toujours trop retenus. Seulement le complexe Er-EDTA est élué, mais avec un temps de rétention qui logiquement diminue. Avec l'échantillon modèle 3, les tendances observées sont les mêmes. Les temps de rétention des complexes de Ln-EDTA les plus lourds diminuent, mais les complexes de Ln les plus retenus ne sont toujours pas élués.

IV.1.2. Variation de la concentration de sel dans la phase mobile

Comme précisé dans le chapitre I, la concentration en sels dans la phase mobile en HILIC peut avoir un impact sur la rétention des analytes. En se référant au greffage de la phase stationnaire Sunshell (Tableau III- 6), l'adsorption des analytes à la surface de la phase stationnaire est susceptible de se produire *via* la formation de liaisons hydrogène avec les groupements amide et les silanols résiduels. Une augmentation de la concentration en sel aurait pour effet de diminuer ces liaisons hydrogène, et donc de diminuer la rétention des complexes de Ln. Par conséquent, l'échantillon modèle 2 a été analysé avec une phase mobile contenant le même pourcentage de solvant organique mais en augmentant la concentration en sel à 20 mM d'acétate d'ammonium (Figure III- 12).

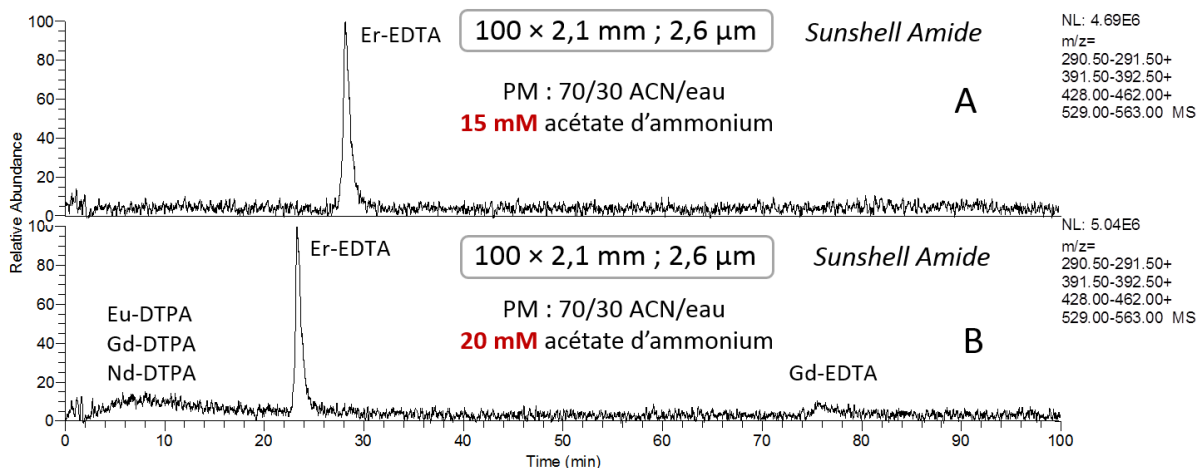


Figure III- 12 : Séparation des complexes de Ln contenus dans l'échantillon modèle 2. Colonne Sunshell amide 100 × 2,1 mm ; 2,6 µm. Débit 0,3 mL.min⁻¹. Détection par ESIMS en mode fullscan.

Cette augmentation engendre une diminution du temps de rétention du complexe Er-EDTA, et permet d'éluer le complexe Gd-EDTA, mais avec un temps de rétention supérieur à 1 h et un pic chromatographique très mal défini. Les complexes d'EDTA les plus légers et donc les plus retenus ne sont toujours pas élués. Avec l'échantillon modèle 3, les mêmes tendances ont été observées. Ces essais préliminaires mettent en évidence les propriétés extrêmement rétentives de cette phase stationnaire, qui peuvent être attribuées à son support à base de silice et à la structure du groupement fonctionnel. Ce dernier est un amide primaire comportant un groupement hydrophile R supplémentaire, rendant la phase stationnaire plus polaire que les autres phases stationnaires fonctionnalisées par des groupements amide simples. La colonne Sunshell n'a donc pas pu être exploitée malgré ces différents essais d'ajustement.

IV. 2. Colonne remplie de SPP comportant des particules avec des pores de 150 Å

Une colonne Accucore de dimensions 150 × 2,1 mm ; 2,6 µm (Tableau III- 6) a été testée avec une phase mobile composée de 70/30 acétonitrile/eau 15 mM acétate d'ammonium 0,5% d'acide formique. Les essais préliminaires ayant démontrés des temps de rétention comparables à ceux obtenus avec les colonnes remplies de FPP, le débit optimal de phase mobile, pour lequel la hauteur équivalente à un plateau théorique (H) est minimale et le nombre de plateaux théoriques est maximal, a été déterminé expérimentalement avec la relation de Knox (Eq. II-3):

$$H = Au^{1/3} + \frac{B}{u} + Cu \quad (\text{Eq. II-3})$$

Avec H : hauteur équivalente à un plateau théorique, $Au^{1/3}$: anisotropie d'écoulement ; B/u : diffusion longitudinale, Cu : résistance au transfert de masse, et u : vitesse linéaire.

La courbe de Knox a été établie avec des débits de phase mobile compris entre $0,035 \text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$ et $1,5 \text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$, pour le complexe Gd-DTPA à une concentration de $10^{-4} \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$. Sa préparation est décrite en Annexe 1 partie 3. Ce complexe a été sélectionné puisque le Gd est situé au milieu de la série des Ln et son facteur de rétention est compris entre 2 et 15.

La courbe de Knox tracée en coordonnées logarithmiques est présentée en Figure III- 13.

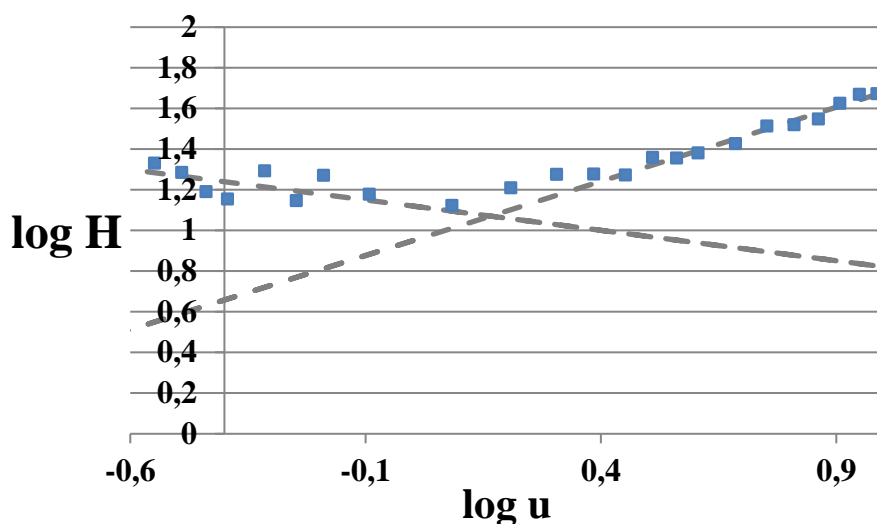


Figure III- 13 : Courbe de Knox en coordonnées logarithmiques obtenue avec la colonne Accucore $150 \times 2,1 \text{ mm}$; $2,6 \mu\text{m}$ remplie de SPP

Le débit optimal expérimental est de $0,15 \text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$ ($\log H_{\min}=1,08$).

La courbe de Knox a été aussi été établie en coordonnées non logarithmiques (Figure III- 14).

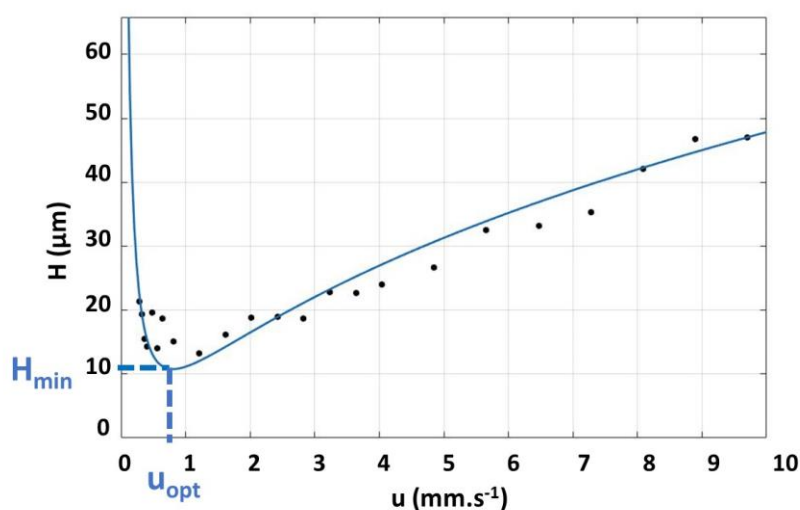


Figure III- 14 : Courbe de Knox obtenue avec la colonne Accucore $150 \times 2,1 \text{ mm}$; $2,6 \mu\text{m}$ remplie de SPP

Pour des débits supérieurs au débit optimal, les valeurs de H augmentent significativement, reflétant une perte d'efficacité. Ce comportement n'est pas attendu, du moins en mode RPLC

pour lequel les colonnes remplies de SPP sont connues pour permettre de travailler à des débits de phase mobile élevés sans perdre d'efficacité [31]. Le mécanisme complexe du mode HILIC et la composition des phases mobiles associées sont probablement à l'origine de ces résultats [32]. La couche d'eau adsorbée à la surface de la phase stationnaire, en combinaison avec l'adsorption et/ou l'interaction électrostatique des analytes avec la phase stationnaire, induisent une diminution de leur diffusion et une plus grande résistance au transfert de masse, ce qui affecte l'efficacité [23, 24, 33]. Les mêmes résultats ont été obtenus avec la colonne XBridge remplie de FPP [15], démontrant que la diminution d'efficacité observée avec l'augmentation du débit est attribuée aux caractéristiques du mécanisme HILIC plutôt qu'à la technologie des particules et au matériau du support. De plus, avec les phases stationnaires fonctionnalisées par des groupements amide, le mécanisme d'adsorption joue un rôle majeur dans la rétention des complexes de Ln en mode HILIC, ce qui favorise probablement la tendance observée à des débits élevés [15]. Dans l'ensemble, ces résultats confirment que les gains apportés par la technologie SPP à des débits élevés ne sont pas si évidents en mode HILIC comparativement au mode RPLC.

Le seul paramètre modifiable étant la longueur de la colonne, les trois échantillons modèles ont été analysés par HILIC-ESIMS en mode isocratique avec deux colonnes Accucore de dimensions 150 et 100 × 2,1 mm ; 2,6 µm au débit optimal. Lors de l'utilisation des colonnes remplies de SPP, les diamètres et longueurs de tubulures ont dû être minimisés afin de réduire les volumes extra-colonnes. Le volume d'injection a été ajusté avec les règles de réduction d'échelle présentées plus haut (Eq. III- 3). Le volume d'injection est de 5 µL avec la colonne de 150 mm et de 3 µL avec celle de 100 mm, soit une diminution de 40 %. Les chromatogrammes sont respectivement présentés en Figures III-15, 16 et 17 et les données chromatographiques associées dans les Tableaux III-8, 9 et 10. Les volumes d'effluents ont été calculés à partir du débit de phase mobile et du temps à partir duquel l'ensemble des solutés sont élués avec un retour à la ligne de base.

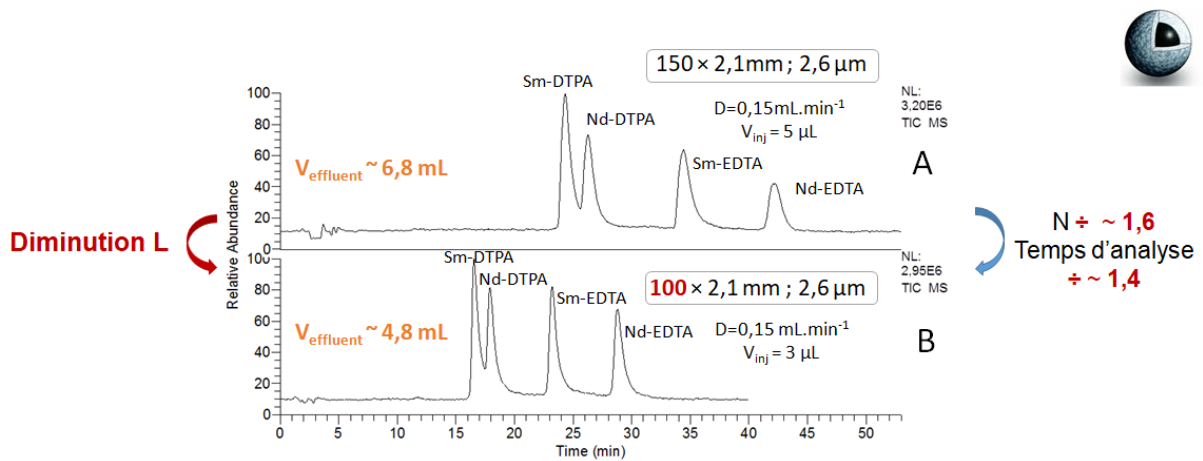


Figure III- 15 : Séparation des complexes de Ln de l'échantillon modèle 1. Détection par ESIMS en mode SIM avec les gammes de masse d'acquisition 427-447 et 527-547.

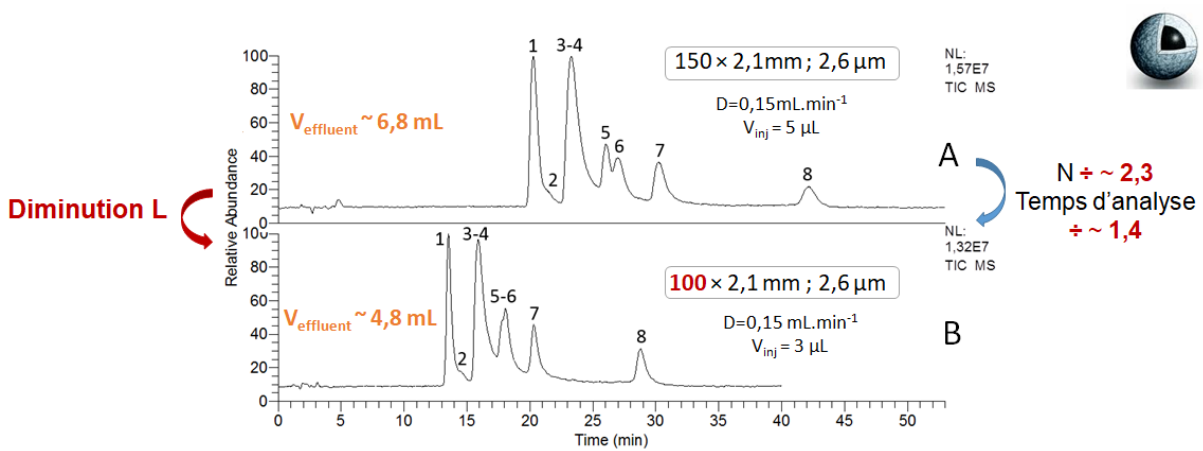


Figure III- 16 : Séparation des complexes de Ln dans l'échantillon modèle 2. (1) Er-EDTA, (2) Er-DTPA, (3) Gd-DTPA, (4) Eu-DTPA, (5) Nd-DTPA, (6) Gd-EDTA, (7) Eu-EDTA, (8) Nd-EDTA. Détection par ESIMS en mode SIM avec les gammes de masse d'acquisition 427-463 et 528-564.

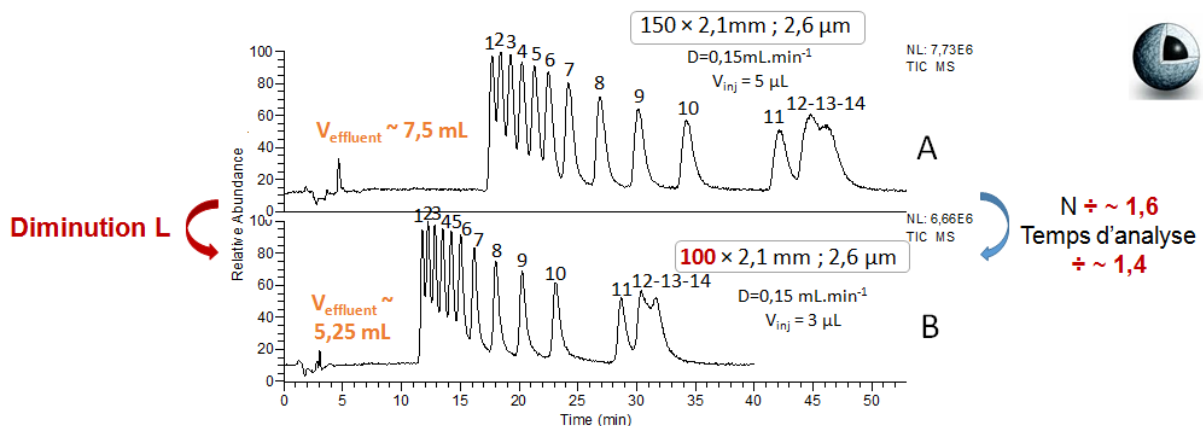


Figure III- 17 : Séparation des complexes de Ln contenus dans l'échantillon modèle 3. Ordre d'élué des complexes Ln-EDTA: (1) Lu, (2) Yb, (3) Tm, (4) Er, (5) Ho, (6) Dy, (7) Tb, (8) Gd, (9) Eu, (10) Sm, (11) Nd, (12) Pr, (13) La, (14) Ce. Détection par ESIMS en mode SIM avec une gamme de masse d'acquisition 421-467.

Tableau III- 8 : Données chromatographiques de la séparation de complexes de Ln contenus dans l'échantillon modèle 1.

| Longueur de colonne Complexes | k | | α | | d_0 | | N | |
|-------------------------------------|-------|------|----------|------|-------|------|------|------|
| | 15 cm | 10cm | 15cm | 10cm | 15cm | 10cm | 15cm | 10cm |
| Sm-DTPA | 12,0 | 12,3 | 1,09 | 1,09 | 0,74 | 0,72 | 1348 | 1006 |
| Nd-DTPA | 13,1 | 13,3 | | | | | 1771 | 1077 |
| Sm-EDTA | 17,5 | 17,6 | 1,34 | 1,32 | 1,00 | 0,96 | 2034 | 1183 |
| | | | 1,23 | 1,25 | 1,00 | 0,95 | 5377 | 3580 |
| Nd-EDTA | 21,5 | 22,2 | | | | | | |

Tableau III- 9 : Données chromatographiques de la séparation de complexes de Ln contenus dans l'échantillon modèle 2.

| Longueur de colonne Complexes | k | | α | | d_0 | | N | |
|-------------------------------------|-------|------|----------|------|-------|------|------|------|
| | 15 cm | 10cm | 15cm | 10cm | 15cm | 10cm | 15cm | 10cm |
| Er-EDTA | 9,9 | 9,8 | 1,06 | 1,09 | 0,00 | 0,06 | 2698 | 1390 |
| Er-DTPA | 10,5 | 10,7 | | | | | 1617 | 1548 |
| Gd-DTPA | 11,4 | 11,6 | 1,08 | 1,08 | 0,86 | 0,71 | 336 | 185 |
| | | | 1,02 | 1,02 | 0,00 | 0,00 | 1185 | 666 |
| Eu-DTPA | 11,6 | 11,8 | 1,12 | 1,12 | 0,70 | 0,51 | 4442 | 701 |
| Nd-DTPA | 13,0 | 13,2 | 1,04 | 1,02 | 0,35 | 0,00 | 1760 | 756 |
| | | | 1,13 | 1,13 | 0,88 | 0,78 | 1884 | 1321 |
| Gd-EDTA | 13,5 | 13,5 | | | | | | |
| Eu-EDTA | 15,3 | 15,3 | | | | | | |
| Nd-EDTA | 21,6 | 22,0 | 1,42 | 1,44 | 1,00 | 0,93 | 4574 | 2870 |

Tableau III- 10 : Données chromatographiques de la séparation de complexes de Ln contenus dans l'échantillon modèle 3.

| Longueur de colonne Complexes | k | | α | | d_0 | | N | |
|-------------------------------------|-------|------|----------|------|-------|------|------|------|
| | 15 cm | 10cm | 15cm | 10cm | 15cm | 10cm | 15cm | 10cm |
| Lu-EDTA | 8,5 | 8,4 | 1,05 | 1,05 | 0,47 | 0,46 | 2498 | 1760 |
| Yb-EDTA | 8,9 | 8,8 | 1,05 | 1,05 | 0,57 | 0,54 | 3658 | 2833 |
| Tm-EDTA | 9,3 | 9,3 | 1,06 | 1,06 | 0,66 | 0,59 | 2575 | 1677 |
| Er-EDTA | 9,9 | 9,8 | 1,06 | 1,06 | 0,70 | 0,62 | 2606 | 2359 |
| Ho-EDTA | 10,4 | 10,4 | 1,06 | 1,06 | 0,73 | 0,66 | 2773 | 1465 |
| Dy-EDTA | 11,1 | 11,0 | 1,08 | 1,08 | 0,88 | 0,76 | 2912 | 1853 |
| Tb-EDTA | 12,0 | 12,0 | 1,12 | 1,12 | 0,93 | 0,85 | 2982 | 1605 |
| Gd-EDTA | 13,4 | 13,4 | 1,13 | 1,13 | 0,96 | 0,88 | 2839 | 1789 |
| Eu-EDTA | 15,1 | 15,2 | 1,15 | 1,15 | 0,96 | 0,91 | 2648 | 1582 |
| Sm-EDTA | 17,4 | 17,5 | 1,24 | 1,25 | 0,98 | 0,97 | 2666 | 1621 |
| Nd-EDTA | 21,6 | 22,0 | 1,06 | 1,06 | 0,82 | 0,72 | 2574 | 1650 |
| Pr-EDTA | 22,9 | 23,3 | 1,02 | 1,02 | 0,00 | 0,00 | 2237 | 1372 |
| La-EDTA | 23,3 | 23,9 | 1,03 | 1,02 | 0,04 | 0,11 | 2691 | 1642 |
| Ce-EDTA | 23,9 | 24,6 | | | | | 3043 | 1468 |

Comme attendu, la colonne de 100 mm conduit à des séparations 1,5 fois plus rapides qu'avec la colonne de 150 mm et génère 30 % d'effluents en moins (Figures III-15, 16 et 17). Cependant une perte d'efficacité par un facteur 1,8 en moyenne et de résolution ont été observées (Tableaux III-8, 9 et 10). L'efficacité étant un paramètre essentiel, qui doit être conservé, voire amélioré, la colonne remplie de SPP sélectionnée pour l'étude comparative

est l'Accucore de dimensions $150 \times 2,1$ mm, $2,6 \mu\text{m}$, avec des volumes d'effluents générés et des temps d'analyses n'excédant pas respectivement 7,5 mL et 50 min.

V. Bilan : comparaison des deux approches durables

L'objectif de ce chapitre est de sélectionner la technologie permettant d'obtenir le meilleur compromis entre résolution, efficacité, temps d'analyse et volumes d'effluents issus des séparations par HILIC de complexes Ln-acides polyaminocarboxyliques. La première approche consistant à réduire les dimensions de colonnes remplies de FPP et la taille des particules, a conduit à la sélection de la colonne Acquity de dimensions $100 \times 2,1$ mm $1,7 \mu\text{m}$. Dans la deuxième approche, des colonnes remplies de SPP ont été utilisées et la colonne Accucore de dimensions $150 \times 2,1$ mm $2,6 \mu\text{m}$ a été sélectionnée. Les performances de ces deux colonnes ont été comparées à leur débit optimal respectif soit $0,3 \text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$ pour la colonne remplie de FPP et $0,15 \text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$ pour la colonne remplie de SPP. Les chromatogrammes obtenus pour les trois échantillons modèles sont présentés en Figures III-18, 19 et 20. Les données chromatographiques sont récapitulées en Annexe 4. Les volumes d'effluents ont été calculés à partir du débit de phase mobile et du temps à partir duquel l'ensemble des solutés sont élués avec un retour à la ligne de base.

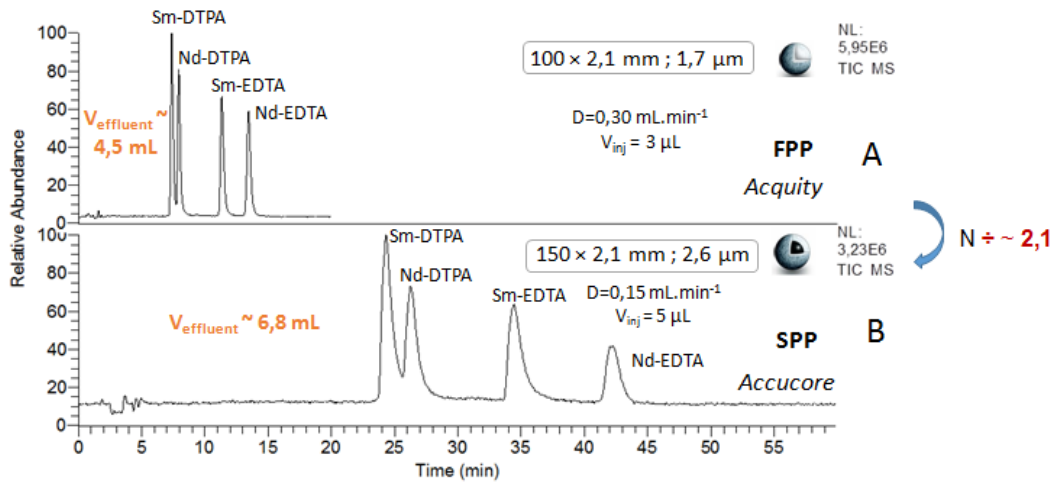


Figure III- 18 : Séparation des complexes Ln de l'échantillon modèle 1. Détection par ESIMS en mode SIM avec les gammes de masse d'acquisition 427-447 et 527-547.

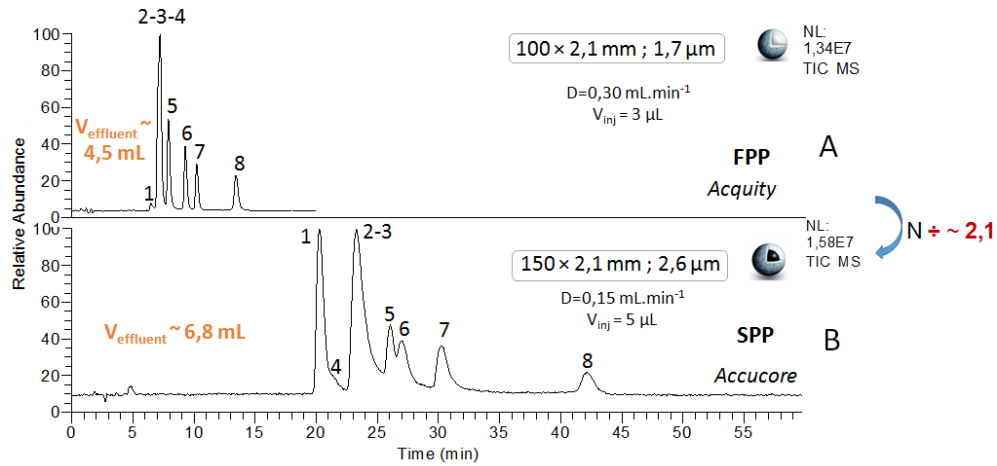


Figure III- 19 : Séparation des complexes Ln de l'échantillon modèle 2. (1) Er-DTPA, (2) Gd-DTPA, (3) Eu-DTPA, (4) Er-EDTA, (5) Nd-DTPA, (6) Gd-EDTA, (7) Eu-EDTA, (8) Nd-EDTA. Détection par ESIMS en mode SIM avec les gammes de masse d'acquisition 427-463 et 528-564.

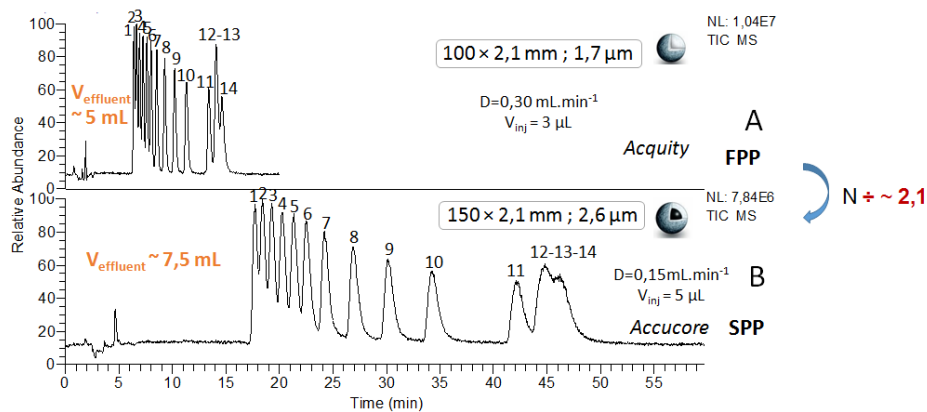


Figure III- 20 : Séparation des complexes Ln contenus dans l'échantillon modèle 3. Ordre d'élué des complexes Ln-EDTA : (1) Lu, (2) Yb, (3) Tm, (4) Er, (5) Ho, (6) Dy, (7) Tb, (8) Gd, (9) Eu, (10) Sm, (11) Nd, (12) La, (13) Pr, (14) Ce. Détection par ESIMS en mode SIM avec une gamme de masse d'acquisition 421-467.

Compte tenu des différentes longueurs de colonnes et des débits de phase mobile, les séparations obtenues avec la colonne remplie de SPP sont 3 fois plus longues, 2 fois moins efficaces et génèrent environ 30% d'effluents en plus qu'avec la colonne remplie de FPP.

En travaillant avec des colonnes de mêmes dimensions ($100 \times 2,1$ mm) et au même débit de phase mobile, $0,3 \text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$, on obtient des séparations légèrement plus longues et des volumes d'effluents légèrement plus élevés avec la colonne remplie de SPP qu'avec la colonne remplie de FPP (données non présentées). Les supports de ces deux phases stationnaires sont de la silice non traitée pour la colonne remplie de SPP et un matériau hybride pour la colonne remplie de FPP. Ce dernier conduit à une capacité de rétention plus faible des solutés et donc à une moindre production d'effluents.

Dans ces conditions, la colonne remplie de SPP de diamètre sub- $3\text{-}\mu\text{m}$ donne également des séparations moins efficaces qu'avec la colonne Acquity remplie de FPP de diamètre sub- $2\text{-}\mu\text{m}$, et ce, malgré la réduction des volumes extra-colonne avec la colonne remplie de SPP. Ces résultats ne sont pas en accord avec ceux classiquement obtenus en RPLC, puisqu'avec ce mode de séparation, les colonnes remplies de SPP sub- $3\text{-}\mu\text{m}$ sont connues pour être aussi efficaces que les colonnes remplies de FPP sub- $2\text{-}\mu\text{m}$, tout en générant une faible perte de charges et moins d'effluents [4]. En revanche, les études comparatives de ces types technologies de particules ne sont pas très répandues pour le mode HILIC. Elles se limitent généralement à des phases stationnaires de silice non fonctionnalisées et sont exclusivement dédiées à la séparation de composés organiques [32-35]. En particulier, il a été observé que des colonnes remplies de SPP sub- $2\text{-}\mu\text{m}$ étaient plus efficaces que des colonnes de mêmes dimensions remplies de FPP de granulométrie comparable et ce, avec des temps d'analyse plus courts [32]. À contrario, l'étude évaluant des colonnes de mêmes dimensions remplies de FPP sub- $2\text{-}\mu\text{m}$ et de SPP sub- $3\text{-}\mu\text{m}$, a mis en évidence que des séparations de composés organiques en mode HILIC sont 30% moins efficaces avec les colonnes remplies de SPP [35]. Les auteurs ont attribué ce résultat à la différence de qualité de remplissage de la colonne, aux différents supports de colonnes et au mécanisme complexe du mode HILIC. Nos résultats sont en accord avec cette étude et des explications similaires peuvent être fournies pour les interpréter.

Malgré les avantages de la technologie SPP, nos travaux montrent que la colonne remplie de FPP de diamètre sub- $2\text{-}\mu\text{m}$ est la plus adaptée pour obtenir le meilleur compromis entre résolution exprimée par le facteur de discrimination, efficacité, temps d'analyse et volumes d'effluents générés lors des séparations des complexes de Ln en mode HILIC. La colonne Acquity ($100 \times 2,1$ mm ; $1,7 \mu\text{m}$) donne des séparations deux fois plus efficaces que la colonne Accucore ($150 \times 2,1$ mm ; $2,6 \mu\text{m}$), avec un volume maximal d'effluents de 5 mL et un temps

d'analyse de l'ordre de 15 min. De plus, grâce à la composition de phase mobile, la perte de charges n'excède pas 250 bars même avec des particules FPP de diamètre sub-2- μm , ce qui est particulièrement intéressant pour la mise en œuvre des séparations chromatographiques en boîte à gants pour l'étude d'échantillons radioactifs.

VI. Approches visant à améliorer la résolution

Certaines applications nécessitent une résolution supérieure à 1,5 entre deux pics chromatographiques, soit d_0 égal à 1. Sur la base de la relation de Purnell, mettant en évidence les grandeurs chromatographiques ayant une influence sur la résolution (Eq. III-10), plusieurs stratégies peuvent être mises en œuvre pour l'améliorer avec les échantillons modèles 2 et 3, dont les séparations sont encore critiques.

$$R_{1,2} = \frac{\sqrt{N_2}}{4} \cdot \frac{\alpha_{1,2} - 1}{\alpha_{1,2}} \cdot \frac{k_2}{1 + k_2} \quad (\text{Eq. III-10})$$

- augmenter la sélectivité soit en changeant le groupement fonctionnel de la phase stationnaire, soit en changeant la force éluante de la phase mobile
- améliorer l'efficacité en couplant plusieurs colonnes

La suite de cette partie consistera à mettre en œuvre ces différentes approches. Outre l'amélioration de la résolution et de l'efficacité, d'autres critères tels que le temps total nécessaire à la mise au point de la méthode et volume d'effluents associés, sont à considérer pour sélectionner l'approche la plus pertinente.

VI.1. Changement de sélectivité

VI.1.1. Modification du groupement fonctionnel la phase stationnaire

Une phase stationnaire sur support de silice fonctionnalisée par des groupements urée a été choisie en raison de sa sélectivité potentielle vis-à-vis des complexes de Ln et de la porosité de ses particules, inférieure à celle des particules fonctionnalisées par des groupements amide. En effet, cette colonne, de dimensions $150 \times 2,1$ mm, est remplie de SPP de diamètre $2,6 \mu\text{m}$ avec des pores de 80 \AA (Figure III- 21).

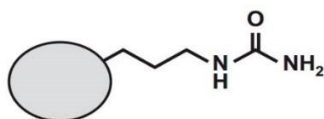


Figure III- 21 : Groupement fonctionnel urée de la colonne Accucore remplie de SPP (Société Thermo-Scientific)

Les trois échantillons modèles ont été analysés avec la phase mobile de travail à un débit de $0,3 \text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$, pour une estimation rapide des propriétés de rétention de cette colonne. À titre d'exemple, le chromatogramme de l'échantillon modèle 3 est présenté en Figure III- 22 :

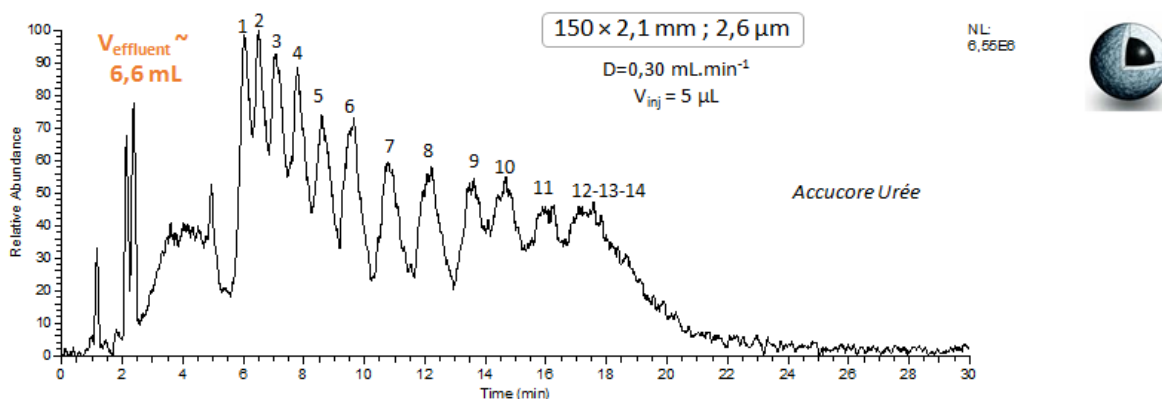


Figure III- 22 : Séparation des complexes Ln contenus dans l'échantillon modèle 3. Ordre d'élution des complexes Ln-EDTA : (1) Lu, (2) Yb, (3) Tm, (4) Er, (5) Ho, (6) Dy, (7) Tb, (8) Gd, (9) Eu, (10) Sm, (11) Nd, (12) Pr, (13) La-, (14) Ce. Détection par ESIMS en mode fullscan.

Pour un même débit de phase mobile, cette colonne est moins rétentive que celles à fonction amide, engendrant des volumes d'effluents plus faibles. Cependant la résolution obtenue avec la colonne urée est moins bonne. À titre d'exemple, les valeurs de d_0 ont été en moyenne divisées par un facteur 1,8 par rapport aux valeurs obtenues avec la colonne Accucore-amide de mêmes dimensions (données non présentées). Une diminution de la force éluante, avec une phase mobile contenant 75% d'acétonitrile n'a pas permis d'améliorer la séparation des complexes de Ln. Les mêmes tendances sont observées pour les trois échantillons. Cette colonne étant moins résolutive que les autres colonnes, elle n'a pas été retenue pour la suite de l'étude. La diminution de la granulométrie des particules, dans le but d'améliorer l'efficacité et donc les résolutions associées à ces séparations, n'est actuellement pas envisageable. En effet, le plus petit diamètre des SPP fonctionnalisées par une fonction urée disponible sur le marché est de $2,6 \mu\text{m}$ et de $3 \mu\text{m}$ pour les particules FPP.

VI.1.2. Modification de la composition de phase mobile

Une autre solution pour améliorer la résolution est de diminuer la force éluante de la phase mobile. Avec la colonne Acquity à fonction amide remplie de FFP de diamètre sub- $2\text{-}\mu\text{m}$ ($100 \times 2,1 \text{ mm}$; $1,7 \mu\text{m}$) sélectionnée dans la partie III, la proportion d'acétonitrile contenue dans la phase mobile a été augmentée à 80%. Dans ces conditions, le facteur de discrimination pour l'ensemble des séparations est inférieur à 1 et une augmentation du taux d'acétonitrile à 85% induit des temps de rétention supérieurs à 2h. Des essais ont alors été réalisés avec une

phase mobile intermédiaire composée de 81% d'acétonitrile. Les chromatogrammes obtenus pour les échantillons modèles 2 et 3 sont présentés en Figures III-23 et 24.

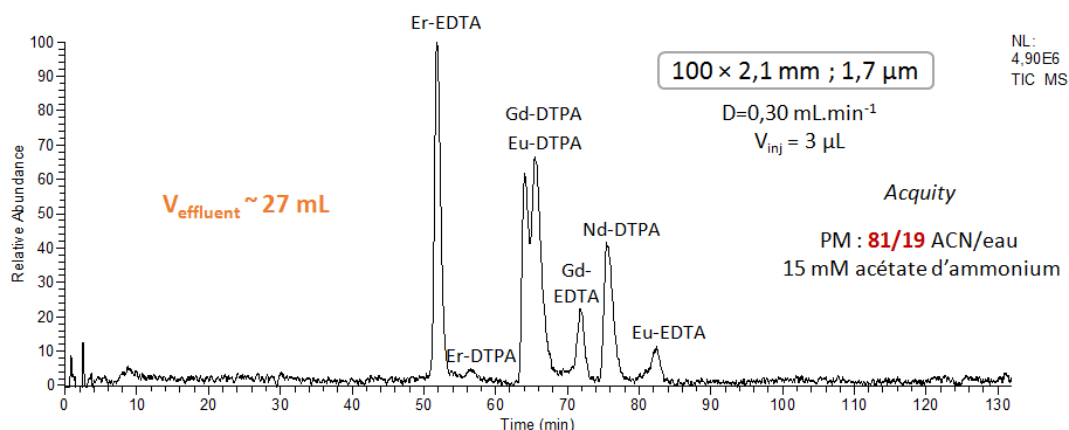


Figure III- 23 : Séparation des complexes Ln dans l'échantillon modèle 2. Détection par ESIMS en mode SIM avec les gammes de masse d'acquisition 427-463 et 528-564.

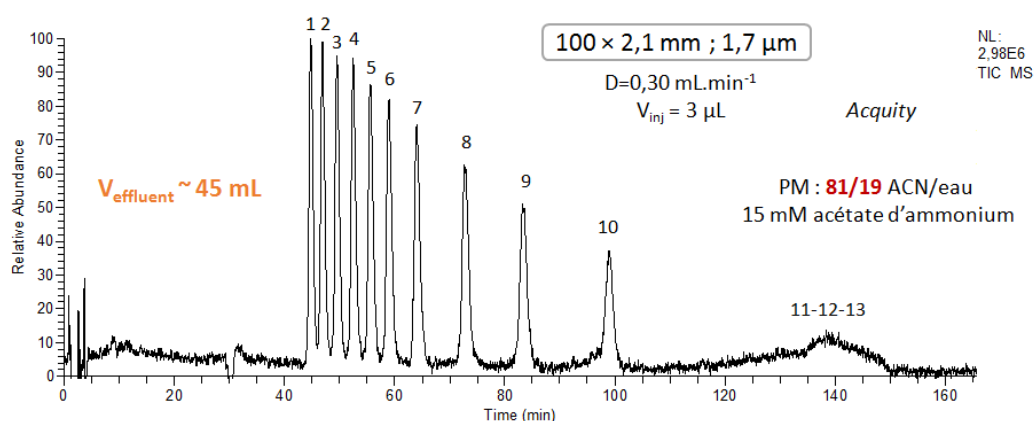


Figure III- 24 : Séparation des complexes de Ln contenus dans l'échantillon modèle 3. Ordre d'élution des complexes Ln-EDTA: (1) Lu, (2) Yb, (3) Tm, (4) Er, (5) Ho, (6) Dy, (7) Tb, (8) Gd, (9) Eu, (10) Sm, (11) Pr, (12) Ce, (13) La. Détection par ESIMS en mode SIM avec une gamme de masse d'acquisition 421-467.

Pour l'échantillon modèle 2, un début de séparation est observé entre les complexes Gd-DTPA et Eu-DTPA contrairement aux analyses réalisées précédemment. Pour l'échantillon modèle 3, les complexes de Lu jusqu'au Sm sont séparés avec des valeurs de d_0 supérieures à 0,94 et un retour à la ligne de base pour les complexes de Gd, Eu et Sm. Les complexes de La, Ce et Pr sont quant à eux co-élus à 138,4 min. Pour ce même échantillon, le nombre de plateaux théoriques a été multiplié par un facteur 1,7 par rapport aux données acquises avec cette même colonne pour une phase mobile composée de 70% d'acétonitrile. L'objectif d'amélioration de la résolution est atteint pour les dix complexes de Ln les plus lourds.

Par conséquent, cette stratégie a permis d'améliorer la résolution, avec toutefois un temps d'analyse de 2h30 et neuf fois plus d'effluents générés qu'avec une phase mobile composée de

70% d'acétonitrile. Pour diminuer le temps d'analyse et les volumes d'effluents tout en conservant ou en améliorant la résolution, un gradient d'élution peut être réalisé en augmentant la proportion d'eau dans la phase mobile au cours de l'analyse. Des développements analytiques supplémentaires sont envisageables pour mener à bien cette étude, mais sortent des objectifs de ce travail, c'est pourquoi ils n'ont pas été davantage approfondis.

VI.2. Amélioration de l'efficacité : couplage de deux colonnes Acquity à fonction amide remplies de FPP sub-2- μm

L'étude menée avec les colonnes remplies de FPP a confirmé que du fait de la proportion élevée d'acétonitrile dans la phase mobile, la perte de charges n'excédait pas 250 bars au débit optimal, même avec des particules de diamètre sub-2- μm . Cette caractéristique du mode HILIC laisse donc envisager le couplage de plusieurs colonnes pour améliorer l'efficacité, sans engendrer des pertes de charges excessives. Dans cette partie, deux colonnes Acquity de dimensions $100 \times 2,1$ mm et remplies de FPP de $1,7 \mu\text{m}$ de diamètre, ont été couplées en série. Avec un débit d'analyse de $0,3 \text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$, identique à celui employé avec une seule colonne, le nombre de plateaux théoriques doit théoriquement être doublé, permettant ainsi d'augmenter la résolution entre les pics chromatographiques par un facteur $\sqrt{2}$ (Eq.III-11). Les chromatogrammes des trois échantillons modèles obtenus avec les deux colonnes en série sont présentés en Figures III-25, 26 et 27. Les valeurs des grandeurs chromatographiques d_0 et N correspondantes ainsi que celles obtenues avec une seule colonne, sont rassemblées dans le Tableau III- 11. Les volumes d'effluents ont été calculés à partir du débit de phase mobile et du temps à partir duquel l'ensemble des solutés sont élués avec un retour à la ligne de base.

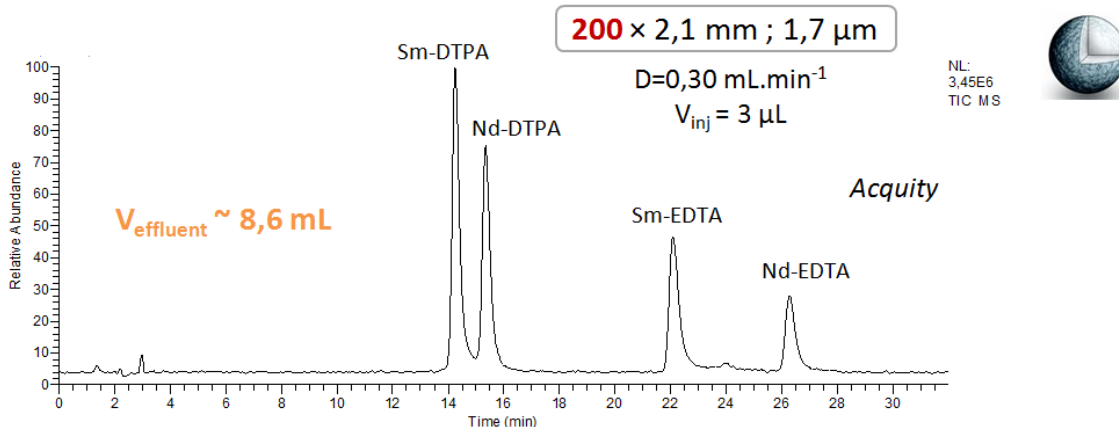


Figure III- 25 : Séparation des complexes de Ln de l'échantillon modèle 1. Détection par ESIMS en mode SIM avec les gammes de masse d'acquisition 427-447 et 527-547.

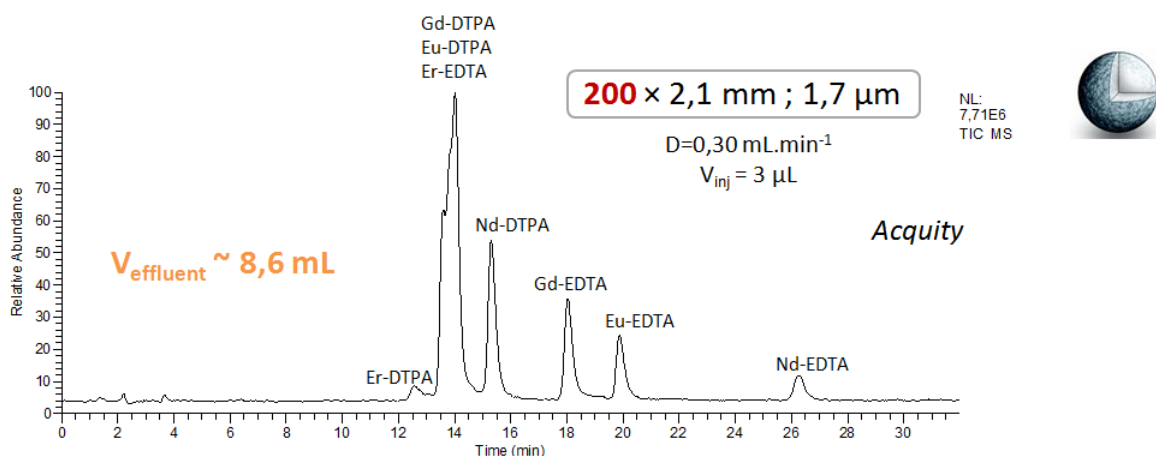


Figure III- 26 : Séparation des complexes de Ln de l'échantillon modèle 2. Détection par ESIMS en mode SIM avec les gammes de masse d'acquisition 427-463 et 528-564

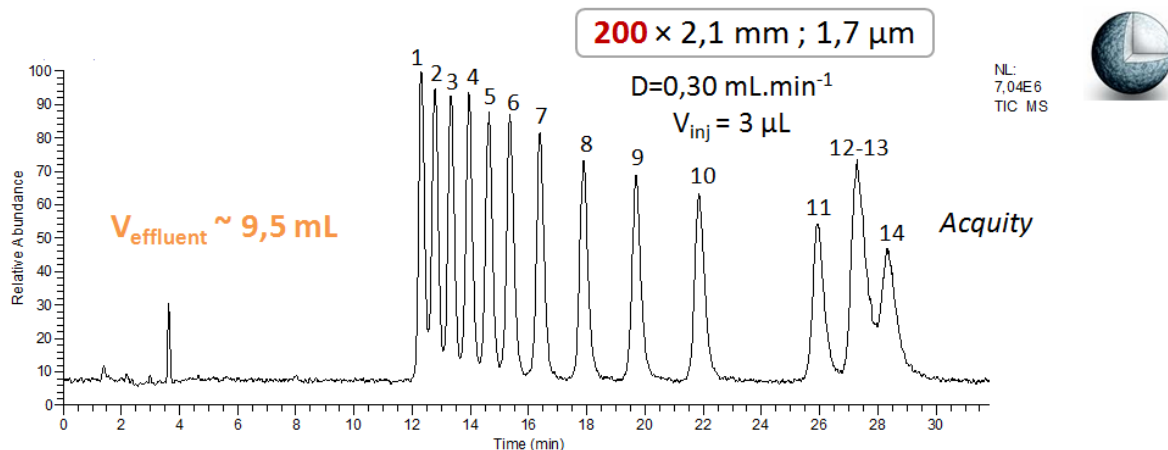


Figure III- 27 : Séparation des complexes de Ln contenu dans l'échantillon modèle 3. Ordre d'élution des complexes Ln-EDTA : (1) Lu, (2) Yb, (3) Tm, (4) Er, (5) Ho, (6) Dy, (7) Tb, (8) Gd, (9) Eu, (10) Sm, (11) Nd, (12) La, (13) Pr, (14) Ce. Détection ESIMS en SIM avec une gamme de masse d'acquisition 421-467.

Tableau III- 11 : Données chromatographiques de la séparation de complexes de Ln

a) échantillon modèle 1

| Nombre de Colonnes Complexes | d ₀ | | N | |
|------------------------------|----------------|------|------|-------|
| | 1 | 2 | 1 | 2 |
| Sm-DTPA | 0,87 | 0,93 | 3392 | 6509 |
| Nd-DTPA | 1,00 | 1,00 | 3780 | 8096 |
| Sm-EDTA | 1,00 | 1,00 | 4952 | 8290 |
| Nd-EDTA | 1,00 | 1,00 | 7447 | 12490 |

b) échantillon modèle 2

| Nombre de Colonnes Complexes | d ₀ | | N | |
|------------------------------|----------------|------|------|-------|
| | 1 | 2 | 1 | 2 |
| Er-DTPA | 0,42 | 0,60 | - | - |
| Gd-DTPA | 0,00 | 0,00 | 4812 | 9803 |
| Eu-DTPA | 0,00 | 0,00 | 3700 | 7345 |
| Er-EDTA | 0,90 | 0,93 | 4910 | 10798 |
| Nd-DTPA | 0,97 | 1,00 | 3927 | 7690 |
| Gd-EDTA | 0,97 | 0,79 | 4799 | 6453 |
| Eu-EDTA | 1,00 | 1,00 | 5143 | 7409 |
| Nd-EDTA | 1,00 | 1,00 | 6776 | 16186 |

c) échantillon modèle 3

| Nombre de Colonnes Complexes | d ₀ | | N | |
|------------------------------|----------------|------|------|-------|
| | 1 | 2 | 1 | 2 |
| Lu-EDTA | 0,48 | 0,82 | 5659 | 11638 |
| Yb-EDTA | 0,63 | 0,89 | 5836 | 12475 |
| Tm-EDTA | 0,72 | 0,91 | 6248 | 12398 |
| Er-EDTA | 0,77 | 0,93 | 3675 | 13555 |
| Ho-EDTA | 0,82 | 0,94 | 6546 | 12858 |
| Dy-EDTA | 0,94 | 0,97 | 6300 | 12137 |
| Tb-EDTA | 0,98 | 0,99 | 6720 | 12953 |
| Gd-EDTA | 0,98 | 1,00 | 6632 | 13177 |
| Eu-EDTA | 0,99 | 1,00 | 6798 | 12412 |
| Sm-EDTA | 1,00 | 1,00 | 7386 | 13166 |
| Nd-EDTA | 0,87 | 0,94 | 7238 | 8425 |
| La-EDTA | 0,00 | 0,00 | 2178 | 2723 |
| Pr-EDTA | 0,37 | 0,56 | 4308 | 9530 |
| Ce-EDTA | 0,37 | 0,56 | 5400 | 6536 |

L'association de deux colonnes a permis d'améliorer la résolution de la séparation avec des valeurs de d_0 tendant vers 1 même si quelques co-élutions persistent. Le nombre de plateaux théoriques a été doublé pour atteindre des valeurs maximales de 12500 plateaux, 16200 plateaux et 13600 plateaux respectivement pour les échantillons modèles 1, 2 et 3 (Tableau III- 11). Des exceptions sont toutefois à noter comme par exemple pour les complexes Gd-EDTA et Eu-EDTA dans l'échantillon modèle 2, dont le nombre de plateaux théoriques n'a été amélioré que par un facteur 1,3. Comme attendu, les temps d'analyse sont deux fois plus longs par rapport à ceux obtenus avec une seule colonne conduisant à une production doublée de volumes d'effluents. Dans ces conditions, le temps d'analyse est de 31 min au maximum, la perte de charges 500 bars et les volumes d'effluents 9,5 mL, ce qui reste raisonnable. Cette approche reste néanmoins globalement la plus rapide à mettre en œuvre et la moins productrice de volume d'effluent total, dans la mesure où elle ne nécessite pas d'ajustement particulier de compositions de phases mobiles contrairement aux deux autres approches. Ces ajustements peuvent demander beaucoup de temps et produire des volumes d'effluents significatifs.

VII. Conclusion

Afin de réduire les volumes d'effluents générés par la séparation des complexes Ln-acides polyaminocarboxyliques en mode HILIC tout en conservant ou en améliorant la résolution et l'efficacité, deux approches durables ont été entreprises. Les performances de colonnes fonctionnalisées par des groupements amide, remplies de FPP de taille sub-2- μm et de SPP de taille sub-3- μm , ont été évaluées et comparées à celle la colonne remplie de FPP de diamètre 3,5 μm , initialement utilisée pour la mise au point des séparations. Concernant la technologie FPP, les gains obtenus en diminuant le diamètre des particules, la longueur et le diamètre interne de la colonne, ont été évalués, conduisant à la sélection de la colonne Acquity (100 \times 2,1 et 1 mm ; 1,7 μm). Avec la technologie SPP, les conditions les plus satisfaisantes ont été obtenues avec la colonne Accucore (150 \times 2,1 mm, 2,6 μm). En comparant les deux technologies de phases stationnaires, des séparations deux fois plus efficaces, trois fois plus courtes et produisant 30% d'effluents ont été obtenues avec la colonne Acquity par rapport à la colonne Accucore. Cette étude comparative démontre que la technologie FPP est la plus adaptée pour répondre à nos problématiques. Une telle approche n'a jamais été entreprise à des fins de spéciation, en étudiant la séparation d'espèces métalliques par HILIC.

En complément, plusieurs approches ont été mises en œuvre pour améliorer la résolution en modifiant la sélectivité ou l'efficacité. Avec la colonne Acquity l'augmentation du pourcentage d'acétonitrile à 81% a donné des séparations plus résolutive mais d'une durée de 2h30. La dernière approche a été d'améliorer l'efficacité en couplant deux colonnes Acquity de mêmes dimensions (100 × 2,1 mm ; 1,7 μm). C'est l'approche la plus rapide à mettre en œuvre et globalement la moins productrice de volumes d'effluents. La réduction de l'échelle de ces séparations peut envisagée en utilisant une colonne de format capillaire ou en mettant au point un microsysteme, type laboratoire sur puce, intégrant la méthode séparative, afin de diminuer davantage les volumes d'échantillons et d'effluents.

Références :

- [1] Welch C. J., Wu N., Biba, M., Hartman R., Brkovic T., Gong X., *et al.*, "Greening analytical chromatography," *TrAC, Trends Anal. Chem.*, 29, (2010), 667-680.
- [2] Beuvier L., Bresson C., Nonell A., Vio L., Henry N., Pichon V., *et al.*, "Simple separation and characterization of lanthanide–polyaminocarboxylic acid complexes by HILIC ESI-MS," *RSC Adv.*, 5, (2015), 92858-92868.
- [3] Olives A. I., González-Ruiz V., Martín M. A., "Sustainable and eco-friendly alternatives for liquid chromatographic analysis," *ACS Sustainable Chem. Eng.*, 5, (2017), 5618-5634.
- [4] González-Ruiz V., Olives A. I., Martín M. A., "Core-shell particles lead the way to renewing high-performance liquid chromatography," *TrAC, Trends Anal. Chem.*, 64, (2015), 17-28.
- [5] Mattrey F. T., Makarov A. A., Regalado E. L., Bernardoni F., Figus M., Hicks M. B., *et al.*, "Current challenges and future prospects in chromatographic method development for pharmaceutical research," *TrAC, Trends Anal. Chem.*, 95, (2017), 36-46.
- [6] Tanaka N., McCalley D. V., "Core-Shell, Ultrasmall Particles, Monoliths, and Other Support Materials in High-Performance Liquid Chromatography," *Anal. Chem.*, 88, (2016), 279-298.
- [7] Borges E. M., Rostagno M. A., Meireles M. A. A., "Sub-2 μm fully porous and partially porous (core–shell) stationary phases for reversed phase liquid chromatography," *RSC Adv.*, 4, (2014), 22875-22887.
- [8] Guillaume D., "Evolutions majeures en chromatographie liquide," P1494, (2014), 1-13.
- [9] Lindner U., Lingott J., Richter S., Jiang W., Jakubowski N., Panne U., "Analysis of gadolinium-based contrast agents in tap water with a new hydrophilic interaction chromatography (ZIC-cHILIC) hyphenated with inductively coupled plasma mass spectrometry," *Anal Bioanal Chem*, 407, (2015), 2415-2422.
- [10] Birka M., Wehe C. A., Hachmoller O., Sperling M., Karst U., "Tracing gadolinium-based contrast agents from surface water to drinking water by means of speciation analysis," *J. Chromatogr. A*, 1440, (2016), 105-111.
- [11] Xie F., Colin P., Van Bocxlaer J., "Zwitterionic hydrophilic interaction liquid chromatography-tandem mass spectrometry with HybridSPE-precipitation for the determination of intact cisplatin in human plasma," *Talanta*, 174, (2017), 171-178.
- [12] Periat A., Debrus B., Rudaz S., Guillaume D., "Screening of the most relevant parameters for method development in ultra-high performance hydrophilic interaction chromatography," *J. Chromatogr. A*, 1282, (2013), 72-83.
- [13] Nováková L., Havlíková L., Vlčková H., "Hydrophilic interaction chromatography of polar and ionizable compounds by UHPLC," *TrAC, Trends Anal. Chem.*, 63, (2014), 55-64.
- [14] Birka M., Wehe C. A., Telgmann L., Sperling M., Karst U., "Sensitive quantification of gadolinium-based magnetic resonance imaging contrast agents in surface waters using hydrophilic interaction liquid chromatography and inductively coupled plasma sector field mass spectrometry," *J. Chromatogr. A*, 1308, (2013), 125-131.
- [15] Beuvier L., "Développement d'une méthode de séparation chromatographique couplée aux spectrométries de masse à source d'ionisation électrospray (ESI-MS) et à source plasma à couplage inductif (ICP-MS): application à l'analyse de spéciation des lanthanides," Université Pierre et Marie Curie-Paris VI, (2015), 1-243.

- [16] Committee, N. N. S., *International Handbook of Evaluated Criticality Safety Benchmarks Experiments*: OECD Nuclear Energy Agency, (1999).
- [17] Jordens A., Cheng Y. P., Waters K. E., "A review of the beneficiation of rare earth element bearing minerals," *Minerals Engineering*, 41, (2013), 97-114.
- [18] Jha M. K., Kumari A., Panda R., Rajesh Kumar J., Yoo K., Lee J. Y., "Review on hydrometallurgical recovery of rare earth metals," *Hydrometallurgy*, 165, (2016), 2-26.
- [19] Fisher A., Kara D., "Determination of rare earth elements in natural water samples - A review of sample separation, preconcentration and direct methodologies," *Anal. Chim. Acta.*, 935, (2016), 1-29.
- [20] Guillaume D., Nguyen D. T. T., Rudaz S., Veuthey J.-L., "Method transfer for fast liquid chromatography in pharmaceutical analysis: application to short columns packed with small particle. Part I: isocratic separation," *Eur. J. Pharm. Biopharm.*, 66, (2007), 475-482.
- [21] El Fallah M. Z., Martin M., "Influence of the peak height distribution on separation performances: Discrimination Factor and effective peak capacity," *Chromatographia*, 24, (1987), 115-122.
- [22] El Fallah M., Martin M., "Mesure de la qualité de la séparation chromatographique: le facteur de discrimination," *Analysis*, 16, (1988), 241-248.
- [23] Song H., Adams E., Desmet G., Cabooter D., "Evaluation and comparison of the kinetic performance of ultra-high performance liquid chromatography and high-performance liquid chromatography columns in hydrophilic interaction and reversed-phase liquid chromatography conditions," *J. Chromatogr. A*, 1369, (2014), 83-91.
- [24] Heaton J. C., Wang X., Barber W. E., Buckenmaier S. M., McCalley, D. V., "Practical observations on the performance of bare silica in hydrophilic interaction compared with C18 reversed-phase liquid chromatography," *J. Chromatogr. A*, 1328, (2014), 7-15.
- [25] Wu N., Bradley A. C., "Effect of column dimension on observed column efficiency in very high pressure liquid chromatography," *J. Chromatogr. A*, 1261, (2012), 113-120.
- [26] Lestremau F., Wu D., Szücs R., "Evaluation of 1.0 mm id column performances on ultra high pressure liquid chromatography instrumentation," *J. Chromatogr. A*, 1217, (2010), 4925-4933.
- [27] Spaggiari D., Fekete S., Eugster P. J., Veuthey J.-L., Geiser L., Rudaz S., *et al.*, "Contribution of various types of liquid chromatography–mass spectrometry instruments to band broadening in fast analysis," *J. Chromatogr. A*, 1310, (2013), 45-55.
- [28] Rodriguez-Aller M., Gurny R., Veuthey J. L., Guillaume D., "Coupling ultra high-pressure liquid chromatography with mass spectrometry: constraints and possible applications," *J. Chromatogr. A*, 1292, (2013), 2-18.
- [29] Wang X., Barber W. E., Long W. J., "Applications of superficially porous particles: High speed, high efficiency or both?," *J Chromatogr A*, 1228, (2012), 72-88.
- [30] Buszewski B., Noga S., "Hydrophilic interaction liquid chromatography (HILIC)-a powerful separation technique," *Anal. Bioanal Chem.*, 402, (2012), 231-247.
- [31] Hayes R., Ahmed A., Edge T., Zhang H., "Core-shell particles: preparation, fundamentals and applications in high performance liquid chromatography," *J. Chromatogr. A*, 1357, (2014), 36-52.
- [32] Dolzan M. D., Spudeit D. A., Breitbach Z. S., Barber W. E., Micke G. A., Armstrong, D. W., "Comparison of superficially porous and fully porous silica supports used for a cyclofructan 6 hydrophilic interaction liquid chromatographic stationary phase," *J. Chromatogr. A*, 1365, (2014), 124-130.

- [33] Heaton J. C., McCalley D. V., "Comparison of the kinetic performance and retentivity of sub-2 μm core-shell, hybrid and conventional bare silica phases in hydrophilic interaction," *J. Chromatogr. A*, 1371, **(2014)**, 106-116.
- [34] McCalley D. V., "Evaluation of the properties of a superficially porous silica stationary phase in hydrophilic interaction chromatography," *J. Chromatogr. A*, 1193, **(2008)**, 85-91.
- [35] Chauve B., Guillarme D., Cleon P., Veuthey J. L., "Evaluation of various HILIC materials for the fast separation of polar compounds," *J. Sep. Sci.*, 33, **(2010)**, 752-764.

Chapitre IV

Caractérisation isotopique des
éléments d'intérêts : évaluation
des performances des
techniques ESIMS et étude
comparée avec les techniques
de référence

I. Introduction

Analyser la spéciation d'un élément revient à déterminer la caractérisation structurale des différentes espèces chimiques ainsi que la caractérisation élémentaire et isotopique de l'élément dans chaque espèce [1]. En particulier, dans notre étude, la détermination de l'isotopie des Ln contenus dans les espèces Ln-acides polyaminocarboxyliques est fondamentale en raison des compositions isotopiques non naturelles qui seront rencontrées dans les échantillons d'origine nucléaire. En effet, ces compositions isotopiques ont un impact majeur sur la gestion de problématiques telles que la sûreté des installations, le stockage des déchets et le retraitement [2]. De plus, la caractérisation isotopique des Ln est indispensable à la mise en œuvre des méthodes de quantification par dilution isotopique en ligne, qui permettent généralement d'atteindre les meilleurs niveaux de précision [3]. Selon la composition des échantillons et des niveaux d'incertitudes requis, le couplage de l'HILIC à l'ESIMS peut s'avérer suffisant pour réaliser des études d'analyse de spéciation exhaustive, moyennant la possibilité de réaliser des mesures isotopiques avec cette technique. À notre connaissance, cette technique est très peu employée pour la caractérisation isotopique d'éléments libres ou complexés [4-7]. Le potentiel de l'ESIMS pour la mesure de compositions isotopiques d'éléments nécessite donc d'être évalué.

Ce chapitre a par conséquent été consacré à la mise au point de méthodes pour la caractérisation isotopique de Ln d'isotopie naturelle ou non-naturelle au sein de complexes Ln-acides polyaminocarboxyliques. S'agissant de développements complexes et nouveaux, ils ont été réalisés sur la base d'un système simple, le Sm-EDTA, avec du Sm d'isotopie naturelle, et sur signal stationnaire, en introduisant l'échantillon par infusion directe, afin de s'affranchir des difficultés liées au traitement des signaux transitoires en mode couplage. Les performances des deux spectromètres de masse à source d'ionisation électrospray (ESIMS : ElectroSpray Ionisation Mass Spectrometry), basse résolution, commerciaux présentés dans le chapitre II, comportant un triple quadripôle (QqQ) d'une part et une trappe ionique linéaire (LIT : Linear Ion Trap) d'autre part, seront discutées avec celles des techniques de référence à savoir la spectrométrie de masse à thermo-ionisation (TIMS : Thermal Ionisation Mass Spectrometry) et à source plasma à filtre de masse Quadripolaire (ICPMS-Q) et MultiCollecteur (ICPMS-MC). Pour rappel, les incertitudes de mesures de compositions isotopiques sont généralement de l'ordre du % avec un ICPMS-Q et inférieures à 0,1% avec un TIMS ou un ICPMS-MC.

Le premier défi à relever pour ces mises au point est d'accéder à la composition isotopique du Ln seul à partir des spectres de masse des complexes de Ln mesurés par ESIMS. En effet, les

massifs isotopiques obtenus en ESIMS sont modifiés par rapport à ceux mesurés en ICPMS en raison des contributions des isotopes de l'hydrogène (H), du carbone (C), de l'azote (N) et de l'oxygène (O) provenant de l'acide polyaminocarboxylique (Figure IV- 1).

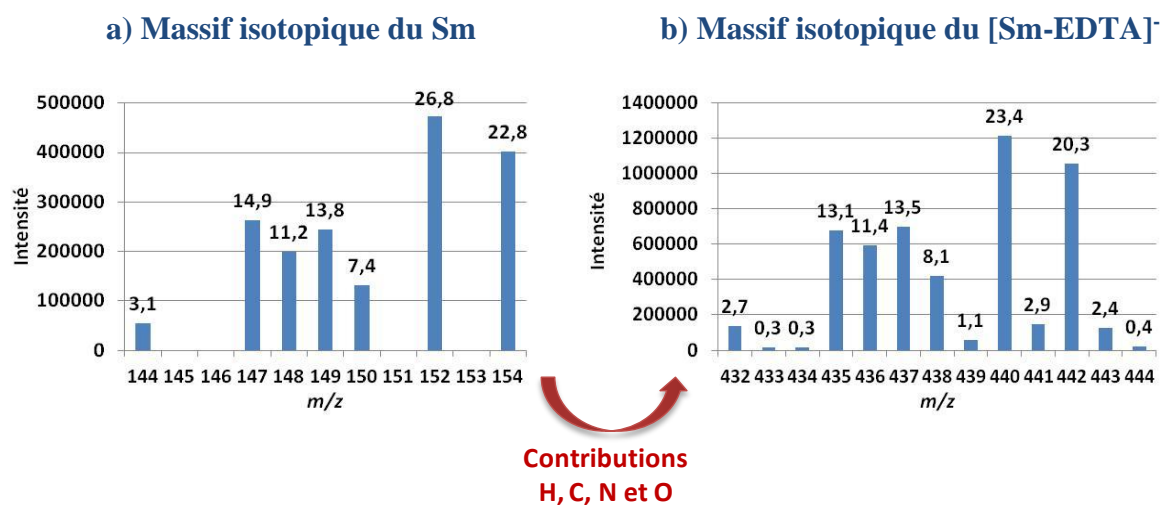


Figure IV- 1 : Spectres de masse expérimentaux avec les abondances atomiques respectives a) du Sm naturel en ICPMS b) du [Sm-EDTA] en ESIMS

La première partie de ce travail a consisté à déterminer la composition isotopique du Sm libre (lanthanide choisi comme référence) à partir des spectres de masse du complexe Sm-EDTA acquis par ESIMS basse résolution, en s'affranchissant des contributions isotopiques des éléments H, C, N et O par le biais d'une approche mathématique, on parlera alors de **déconvolution** des spectres de masse. À notre connaissance, aucune méthode de déconvolution permettant d'accéder à l'isotope d'un élément à partir du massif isotopique d'une espèce mesuré en ESIMS n'est décrite à ce jour dans la littérature. Une méthode de déconvolution des spectres de masse de complexes de Ln a par conséquent été mise au point à partir des méthodes de **convolution** disponibles dans la littérature. Ces méthodes de convolution permettent classiquement d'établir le massif isotopique d'une espèce chimique à partir de celui de chaque élément la constituant, de leur isotopie respective et de leur stœchiométrie [8-10]. La première approche a donc consisté à développer et à appliquer une méthode de déconvolution aux spectres de masse acquis en mode MS pour obtenir l'isotopie du Sm non complexé. Une deuxième approche a consisté à fragmenter le complexe de Sm en mode MS² ou MSⁿ, afin d'obtenir un produit dont les contributions isotopiques résiduelles des éléments H, C, N et O ont le minimum d'impact sur les mesures de rapports d'abondances par rapport au Ln libre, à l'instar de l'analyse isotopique de l'uranium réalisée par EESIMS [5].

Dans ce chapitre, les performances des deux approches pour la mesure de compositions isotopiques de Ln ont été évaluées avec l'ESIMS-QqQ et l'ESIMS-LIT, sur le système

Sm-EDTA d'isotopie naturelle. Les méthodes de mesures et de déconvolution ainsi mises au point ont ensuite été validées avec un échantillon $^{147-149}\text{Sm-EDTA}$ d'isotopie non naturelle connue, l'échantillon $^{147-149}\text{Sm}$ employé ayant été qualifié au préalable par TIMS. L'impact de la nature du ligand sur les performances de mesures, ainsi que les gammes dynamiques des deux instruments pour la mesure isotopique du Sm complexé à l'EDTA seront également présentés. Les méthodes développées dans ce chapitre seront ensuite appliquées en mode couplage, par HILIC-ESIMS/ICPMS dans le Chapitre V.

II. Matériels et méthodes

II.1. Mise au point des méthodes de mesure de rapports d'abondances du Sm complexé à l'EDTA

Le Sm est un élément d'intérêt dans le cycle du combustible utilisé notamment pour les problématiques de crédit Burn up [2]. Par ailleurs un traceur double enrichi $^{147-149}\text{Sm}$ qualifié en isotopie par TIMS au laboratoire est disponible.

Concernant les deux ESIMS, les paramètres de la source H-ESI II ont été optimisés avec le complexe Sm-EDTA, introduit en continu à un débit de $10 \mu\text{L}\cdot\text{min}^{-1}$. Le complexe Sm-EDTA a été préparé dans la phase mobile composée de 70/30 acétonitrile/eau - 0,5% d'acide formique - 15 mM d'acétate d'ammonium pour obtenir une concentration de $10^{-4} \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$ (~15 partie par million (ppm)) en Sm (Annexe 1 partie 3). Les paramètres de la source optimisés pour les deux instruments sont récapitulés dans le Tableau IV- 1. Un exemple de spectre de masse, obtenu avec l'ESIMS-LIT en mode ESI (-), est présenté en Annexe 6.

Tableau IV- 1 : Paramètres des sources ESIMS optimisés pour $[\text{Sm-EDTA}] = 10^{-4} \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$

| Paramètres de source | | ESIMS-QqQ | ESIMS-LIT |
|----------------------|--|-----------|-----------|
| Paramètres fixés | Température capillaire de transfert (°C) | 280 | |
| Paramètres optimisés | Tension du spray (V) | 3700 | |
| | Température de vaporisation (°C) | 90 | |
| | Gaz séchant (unité arbitraire) | 10 | |
| | Gaz auxiliaire (unité arbitraire) | 10 | 5 |
| | Skimmer offset (V) | 0 | - |
| | S-lens (%) | - | 70 |
| | Fragmentation en source (eV) | - | 40 |

L'influence des **paramètres d'acquisition** sur les mesures de rapports d'abondances du Sm complexé à l'EDTA a été étudiée en mode MS et en mode fragmentation (MS^2 et MS^n),

l'objectif étant d'obtenir les mesures les plus justes et les plus précises possibles. Les paramètres considérés, décrits dans le chapitre II, sont répertoriés dans le Tableau IV- 2.

Tableau IV- 2 : Paramètres d'acquisition étudiés avec les deux types d'instruments

| | ESIMS-QqQ | ESIMS-LIT |
|-------------------------------|---|---|
| Paramètres d'acquisition | - | - |
| Mode MS | Mode centroïde : sélectionné dans les précédents travaux [11] | Mode d'acquisition : centroïde/profil |
| | Gamme de masse | |
| | Nombre de scans | |
| | Temps de scan | - |
| | Largeur du pic à mi-hauteur | - |
| | - | Vitesse de balayage / largeur du pic à mi-hauteur |
| Mode MS/MS ou MS ⁿ | Largeur du pic à mi-hauteur pour Q ₁ | Fenêtre d'isolation de l'ion précurseur |

Plusieurs critères ont été employés pour l'évaluation des performances de mesures :

Le premier correspond aux calculs des « **écarts théoriques E_{th} (%)** » entre les rapports d'abondances théoriques, calculés à l'aide des méthodes de convolution classiques, et expérimentaux du Sm complexé à l'EDTA (Eq. IV-1) :

$$E_{th}(\%) = \frac{R_{mes} (Sm \text{ complexé}) - R_{th} (Sm \text{ complexé})}{R_{th} (Sm \text{ complexé})} \times 100 \quad (\text{Eq. IV- 1})$$

Avec : $R_{mes} (Sm \text{ complexé})$: rapports d'abondances du Sm complexé mesurés par ESIMS, $R_{th} (Sm \text{ complexé})$: rapports d'abondances théoriques du Sm complexé déterminés avec la méthode de convolution de Yergey [8], qui sera décrite ultérieurement.

Le second critère correspond à la **justesse (%)** entre les rapports isotopiques théoriques et expérimentaux du Sm non complexé, donc du Sm libre :

$$\text{Justesse} (\%) = \frac{R_{mes} (Sm) - R_{th} (Sm)}{R_{th} (Sm)} \times 100 \quad (\text{Eq. IV- 2})$$

Avec : $R_{mes} (Sm)$ rapports isotopiques mesurés du Sm non complexé, $R_{th} (Sm)$: rapports isotopiques théoriques du Sm non complexé, qualifié au préalable par TIMS [12].

Le dernier critère considéré est la **répétabilité**, permettant de mesurer la précision des rapports d'abondances calculés avec les rapports m/z du Sm complexé ou avec les rapports m/z du Sm libre. La répétabilité est calculée pour chaque expérience comprenant dix mesures et correspond à deux écarts-type relatifs σ (Eq. IV- 3) :

$$\text{Répétabilité (\%)} = 2\sigma(\%) = \frac{2 \text{ écart-type}}{\text{moyenne}} \times 100 \quad (\text{Eq. IV- 3})$$

Les rapports d'abondances seront présentés tout au long de ce chapitre sous forme d'histogrammes avec les écarts théoriques E_{th} ou les justesses associés à leur répétabilité.

À des fins de simplification, seuls les résultats obtenus sur les deux rapports d'abondances $^{432}\text{Sm-EDTA}/^{438}\text{Sm-EDTA}$ et $^{440}\text{Sm-EDTA}/^{438}\text{Sm-EDTA}$ seront présentés, avec m/z 432 l'ion du $[\text{Sm-EDTA}]^-$ comportant l'isotope du Sm naturel (^{nat}Sm) le moins abondant soit ^{144}Sm (3,1%), m/z 440 contenant l'isotope du ^{nat}Sm le plus abondant soit ^{152}Sm (26,8%) et m/z 438 contenant l'isotope de référence utilisé lors des analyses de combustibles soit ^{150}Sm (7,4%) (Figure IV- 1). Les rapports d'abondances ont également été calculés en prenant comme référence l'ion m/z 440 au dénominateur afin de vérifier la bonne cohérence des mesures et de mettre en évidence d'éventuelles interférences isobariques. Ces données ne seront cependant pas présentées dans ce manuscrit.

II.2. Développement d'une méthode de déconvolution

Dans ce travail, la méthode de convolution développée par Yergey en 1983 a été sélectionnée pour des raisons de simplicité, car elle permet de calculer précisément le massif isotopique d'un composé manuellement [8]. Son principe est décrit ci-après :

II.2.1. Principe de la convolution

La convolution consiste à déterminer le massif isotopique théorique d'une espèce à partir de la stœchiométrie des éléments la constituant et des abondances respectives des différents isotopes de ces éléments, ce qui revient à établir le spectre de masse d'une espèce obtenu par ESIMS [8]. Cette méthode est décrite ici pour le Sm-EDTA, sous forme monochargée $[\text{Sm-EDTA}]^-$, de formule brute $\text{SmC}_{10}\text{H}_{12}\text{N}_2\text{O}_8$, ce qui correspond aux conditions d'enregistrement dans nos études. La convolution se décline en trois étapes :

1^{ère} étape : *Calcul de l'abondance atomique de chaque permutation isotopique des éléments individuels*

Pour chaque élément, à l'exception du Sm dont la stœchiométrie est de 1, l'abondance atomique de chaque permutation isotopique a été calculée avec l'Eq. IV-4 :

$$A = \frac{n!}{a! b! c!} r_1^a r_2^b r_3^c \quad (\text{Eq. IV- 4})$$

Avec : A : abondance de la permutation (en pour mille)

n : nombre d'atomes de l'élément

r_1, r_2, r_3 : abondance atomique de chaque isotope de l'élément

a, b, c : nombre d'isotopes de l'élément dans la permutation donnée

Par exemple, une des permutations de C_{10} est $^{12}C_8^{13}C_2$. L'abondance atomique de cette permutation est calculée avec l'Eq. IV-4 :

$$A_{^{12}C_8^{13}C_2} = \frac{10!}{8! 2!} \times 0,9893^8 \times 0,0107^2 = 4,727 \times 10^{-3}$$

L'abondance de la permutation $^{12}C_8^{13}C_2$ est donc de 4727 ppm. Dans notre étude, les permutations ayant une abondance inférieure à 10 ppm n'ont pas été conservées pour les étapes ultérieures de calculs, leurs contributions étant considérées comme négligeables.

À noter que pour l'ensemble des éléments H, C, N et O, les abondances atomiques naturelles fournies par l'Union internationale de chimie pure et appliquée (IUPAC : International Union of Pure and Applied Chemistry) ont été utilisées [13].

2^{ème} étape : *Calcul des abondances des éléments combinés à partir des permutations atomiques*

L'abondance de chaque permutation du $[Sm-EDTA]^-$ correspond au produit des abondances des permutations isotopiques de chaque élément calculées dans l'étape 1, en respectant la stœchiométrie de l'espèce. Par exemple, l'abondance de la permutation $^{148}Sm^{12}C_8^{13}C_2^{1}H_{12}^{14}N_2^{16}O_7^{18}O_1$ est calculée comme suit (Eq. IV- 5) :

$$A_{^{148}Sm^{12}C_8^{13}C_2^{1}H_{12}^{14}N_2^{16}O_7^{18}O_1} = A_{^{148}Sm} \times A_{^{12}C_8^{13}C_2} \times A_{^1H_{12}} \times A_{^{14}N_2} \times A_{^{16}O_7^{18}O_1} \quad (\text{Eq. IV- 5})$$

La contribution de cette permutation sera observée au rapport m/z 440.

3^{ème} étape : *Calcul des abondances théoriques de chaque rapport m/z du Sm complexé à l'EDTA*

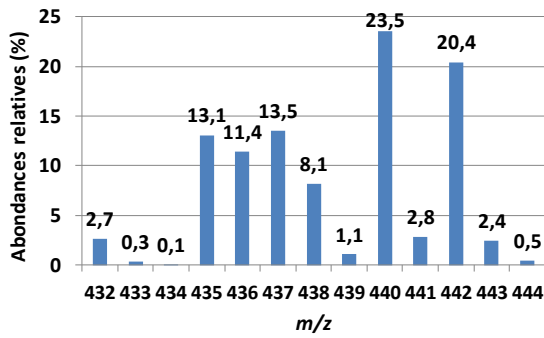
Cette étape consiste à effectuer la somme des abondances de toutes les permutations des éléments combinés calculées dans l'étape 2, ayant les mêmes rapports m/z pour chaque isotope du Sm. Les données sont ensuite reportées dans une matrice (Figure IV- 2), pour laquelle les colonnes correspondent aux rapports m/z de l'espèce et les lignes aux différentes contributions isotopiques de chaque isotope du Sm à ces rapports m/z .

L'abondance relative de chaque rapport m/z du Sm complexé à l'EDTA est calculée en effectuant la somme de chaque colonne (Figure IV- 2). Le spectre de masse théorique du $[Sm-EDTA]^-$ peut être ainsi établi et comparé à un spectre expérimental, comme par exemple celui obtenu par ESIMS-LIT (Figure IV- 3).

| rapport m/z | 432 | 433 | 434 | 435 | 436 | 437 | 438 | 439 | 440 | 441 | 442 | 443 | 444 | 445 | 446 | 447 | 448 | 449 | 450 |
|-------------------|-------|-------|-------|-----------|-----------|-----------|-----------|-----------|-----------|-----------|-----------|-----------|-----------|-----------|-----------|-----------|-----------|-----------|-----------|
| Isotope du Sm | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| ¹⁴⁴ Sm | 0,027 | 0,003 | 0,001 | 5,854E-05 | 6,106E-06 | 4,660E-07 | 2,061E-08 | 6,375E-10 | 4,583E-12 | 1,159E-14 | 8,864E-18 | | | | | | | | |
| ¹⁴⁷ Sm | | | | 0,131 | 0,016 | 0,003 | 2,858E-04 | 2,981E-05 | 2,276E-06 | 1,006E-07 | 3,113E-09 | 2,238E-11 | 5,657E-14 | 4,328E-17 | | | | | |
| ¹⁴⁸ Sm | | | | | 0,098 | 0,012 | 0,002 | 2,143E-04 | 2,235E-05 | 1,684E-06 | 7,545E-08 | 2,334E-09 | 1,678E-11 | 4,242E-14 | 3,245E-17 | | | | |
| ¹⁴⁹ Sm | | | | | | 0,121 | 0,014 | 0,003 | 2,635E-04 | 2,749E-05 | 2,098E-06 | 9,277E-08 | 2,870E-09 | 2,063E-11 | 5,215E-14 | 3,990E-17 | | | |
| ¹⁵⁰ Sm | | | | | | | 0,064 | 0,008 | 0,001 | 1,407E-04 | 1,468E-05 | 1,120E-06 | 4,954E-08 | 1,533E-09 | 1,102E-11 | 2,785E-14 | 2,131E-17 | | |
| ¹⁵² Sm | | | | | | | | | 0,234 | 0,028 | 0,005 | 0,001 | 5,320E-05 | 4,061E-06 | 1,796E-07 | 5,555E-09 | 3,993E-11 | 1,009E-13 | 7,723E-17 |
| ¹⁵⁴ Sm | | | | | | | | | | | 0,199 | 0,024 | 0,005 | 4,338E-04 | 4,525E-05 | 3,454E-06 | 1,527E-07 | 4,724E-09 | 3,396E-11 |
| Total | 0,03 | 0,00 | 0,00 | 0,13 | 0,11 | 0,14 | 0,08 | 0,01 | 0,24 | 0,03 | 0,20 | 0,02 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | 0,00 |
| Abondance (%) | 2,7 | 0,3 | 0,1 | 13,1 | 11,4 | 13,5 | 8,1 | 1,1 | 23,5 | 2,8 | 20,4 | 2,4 | 0,5 | 0,0 | 0,0 | 0,0 | 0,0 | 0,0 | 0,0 |

Figure IV- 2 : Abondances relatives théoriques en pourcent pour chaque rapport m/z du complexe [Sm-EDTA]⁻

a) Spectre de masse théorique du [Sm-EDTA]⁻



b) Spectre de masse expérimental du [Sm-EDTA]⁻

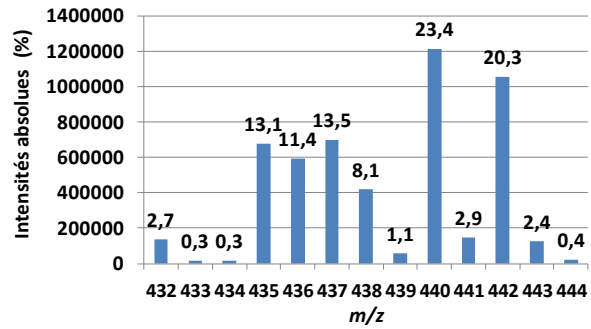


Figure IV- 3 : Spectres de masse du [Sm-EDTA]⁻, théorique en abondances relatives et expérimental en intensités absolues

Les abondances relatives pour les deux spectres sont comparables, ce qui confirme la bonne cohérence de la méthode de calcul employée. Afin d’obtenir la composition isotopique du Sm libre à partir d’une mesure effectuée par ESIMS donnant les rapports m/z du [Sm-EDTA]⁻ et donc du Sm complexé, une méthode de déconvolution des spectres de masse, correspondant à la réciproque de la méthode de convolution présentée ci-dessus, a été développée.

II.2.2. Influence de la variation de l’abondance isotopique naturelle des éléments H, C, N, et O sur la convolution du spectre du Sm-EDTA

La méthode de convolution présentée dans le cas du ^{nat}Sm-EDTA fait appel aux abondances naturelles des isotopes H, C, N et O fournies par l’IUPAC [14]. Comme illustré en Figure IV- 4 dans le cas de l’oxygène, ces éléments présentent des gammes de variations isotopiques naturelles liées à divers paramètres : origine, phénomènes de fractionnements isotopiques, etc. L’impact potentiel de ces variations naturelles sur les calculs d’abondances présentés précédemment a par conséquent été évalué.

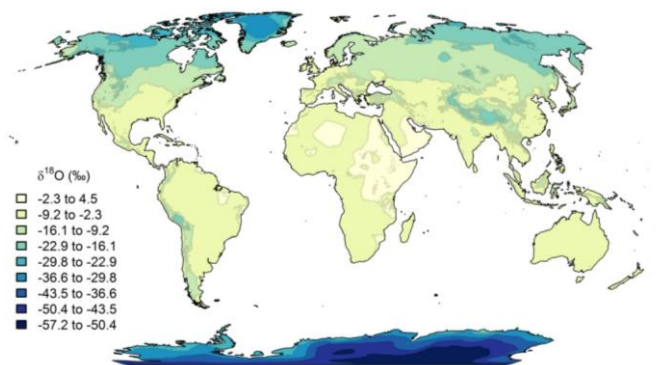


Figure IV- 4 : Fractionnement isotopique de l’oxygène dans le monde [15]

En considérant les combinaisons d’abondances naturelles les plus extrêmes fournies par l’IUPAC [14] pour chaque élément H, C, N et O, l’impact maximal sur les abondances relatives calculé est de $\pm 1,4\%$ pour le rapport $^{432}\text{Sm-EDTA}/^{438}\text{Sm-EDTA}$, avec l’espèce $^{432}\text{Sm-EDTA}$

correspondant à l'isotope ^{144}Sm de très faible abondance relative (3,1%). Pour les autres rapports isotopiques, l'écart est inférieur à 0,1%. Ces variations seront donc considérées comme négligeables dans la suite de cette étude.

II.2.3. Principe de la déconvolution

Comme indiqué plus haut, la **déconvolution** consiste à déterminer la composition isotopique du Sm à partir du massif isotopique du $[\text{Sm-EDTA}]^-$ mesuré par ESIMS, en s'affranchissant des contributions des isotopes des éléments H, C, N et O. La méthode de déconvolution mise au point dans ce travail comporte deux étapes :

1^{ère} étape : Détermination de la matrice des contributions H, C, N et O pour chaque rapport m/z du $[\text{Sm-EDTA}]^-$.

À partir de la matrice des abondances présentée en Figure IV- 2, un système de n équations à n inconnues doit être défini et résolu, avec $n=7$ dans le cas du $^{\text{nat}}\text{Sm-EDTA}$. Pour ce faire, seules les colonnes contenant les premières permutations de chacun des isotopes du Sm ont été conservées. Chaque ligne de la matrice est divisée par l'abondance atomique du Sm d'isotopie naturelle, de telle sorte à obtenir une nouvelle matrice ne comprenant que les contributions isotopiques des éléments H, C, N et O provenant de l'acide polyaminocarboxylique (Figure IV- 5).

| rapport m/z - contributions H,C, N et O pour les différents isotopes du Sm | 432 | 435 | 436 | 437 | 438 | 440 | 442 |
|--|-------|-----------|-----------|-----------|-----------|-----------|-----------|
| ^{144}Sm | 0,873 | 1,907E-03 | 1,989E-04 | 1,518E-05 | 6,713E-07 | 1,493E-10 | 2,887E-16 |
| ^{147}Sm | | 0,873 | 0,105 | 0,020 | 1,907E-03 | 1,518E-05 | 2,077E-08 |
| ^{148}Sm | | | 0,873 | 0,105 | 0,020 | 1,989E-04 | 6,713E-07 |
| ^{149}Sm | | | | 0,873 | 0,105 | 1,907E-03 | 1,518E-05 |
| ^{150}Sm | | | | | 0,873 | 0,020 | 1,989E-04 |
| ^{152}Sm | | | | | | 0,873 | 0,020 |
| ^{154}Sm | | | | | | | 0,873 |

Figure IV- 5 : Matrice des contributions des premières permutations de H, C, N, O de l'EDTA aux rapports m/z du $[\text{Sm-EDTA}]^-$

2^{ème} étape : Détermination des rapports isotopiques du Sm à partir des contributions H, C, N et O et des intensités mesurées de chaque rapport m/z du Sm complexé

Les intensités mesurées (I) et les valeurs de la matrice représentative des contributions isotopiques de H, C, N, O permettent de définir un système de n équations à n inconnues, avec $n=7$ dans le cas du $^{\text{nat}}\text{Sm-EDTA}$, les inconnues étant ici les abondances atomiques des isotopes du Sm.

Par exemple pour m/z 432 et m/z 435 (Eq. IV-6) :

$$^{432}\text{I} = 0,873^{144}\text{A} \text{ et } ^{435}\text{I} = 0,001907^{144}\text{A} + 0,873^{147}\text{A} \quad (\text{Eq. IV- 6})$$

Les rapports isotopiques du Sm non complexé sont ensuite calculés en combinant les différentes abondances atomiques obtenues. Un exemple est donné ci-dessous dans le cas du rapport $^{147}\text{Sm}/^{144}\text{Sm}$:

$$\begin{array}{ccc} \text{Intensités mesurées} & & \text{Rapport isotopique} \\ \boxed{\frac{^{432}\text{I}}{^{435}\text{I}}} = \frac{0,87309 \times ^{144}\text{A}}{0,001907 \times ^{144}\text{A} + 0,87309 \times ^{147}\text{A}} \longrightarrow & \longrightarrow & \boxed{\frac{^{147}\text{A}}{^{144}\text{A}}} = \frac{0,87309 - 0,001907 \times \frac{^{432}\text{I}}{^{435}\text{I}}}{0,87309 \times \frac{^{432}\text{I}}{^{435}\text{I}}} \quad (\text{Eq. IV- 7}) \\ \text{Espèce} & & \text{Elément} \end{array}$$

La méthode de déconvolution développée est indépendante de l'isotopie du Sm, elle pourra donc être employée et validée par la mesure du complexe enrichi $^{147-149}\text{Sm-EDTA}$ comportant du Sm d'isotopie non naturelle connue.

III. Résultats

Les méthodes de mesures de rapports d'abondances du $[\text{Sm-EDTA}]^-$ acquis en mode MS ont été mises au point avec l'ESIMS-QqQ et l'ESIMS-LIT, afin de sélectionner les paramètres d'acquisition donnant les meilleures performances en termes de répétabilité et d'écarts théoriques E_{th} . Puis, la composition isotopique du Sm non complexé a été déterminée par (1) déconvolution des spectres de masse acquis en mode MS ou par (2) fragmentation des complexes en mode MS^2 ou MS^n .

III.1. Mise au point des mesures de rapports d'abondances du Sm complexé à l'EDTA en mode MS

Les paramètres de la source ont été optimisés avec une solution de Sm-EDTA préparée dans la phase mobile à une concentration de $10^{-4} \text{ mol.L}^{-1}$ (Annexe 1 partie 3). L'échantillon est introduit en continu dans la source à un débit de $10 \mu\text{L.min}^{-1}$. Les valeurs de ces paramètres pour les deux instruments sont indiquées dans le Tableau IV- 1.

La configuration initiale des paramètres d'acquisition correspondant à des valeurs standards classiques, est donnée pour chaque ESIMS dans le Tableau IV- 3.

Tableau IV- 3 : Configuration initiale des paramètres d'acquisition en mode MS avec les deux ESIMS

| | ESIMS-QqQ | ESIMS-LIT |
|---|---|------------------------------|
| Mode d'acquisition | Centroïde fixé d'après les précédents travaux | Centroïde |
| Gamme de masse - Mode MS | 100-1000 full scan | 50-1000 full scan |
| Nombre de scans | 200 | |
| Temps de scans | 0,5 s | - |
| Largeur de pic à mi-hauteur | 0,5 | - |
| Vitesse de balayage/ Largeur de pic à mi-hauteur | - | 33 kDa.s ⁻¹ / 0,5 |

Dans ce travail, une étude préliminaire réalisée dans ce travail a démontré que le nombre de micro scans n'avait pas d'impact sur la répétabilité et sur les écarts théoriques E_{th} avec l'ESIMS-LIT et l'ESIMS-QqQ, pour 200 scans par mesure, ce qui est un nombre de scans relativement élevé. Par ailleurs, l'influence de ce paramètre sur la mesure du rapport isotopique $^{235}\text{U}/^{238}\text{U}$ dans des composés de nitrate d'uranyle a été étudiée avec un spectromètre de masse LIT-Orbitrap [16]. Cette étude a démontré qu'une augmentation du nombre de micro scan engendrait des mesures plus justes, mais avec un nombre maximal de 10 scans par mesure. Lorsque le nombre de scans devient significatif, le nombre de micro scans par scan n'a plus d'influence sur les mesures. Par conséquent, l'influence du nombre de micro scans sur les rapports d'abondances du Sm complexé ne sera pas discutée dans ce chapitre et les valeurs standards préconisées par le constructeurs, ont été sélectionnées pour l'ensemble de l'étude : 3 pour l'ESIMS-LIT et 1 pour l'ESIMS-QqQ. Avec l'ESIMS-LIT, les valeurs standards du temps d'injection maximal et de l'AGC target étant optimales pour les mesures de rapports d'abondances dans nos échantillons, elles ont été conservées ; elles sont de 10 ms pour le temps d'injection maximal et de 30 000 pour l'AGC Target en mode full scan et 10 000 pour les modes SIM et MSⁿ. L'influence de ces paramètres, également décrits dans le chapitre II, ne sera pas non plus évaluée dans ce travail.

À partir de ces configurations initiales, l'influence de chaque paramètre d'acquisition sur la mesure de rapports d'abondances du Sm complexé a été étudiée, avec dix mesures ($n = 10$) pour chaque expérience, en choisissant une gamme de masse adaptée pour l'analyse d'échantillons réels selon une approche non ciblée, en mode centroïde et une largeur de pic à mi-hauteur de 0,5u pour différencier les différents rapports m/z du massif isotopique du complexe Sm-EDTA.

III.1.1. Impact des blancs sur les mesures de rapports d'abondances

Pour mettre au point ces méthodes de mesures, l'impact des blancs sur les mesures de rapports d'abondance du Sm complexé a été étudié avec l'ESIMS-LIT. Le complexe Tb-EDTA a été employé dans ce cas en tant que blanc, car il permet d'obtenir à la fois d'avoir une matrice et des conditions d'ionisation comparables à celles associées à l'analyse du Sm-EDTA. De plus, le [Tb-EDTA]⁻ de rapport m/z 447 n'interfère pas avec le massif isotopique du [Sm-EDTA]⁻. Avec les paramètres de la source optimisés pour le Sm-EDTA, les contributions de ce blanc se sont avérées négligeables et n'ont donc pas été considérées dans la suite de l'étude.

III.1.2. Mise au point des mesures de rapports d'abondances en mode MS avec l'ESIMS-QqQ

▪ Gamme de masse d'acquisition

Différentes gammes de masse d'acquisition ont été considérées et leur impact sur les écarts théoriques E_{th} et les répétabilités des rapports d'abondances du Sm complexé a été étudié :

- 1) 100-1000, avec $\Delta m=900$, en mode full scan permettant de réaliser une analyse panoramique de l'échantillon, dans le cas d'une approche non-ciblée.
- 2) 120-460, 270-610 et 420-760, avec $\Delta m=340$ en mode full scan, pour étudier l'impact de la borne inférieure et supérieure de la gamme d'acquisition sur les mesures de rapports d'abondances du Sm complexé, comme schématisé en Figure IV- 6.
- 3) 431-443, avec $\Delta m=12$ en mode full scan et en mode SIM, afin de mesurer uniquement les isotopes du [Sm-EDTA]⁻, dans le cas d'une approche ciblée.

Des exemples de spectres de masse acquis avec des gammes de masse 270-610 et 431-443 sont exposés en Annexe 7.

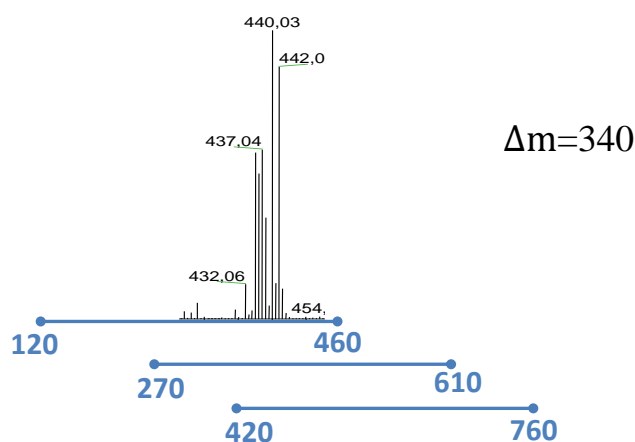


Figure IV- 6 : Gammes de masse d'acquisition identiques avec des bornes inférieure et supérieure différentes

Les écarts théoriques E_{th} et les répétabilités des rapports d'abondances du Sm complexé sont présentés en Figure IV- 7 pour les gammes de masse d'acquisition précitées.

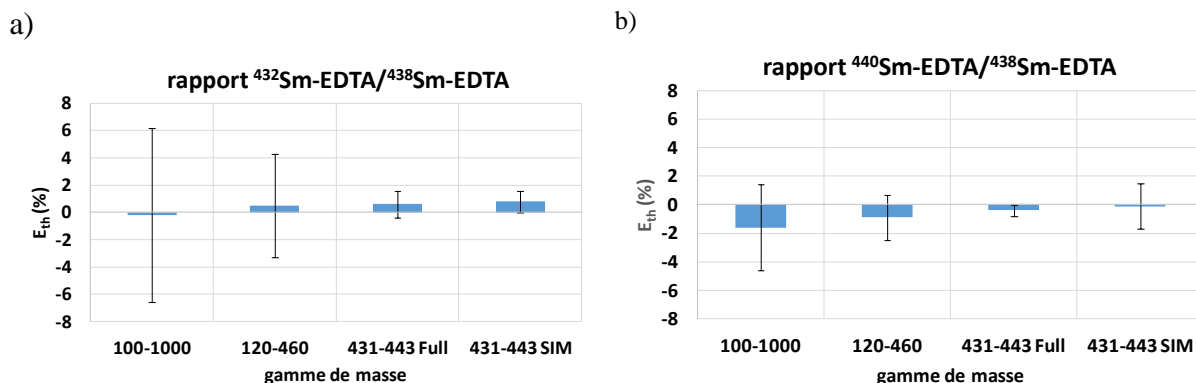


Figure IV- 7 : Impact de la gamme masse d'acquisition sur l'écart théorique E_{th} et la répétabilité à $k=2$, pour les rapports a) $^{432}\text{Sm-EDTA}/^{438}\text{Sm-EDTA}$ b) $^{440}\text{Sm-EDTA}/^{438}\text{Sm-EDTA}$. Paramètres d'acquisition de l'ESIMS-QqQ : largeur de pic à mi-hauteur 0,5 - 200 scans - temps de scan=0,5 s ($n=10$)

Les résultats obtenus pour les gammes de masse d'acquisition 270-610 et 420-760 ne sont pas représentés en raison des écarts théoriques E_{th} et des répétabilités, comparables à ceux obtenus pour la gamme de masse d'acquisition 120-460. Ils sont expliqués par le fait que l'ESIMS-QqQ se comporte comme un filtre passe bande en fixant le rapport U/V constant (Figure II- 14) [17]. Les écarts théoriques E_{th} sont inférieurs à 2% en valeur absolue pour la gamme de masse d'acquisition 100-1000 et inférieurs à 1% pour 431-443 en mode full scan et SIM et pour 120-460 en mode full scan. Par des raisons de simplification, le terme « valeur absolue » ne sera plus précisé pour décrire les valeurs des écarts théoriques E_{th} par la suite. Les répétabilités sont quant à elles supérieures à 2% pour l'ensemble des rapports d'abondances et pour toutes les gammes de masse d'acquisition, hormis pour 431-443 en mode full scan et mode SIM. Les mesures de rapports d'abondances du Sm complexé sont donc justes et précises lorsque la gamme de masse d'acquisition est réduite à celles du massif isotopique du [Sm-EDTA]. À partir des écarts théoriques et les répétabilités obtenus pour l'ensemble des rapports isotopiques en mode full scan et SIM 431-443, l'incertitude de la mesure a été calculée et a permis de démontrer que sur cette série de mesure, le mode SIM permet d'obtenir les mesures de rapports d'abondances les plus justes et les plus précises possibles (Annexe 7). Mais, dans l'ensemble, le mode full scan et SIM permettent d'obtenir des incertitudes de mesures du même ordre de grandeur. Compte tenu des spécificités de cet instrument, la diminution de la gamme de masse d'acquisition permet d'être plus sensible en collectant les ions d'intérêts plus longtemps pour un même temps de scan. En outre, en mode SIM, de meilleurs résultats étaient attendus puisque les ions d'intérêt sont mesurés à l'apex du pic de masse, contrairement au mode full scan, où toute l'enveloppe du pic de masse est prise en compte. Par conséquent, la gamme de masse

d'acquisition 431-443 en mode SIM a été sélectionnée pour la suite de l'étude. Les bornes de la gamme de masse d'acquisition sont ajustées selon le complexe de Ln ciblé.

▪ **Largeur à mi-hauteur**

La largeur de pic à mi-hauteur (FWHM : Full Width at Half Maximum) étant communément utilisée en ESIMS basse résolution pour refléter ce paramètre, son impact sur les mesures de rapports d'abondances a été étudié avec des valeurs de 0,1 ; 0,3 ; 0,5 et 0,7 (Figure IV- 8). Cette gamme pourrait être plus étendue, mais au-delà de 1, les ions du complexe [Sm-EDTA]⁻ ne seront plus séparés.

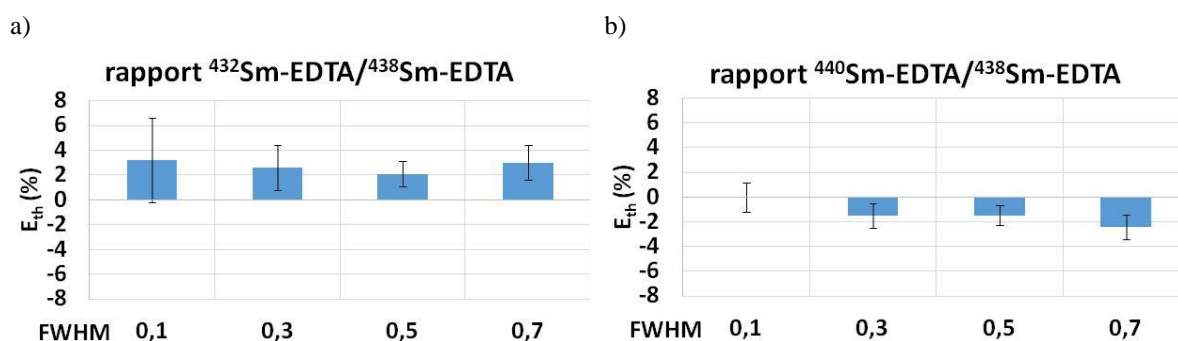


Figure IV- 8 : Impact de la largeur de pic à mi-hauteur sur l'écart théorique E_{th} et la répétabilité à $k=2$ pour les rapports a) $^{432}\text{Sm-EDTA}/^{438}\text{Sm-EDTA}$ b) $^{440}\text{Sm-EDTA}/^{438}\text{Sm-EDTA}$. Paramètres d'acquisition de l'ESIMS-QqQ : gamme de masse 431-443 en mode SIM - 200 scans - temps de scan=0,5 s ($n=10$)

Les écarts théoriques E_{th} et les répétabilités sont inférieurs à 2% quelle que soit la valeur de la largeur du pic à mi-hauteur, hormis pour le rapport $^{432}\text{Sm-EDTA}/^{438}\text{Sm-EDTA}$. On peut noter que pour une valeur de FWHM de 0,1 la répétabilité est plus élevée que pour les autres valeurs, notamment pour le rapport $^{432}\text{Sm-EDTA}/^{438}\text{Sm-EDTA}$ (Annexe 8). Cette observation est expliquée par une diminution de la sensibilité lorsque la résolution augmente et donc lorsque la FWHM diminue (Annexe 8). Pour des largeurs de pic à mi-hauteur comprises entre 0,3 et 0,7, ce paramètre n'a pas d'impact significatif sur la mesure des rapports d'abondances. Au vu de ces résultats, une FWHM de 0,5 a été sélectionnée pour la suite de l'étude puisqu'elle permet d'obtenir les meilleurs résultats pour le rapport $^{432}\text{Sm-EDTA}/^{438}\text{Sm-EDTA}$.

En revanche, en comparant ces résultats avec ceux obtenus en mode SIM lors de l'étude de l'impact de la gamme de masse, (Figure IV- 7), on peut noter que les écarts théoriques E_{th} sont plus élevés pour cette session de mesures, et ce, en raison d'une perte de sensibilité de 10% par rapport à la session précédente. Cette perte de sensibilité due à un début d'encrassement de l'optique ionique, a été considérée comme n'impactant pas la sélection des paramètres d'acquisition.

▪ Nombre de scans

Ce paramètre est important à considérer en vue de la mesure en ligne des rapports d'abondances par HILIC-ESIMS, un pic chromatographique devant comprendre douze scans au minimum pour être défini correctement [18]. L'influence du nombre de scans par acquisition sur les écarts théoriques E_{th} et répétabilités a été étudiée en accumulant 10, 20, 50, 100 et 200 scans (Figure IV- 9).

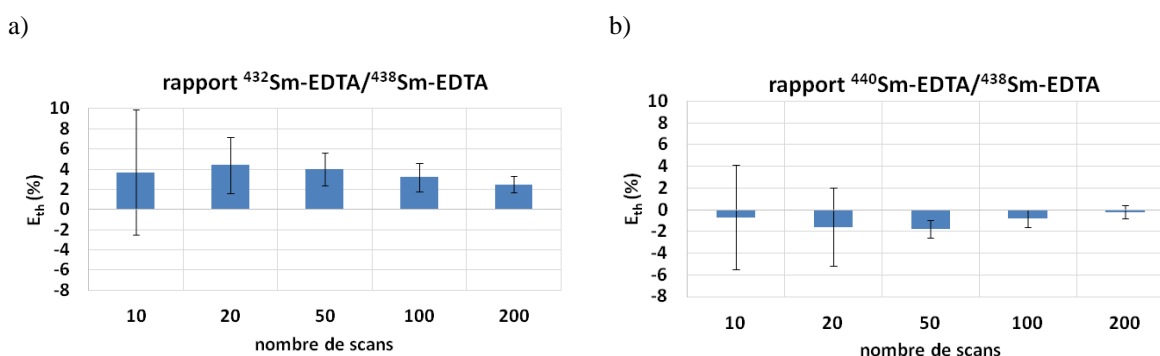


Figure IV- 9 : Impact du nombre de scans sur l'écart théorique E_{th} et la répétabilité à $k=2$ pour les rapports a) $^{432}\text{Sm-EDTA}/^{438}\text{Sm-EDTA}$ b) $^{440}\text{Sm-EDTA}/^{438}\text{Sm-EDTA}$. Paramètres d'acquisition de l'ESIMS-QqQ : gamme de masse 431-443 en mode SIM - largeur de pic à mi-hauteur 0,5 - temps de scan=0,5 s ($n=10$)

Les écarts théoriques E_{th} sont inférieurs à 2% hormis pour le rapport $^{432}\text{Sm-EDTA}/^{438}\text{Sm-EDTA}$. À partir de 50 scans, les répétabilités sont inférieures à 2%. Lorsque le nombre de scans augmente, les écarts théoriques E_{th} et les répétabilités diminuent, de façon logique. En effet, la justesse et la répétabilité de la mesure des rapports d'abondances sont impactées par la statistique de comptage des ions. Celle-ci étant dégradée pour 10 ou 20 scans, les répétabilités et les justesses associées sont donc élevées. En HILIC-ESIMS, l'élution du complexe Sm-EDTA dure environ une minute et comprend environ 100 scans avec un temps de scan 0,5 s. Par conséquent, un nombre de scans de 100 a été sélectionné pour la suite de l'étude, car il permet d'obtenir les meilleurs écarts théoriques et répétabilités avec une fréquence d'acquisition suffisamment élevée pour définir un pic d'élution dans nos conditions chromatographiques.

▪ Temps de scan

Le temps de scan correspond au temps nécessaire pour balayer la gamme de masse spécifiée en mode full scan. Avec la gamme de masse 431-443 en mode SIM, ce temps correspond au temps nécessaire pour mesurer les différents ions de la gamme de masse en ne mesurant que l'apex du pic de masse des ions d'intérêts. Des valeurs de temps de scan de 0,01 à 1 s ont été testées. Celles-ci ont été choisies afin d'obtenir un temps d'acquisition n'excédant pas une minute, durée d'un pic chromatographique. Les résultats obtenus sont exposés en Figure IV- 10.

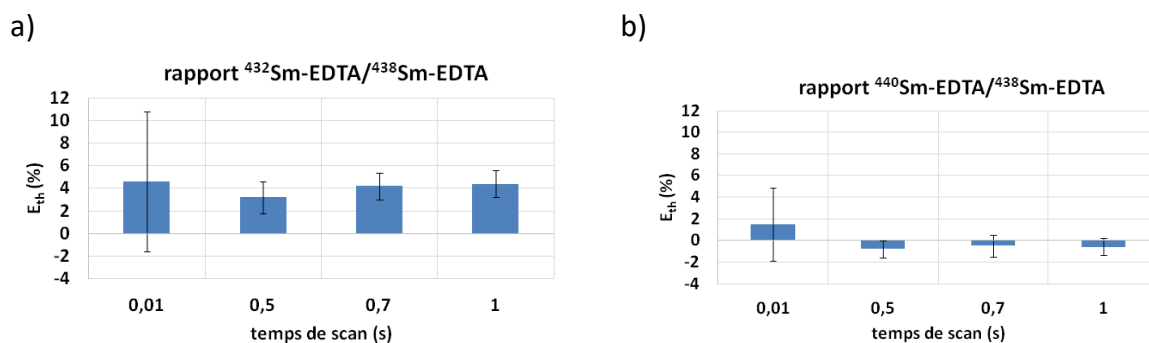


Figure IV- 10 : Impact du temps de scan sur l'écart théorique E_{th} et la répétabilité à $k=2$ pour les rapports a) $^{432}\text{Sm-EDTA}/^{438}\text{Sm-EDTA}$ b) $^{440}\text{Sm-EDTA}/^{438}\text{Sm-EDTA}$. Paramètres d'acquisition de l'ESIMS-QqQ : gamme de masse 431-443 en mode SIM - largeur de pic à mi-hauteur 0,5 -100 scans ($n=10$)

En augmentant la valeur du temps de scan de 0,01 à 0,5 s, les écarts théoriques E_{th} et les répétabilités diminuent significativement. Au-delà de 0,5 s, l'influence du temps de scan sur les écarts théoriques E_{th} et les répétabilités est négligeable. Pour le nombre de scans sélectionné, les écarts théoriques sont inférieurs à 1% pour l'ensemble des rapports, excepté pour le rapport $^{432}\text{Sm-EDTA}/^{438}\text{Sm-EDTA}$. Les répétabilités associées sont inférieures à 2%. Les valeurs des écarts théoriques et de répétabilités observées pour un temps de scan de 0,01 s sont expliquées par la statistique de comptage, qui est ici dégradée. Une valeur minimale de 0,5 s serait donc suffisante, mais une valeur de temps de scan de 0,7 s a été sélectionnée pour la suite de l'étude en infusion directe pour améliorer la sensibilité en mesurant les ions un plus longtemps.

Le schéma récapitulatif de la sélection des paramètres d'acquisition sélectionnés en mode MS avec l'ESIMS-QqQ est présenté en Figure IV- 11.

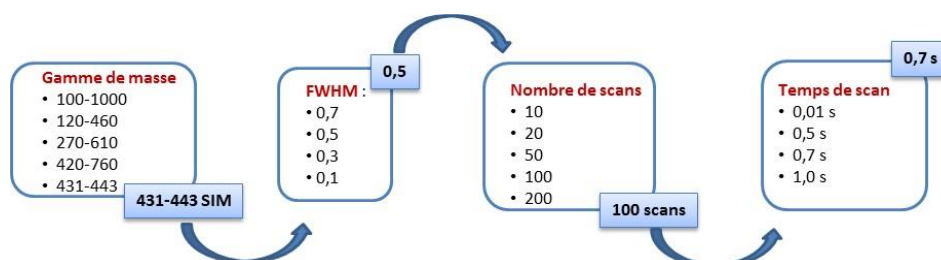


Figure IV- 11 : Récapitulatif des paramètres d'acquisition sélectionnés pour la mesure de rapports isotopiques en mode MS avec l'ESIMS-QqQ ($n=10$)

Les conditions retenues permettent d'obtenir des écarts théoriques et des répétabilités respectivement inférieures à 4% et 2%. Cette étude a également permis de montrer que pour certains paramètres d'acquisition, plusieurs choix étaient possibles sans avoir pour autant un impact significatif sur la qualité des mesures.

III.1.3. Mise au point des mesures de rapports d'abondances en mode MS avec l'ESIMS-LIT

▪ Influence du mode d'acquisition : Profil/Centroïde

L'impact du mode d'acquisition centroïde/profil sur les écarts théoriques E_{th} et les répétabilités pour la mesure des rapports du Sm complexé à l'EDTA a été étudié avec l'ESIMS-LIT. Les résultats obtenus pour les rapports $^{432}\text{Sm-EDTA}/^{438}\text{Sm-EDTA}$ et $^{440}\text{Sm-EDTA}/^{438}\text{Sm-EDTA}$ sont présentés en Figure IV- 12.

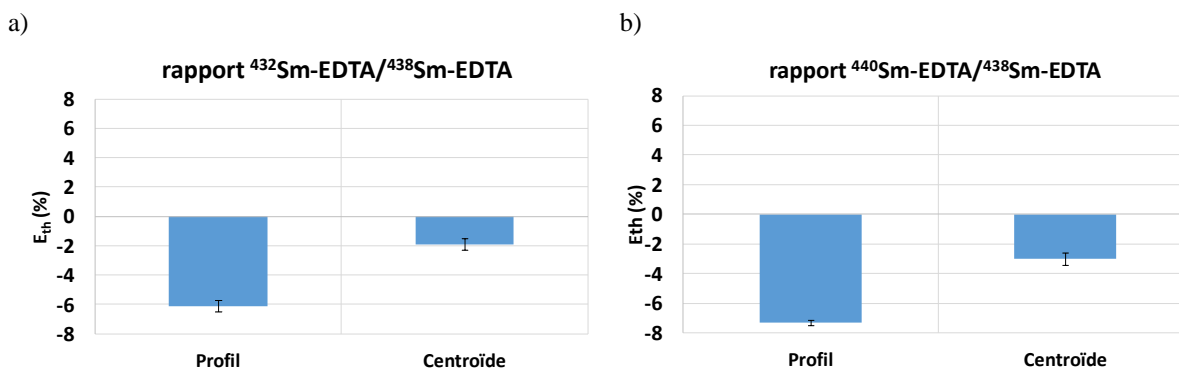


Figure IV- 12 : Impact du mode d'acquisition sur l'écart théorique E_{th} et la répétabilité à $k=2$ pour les rapports a) $^{432}\text{Sm-EDTA}/^{438}\text{Sm-EDTA}$ b) $^{440}\text{Sm-EDTA}/^{438}\text{Sm-EDTA}$. Paramètres d'acquisition de l'ESIMS-LIT : vitesse de balayage 33 kDa.s^{-1} largeur de pic à mi-hauteur 0,5 - gamme de masse 50-1000 - 200 scans ($n=10$)

En mode centroïde, les écarts théoriques E_{th} sont de l'ordre de 3% contre 7% en mode profil. Les répétabilités sont quant à elles négligeables puisqu'elles sont inférieures à 0,5% avec les deux modes d'acquisition. Le mode centroïde a donc été sélectionné pour la suite de l'étude. Ces résultats peuvent probablement être expliqués par l'intensité maximale du centroïde qui est obtenue à l'aide d'un algorithme en prenant en compte la moyenne pondérée pour l'ensemble des points constituant le pic de masse, comme expliqué dans le chapitre II. Ces résultats sont en accord avec ceux obtenus lors des précédents travaux menés au laboratoire avec le complexe Sm-DTPA [11].

▪ Vitesse de balayage / Largeur de pic à mi-hauteur

Avec l'ESIMS-LIT, la résolution est liée à la vitesse de balayage. En effet, plus la vitesse de balayage est lente, plus la résolution est importante. Par conséquent, plusieurs vitesses de balayages ont été testées pour les mesures d'abondances : $2,2 \text{ kDa.s}^{-1}$, 10 kDa.s^{-1} et 33 kDa.s^{-1} (Figure IV- 13). Les largeurs de pic à mi hauteur (FWHM : Full Width at Half Maximum) associées sont indiquées sur la Figure II- 22.

Les vitesses de balayage de 66 et 125 kDa.s^{-1} n'ont pas été considérées en raison de la résolution associée trop faible. À contrario, bien que la vitesse de balayage de 27 Da.s^{-1} permette

d'atteindre une résolution plus importante, elle sera à terme un facteur limitant pour obtenir suffisamment de points pour définir un pic chromatographique en HILIC-ESIMS, en raison du temps d'éjection des ions trop important.

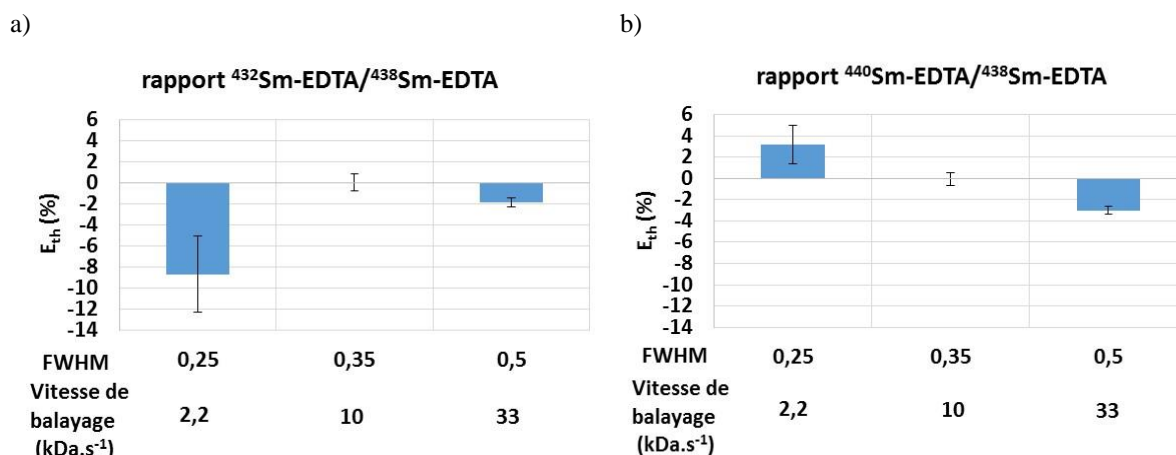


Figure IV- 13: Impact de la vitesse de balayage sur l'écart théorique E_{th} et la répétabilité à $k=2$ pour les rapports a) $^{432}\text{Sm-EDTA}/^{438}\text{Sm-EDTA}$ b) $^{440}\text{Sm-EDTA}/^{438}\text{Sm-EDTA}$. Paramètres d'acquisition de l'ESIMS-LIT : centroïde - gamme de masse 50-1000 200 scans ($n=10$)

Une vitesse de balayage de 10 kDa.s⁻¹ permet d'obtenir des écarts théoriques E_{th} inférieurs à 1% sur l'ensemble des rapports d'abondances alors qu'avec une vitesse de balayage de 2,2 kDa.s⁻¹ ou 33 kDa.s⁻¹, les écarts théoriques E_{th} sont supérieurs à 2%. Concernant les répétabilités, elles sont inférieures à 1% pour une vitesse de balayage de 10 kDa.s⁻¹ et 33 kDa.s⁻¹. En revanche, elles varient entre 2 et 4% pour une vitesse de balayage de 2,2 kDa.s⁻¹. L'influence de ce paramètre sur la mesure de compositions isotopiques n'a jamais été étudiée dans la littérature. Les écarts théoriques E_{th} étant les plus justes et les plus répétables pour une vitesse de balayage de 10 kDa.s⁻¹, celle-ci a par conséquent été sélectionnée pour la suite de l'étude.

▪ Gamme de masse d'acquisition

Une étude a montré qu'avec un spectromètre de masse hybride de type LIT-Orbitrap, la gamme de masse d'acquisition avait une influence significative sur les mesures du rapport isotopique $^{235}\text{U}/^{238}\text{U}$. Plus la gamme de masse d'acquisition est restreinte, plus les mesures isotopiques sont justes [16]. En conséquence, différentes largeurs de gamme de masse d'acquisition ont été considérées dans notre étude :

1) 50-1000, avec $\Delta m=950$, en mode full scan permettant de réaliser une analyse panoramique, dans le cas d'une approche non-ciblée.

2) 120-460, 270-610 et 420-760, avec $\Delta m=340$ en mode full scan, pour étudier l'impact de la borne inférieure et supérieure de la gamme d'acquisition sur les mesures de rapports d'abondances du Sm complexé.

3) 431-443, avec $\Delta m=12$ en mode full scan et en mode SIM afin d'enregistrer uniquement le massif isotopique du [Sm-EDTA]⁻, dans le cas d'une approche ciblée.

L'impact de ces gammes de masse d'acquisition sur les écarts théoriques E_{th} et les répétabilités des rapports d'abondance du Sm complexé est représenté en Figure IV- 14. Les résultats pour les gammes de masse 431-443 en mode full scan et SIM ne sont pas représentés en raison des écarts théoriques E_{th} obtenus supérieurs à 10%. Les spectres de masse de la gamme de masse $\Delta=340$ u sont présentés en Annexe 9.

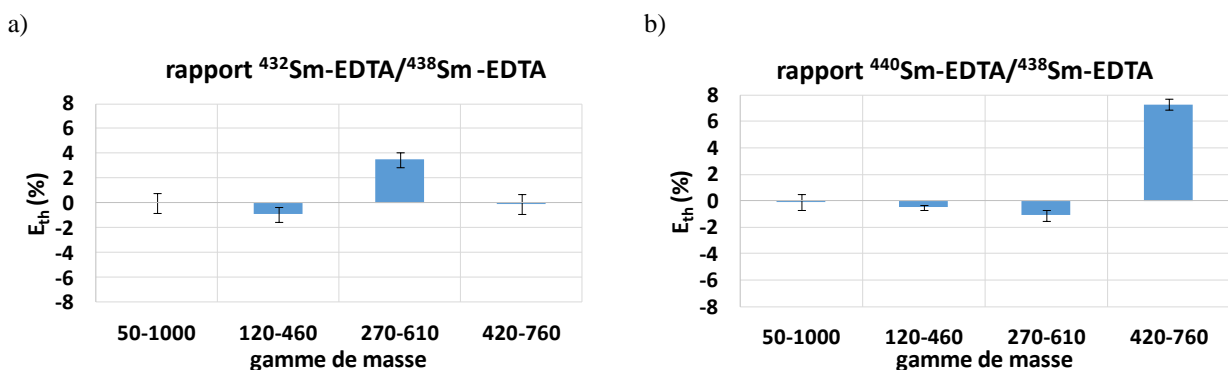


Figure IV- 14 : Impact de la gamme de masse d'acquisition sur l'écart théorique E_{th} et la répétabilité à $k=2$ pour les rapports a) $^{432}\text{Sm-EDTA}/^{438}\text{Sm-EDTA}$ b) $^{440}\text{Sm-EDTA}/^{438}\text{Sm-EDTA}$. Paramètres d'acquisition de l'ESIMS-LIT : centroïde - vitesse de balayage 10 kDa.s^{-1} largeur de pic à mi-hauteur 0,35 - 200 scans ($n=10$)

Les résultats mettent en évidence que les valeurs des écarts théoriques E_{th} diminuent d'autant plus que la gamme de masse d'acquisition est importante. Les répétabilités sont inférieures à 1,5% dans l'ensemble des cas. Pour les gammes de masse d'acquisition 50-1000 et 120-460, les écarts théoriques E_{th} sont inférieurs à 1% et pour les autres gammes de masses, ils sont supérieurs à 5%. De plus, on observe une dégradation des écarts théoriques E_{th} pour les gammes de masse $\Delta m = 340$, comme indiqué sur les Figures IV-14 et 15.

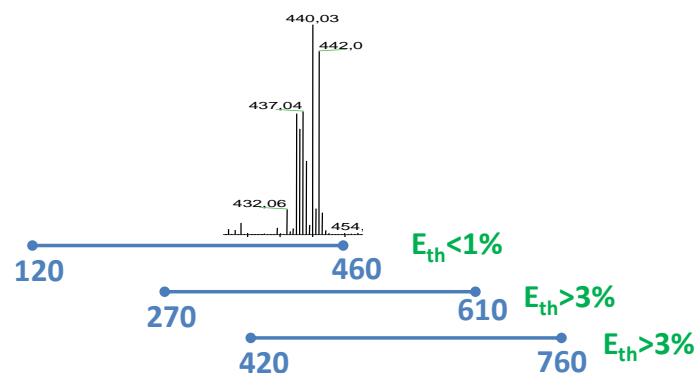


Figure IV- 15 : Impact des gammes de masse d'acquisition identiques avec $\Delta m=340$ u sur les écarts théoriques E_{th}

Une hypothèse susceptible d'expliquer ce phénomène est que dans notre configuration, l'ESIMS-LIT se comporte comme un filtre passe-bas. En effet, lors de l'isolation des ions d'intérêts, un gradient de radiofréquence (RF) est appliqué aux différents ions présents dans la cellule à haute pression de l'analyseur excepté pour l'ion précurseur, et ce, afin de les déstabiliser et de les éjecter. La tension RF appliquée est plus élevée pour des valeurs de q supérieures à 0,908 qu'à des valeurs de q de l'ordre de zéro (Figure IV- 16).

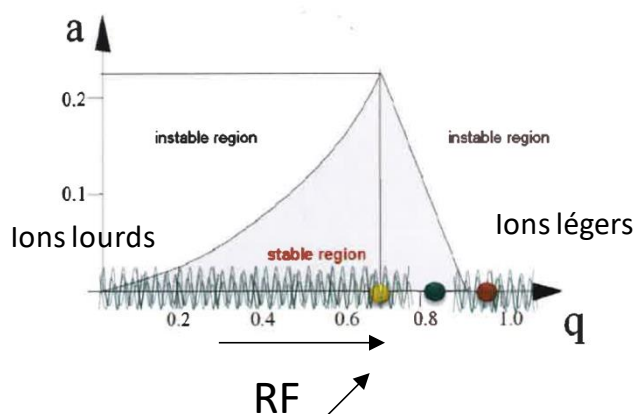


Figure IV- 16 : Diagramme de stabilité de l'ESIMS-LIT (Adapté de [19])

Les ions de rapports m/z proches de la borne inférieure de la gamme de masse d'acquisition sont donc plus déstabilisés que les ions ayant des rapports m/z plus élevés, expliquant ainsi la déstabilisation des ions du Sm-EDTA pour les gammes de masse 270-610 et 420-760 par rapport à la gamme de masse 120-460. Pour la gamme de masse 50-1000, les rapports d'abondances sont justes et précis car les ions du complexe Sm-EDTA ne sont pas déstabilisés par le gradient RF. En outre, avec cet instrument, la vitesse de balayage étant imposée, une diminution de la gamme de masse d'acquisition ne permet pas de collecter les ions plus longtemps et donc d'améliorer les mesures.

Pour conclure, la gamme de masse d'acquisition permettant d'obtenir les rapports d'abondances les plus justes et les plus précis avec l'ESIMS-LIT est la gamme 50-1000 en mode full scan. Cette dernière a donc été sélectionnée pour la suite de l'étude. Pour améliorer les résultats obtenus en SIM, il faudrait sélectionner une gamme de masse moins étroite que 431-443.

▪ Nombre de scans

Une série de dix mesures a été réalisée avec 10, 20, 50, 100 et 200 scans. Les spectres de masse ont été enregistrés en mode centroïde, avec une vitesse de balayage de $10 \text{ kDa}\cdot\text{s}^{-1}$ et une gamme de masse 50-1000 en mode full scan. Les résultats obtenus sont présentés en Figure IV- 17 :

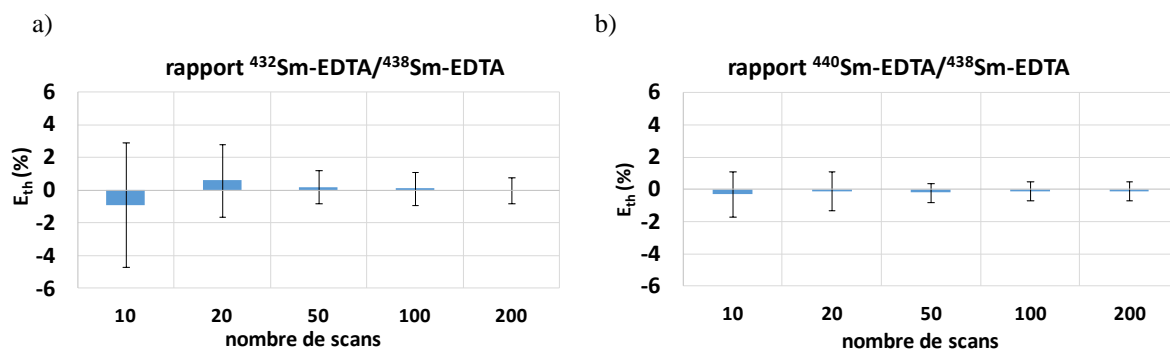


Figure IV- 17 : Impact du nombre de scans sur l'écart théorique E_{th} et la répétabilité à $k=2$ pour les rapports a) $^{432}\text{Sm-EDTA}/^{438}\text{Sm-EDTA}$ b) $^{440}\text{Sm-EDTA}/^{438}\text{Sm-EDTA}$. Paramètres d'acquisition de l'ESIMS-LIT : centroïde - vitesse de balayage : 10 kDa.s^{-1} largeur de pic à mi-hauteur 0,35 - gamme de masse 50-1000 ($n=10$)

Quel que soit le nombre de scans, les écarts théoriques E_{th} sont inférieurs à 1%. Pour 10 et 20 scans, les répétabilités sont supérieures à 2% et au-delà de 50 scans, elles sont inférieures à 1%. Dans la littérature, l'impact du nombre de scans sur la mesure du rapport $^{235}\text{U}/^{238}\text{U}$ a été étudié avec un LIT-Orbitrap, en mode MS^n . Les résultats obtenus indiquent qu'en augmentant le nombre de scans de 20 à 100, la répétabilité diminue de 1,2% à 0,4% [20]. Nos résultats sont en accord avec cette observation. De la même manière que précédemment, le nombre de scans est sélectionné en vue de réaliser des mesures isotopiques en ligne, ce qui a conduit à la sélection d'un nombre de scans de 100, permettant d'obtenir un bon compromis entre valeurs des écarts théoriques E_{th} , répétabilités et temps d'acquisition.

Le schéma récapitulatif des paramètres d'acquisition sélectionnés en mode MS avec l'ESIMS-LIT est présenté en Figure IV- 18.

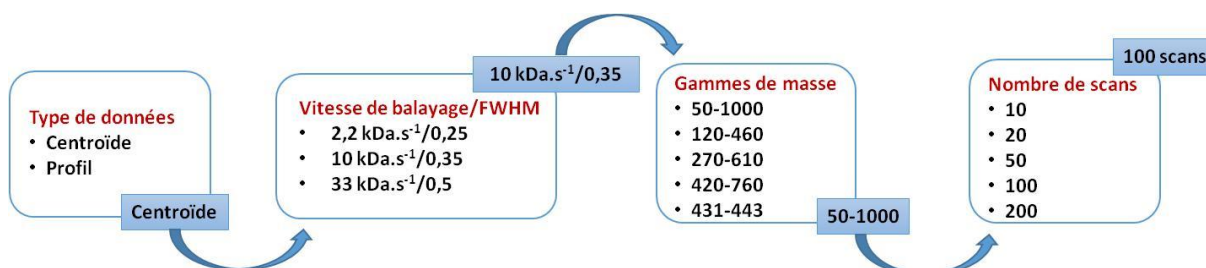


Figure IV- 18 : Récapitulatif des paramètres d'acquisition sélectionnés pour la mesure de rapports isotopiques en mode MS avec l'ESIMS-LIT

Les conditions retenues permettent d'obtenir des écarts théoriques et des répétabilités inférieures à 1%.

III.1.4. Détermination de la gamme dynamique

La gamme dynamique d'utilisation de l'ESIMS-QqQ a été déterminée dans les précédents travaux et est de deux ordres de grandeurs [11]. Par conséquent, elle n'a donc pas été réévaluée

pour cet instrument. La gamme dynamique de l'ESIMS-LIT pour les mesures de rapports d'abondances a été déterminée avec les paramètres de la source et d'acquisition optimisés avec le Sm-EDTA à 10^{-4} mol.L⁻¹. L'objectif est de déterminer si la mesure des rapports d'abondances du Sm-EDTA avec des paramètres optimisés pour une concentration de 10^{-4} mol.L⁻¹ peut être étendue à d'autres concentrations, sans nécessité de ré-optimisation, en vue d'analyse d'échantillons réels. Dans cette étude, des spectres de masse ont été acquis avec des solutions de Sm-EDTA à des concentrations de 10^{-4} mol.L⁻¹, 10^{-5} mol.L⁻¹ et $3,2 \times 10^{-6}$ mol.L⁻¹, avec les paramètres de source indiqués dans le Tableau IV- 1 et avec les paramètres d'acquisition sélectionnés en mode MS (Figure IV- 18). Les écarts théoriques et les répétabilités obtenus sont présentés en Figure IV- 19 pour les rapports $^{432}\text{Sm-EDTA}/^{438}\text{Sm-EDTA}$ et $^{440}\text{Sm-EDTA}/^{438}\text{Sm-EDTA}$ (Figure IV- 3).

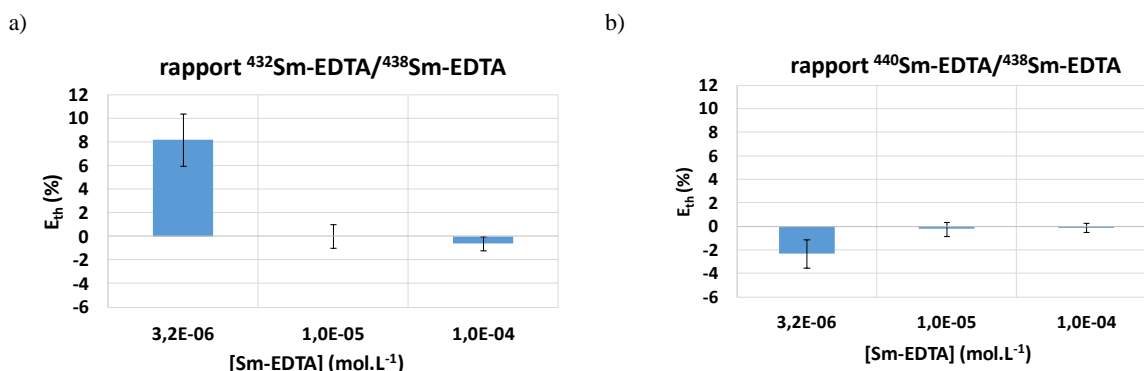


Figure IV- 19 : Impact de la concentration du Sm-EDTA sur l'écart théorique E_{th} et la répétabilité à $k=2$ pour les rapports a) $^{432}\text{Sm-EDTA}/^{438}\text{Sm-EDTA}$ b) $^{440}\text{Sm-EDTA}/^{438}\text{Sm-EDTA}$, avec l'ESIMS-LIT

Les écarts théoriques E_{th} sont supérieurs à 2% pour $[\text{Sm-EDTA}] = 3,2 \times 10^{-6}$ mol.L⁻¹. Avec les solutions de concentration de 10^{-5} et 10^{-4} mol.L⁻¹, les écarts théoriques E_{th} sont inférieurs à 2% et les répétabilités associées sont inférieures à 1%. Par conséquent, la mesure de rapports d'abondances du Sm complexé pourra être réalisée en mode MS sur deux ordres de grandeurs environ, correspondant au rapport des intensités entre l'isotope le plus abondant pour la solution la plus concentrée et l'isotope le moins abondant dans la solution la moins concentrée.

III.2. Détermination de la composition isotopique du ^{nat}Sm

III.2.1. Détermination de la composition isotopique du Sm par déconvolution des spectres de masse acquis en mode MS

Pour obtenir la composition isotopique du Sm non complexé, la première approche a consisté à acquérir des spectres de masse du Sm-EDTA avec les paramètres d'acquisition sélectionnés ci-dessus en mode MS et de les déconvoluer avec la méthode présentée dans la partie II-2-3.

III.2.1.1. Détermination de la composition isotopique du Sm libre avec l'ESIMS-QqQ

Une série de dix mesures a été réalisée par ESIMS-QqQ en mode SIM. Les spectres de masse acquis ont ensuite été déconvolués pour obtenir la composition isotopique du Sm. Les résultats obtenus sont présentés dans le Tableau IV- 4.

Tableau IV- 4 : Ecart théorique E_{th} et répétabilité à $k=2$ ($n=10$) obtenus pour le massif isotopique de l'espèce Sm-EDTA acquis en mode SIM avec l'ESIMS-QqQ, et justesses et répétabilité obtenues pour la composition isotopique du Sm après déconvolution à $k=2$ ($n=10$)

| Rapports d'abondances du Sm complexé | 432/438 | 435/438 | 436/438 | 437/438 | 440/438 | 442/438 |
|---|-----------------------------------|-----------------------------------|-----------------------------------|-----------------------------------|-----------------------------------|-----------------------------------|
| E_{th} (%) | -2,1 | -2,3 | -1,5 | -1,0 | 0,3 | -0,8 |
| Répétabilité (%) | 2,2 | 1,2 | 3,0 | 2,0 | 2,2 | 2,0 |
| Rapports isotopiques du Sm non complexé | $^{144}\text{Sm}/^{150}\text{Sm}$ | $^{147}\text{Sm}/^{150}\text{Sm}$ | $^{148}\text{Sm}/^{150}\text{Sm}$ | $^{149}\text{Sm}/^{150}\text{Sm}$ | $^{152}\text{Sm}/^{150}\text{Sm}$ | $^{154}\text{Sm}/^{150}\text{Sm}$ |
| Justesse (%) | -2,3 | -2,5 | -1,7 | -1,2 | 0,1 | -1,1 |
| Répétabilité (%) | 2,2 | 1,2 | 2,8 | 2,0 | 1,5 | 1,9 |

Avant déconvolution, les écarts théoriques E_{th} sont inférieurs à 3% avec des répétabilités maximales de 3% pour les rapports d'abondances du Sm complexé à l'EDTA. **Après déconvolution** des spectres de masse, les justesses et les répétabilités obtenues pour les compositions isotopiques du Sm d'isotope naturelle sont également inférieures à 3%. Ces résultats confirment le potentiel de l'ESIMS-QqQ en mode SIM pour la détermination des compositions isotopiques du Sm libre, à partir du spectre de masse du complexe avec des justesses et reproductibilités de l'ordre de 3%.

III.2.1.2. Détermination de la composition isotopique du Sm libre avec l'ESIMS-LIT

Une série de dix mesures a été réalisée par ESIMS-LIT en mode MS, en mode full scan pour la mesure de rapports d'abondances du Sm-EDTA. Les résultats obtenus pour le Sm complexé et non complexé sont présentés dans le Tableau IV- 5.

Tableau IV-5 : Ecart théorique E_{th} et répétabilité à $k=2$ ($n=10$) obtenus pour le massif isotopique de l'espèce Sm-EDTA acquis en mode full scan avec l'ESIMS-LIT, et justesses et répétabilité obtenues pour la composition isotopique du Sm après déconvolution à $k=2$ ($n=10$)

| Rapports d'abondances du Sm complexé | 432/438 | 435/438 | 436/438 | 437/438 | 440/438 | 442/438 |
|---|-----------------------------------|-----------------------------------|-----------------------------------|-----------------------------------|-----------------------------------|-----------------------------------|
| E_{th} (%) | 0,1 | 0,3 | 0,4 | 0,0 | -0,1 | 0,1 |
| Répétabilité (%) | 1,0 | 0,8 | 0,6 | 0,8 | 0,6 | 0,6 |
| Rapports isotopiques du Sm non complexé | $^{144}\text{Sm}/^{150}\text{Sm}$ | $^{147}\text{Sm}/^{150}\text{Sm}$ | $^{148}\text{Sm}/^{150}\text{Sm}$ | $^{149}\text{Sm}/^{150}\text{Sm}$ | $^{152}\text{Sm}/^{150}\text{Sm}$ | $^{154}\text{Sm}/^{150}\text{Sm}$ |
| Justesse (%) | 0,1 | 0,3 | 0,4 | 0,0 | -0,1 | 0,1 |
| Répétabilité (%) | 1,0 | 1,0 | 0,6 | 1,0 | 0,6 | 0,8 |

Avant déconvolution, les écarts théoriques E_{th} et les répétabilités des rapports d'abondances mesurés sont inférieurs à 1 %. **Après déconvolution** des spectres de masse, les justesses entre les rapports isotopiques du Sm mesurés et théoriques, et les répétabilités des rapports isotopiques du Sm sont inférieures à 1% pour l'ensemble des rapports isotopiques du Sm. Ces résultats confirment le potentiel de l'ESIMS-LIT en mode full scan pour déterminer les compositions isotopiques du Sm non complexé avec des justesses et reproductibilités de l'ordre de 1%. De plus, les performances obtenues avec une large gamme de masse d'acquisition permettent d'envisager de réaliser des mesures isotopiques d'éléments dans une approche non ciblée.

III.2.2. Détermination de la composition isotopique du Sm par fragmentation MS^2 et MS^n

Comme indiqué précédemment, la seconde approche envisagée pour obtenir la composition isotopique du Sm libre est de fragmenter le complexe Sm-EDTA, de telle sorte à obtenir un produit dans lequel les contributions isotopiques des éléments H, C, N et O auront peu ou pas d'impact sur la mesure de la composition isotopique du Sm. Cette approche est basée sur les travaux de Liu *et al.* [5]. Dans cette étude, les auteurs ont mesuré le rapport d'abondance des isotopes ^{235}U et ^{238}U contenus dans les produits de fragmentation du nitrate d'uranyle, à chaque étape de fragmentation en mode CID, avec un ESIMS-LIT modifié. Le rapport mesuré a été comparé au rapport isotopique $^{235}\text{U}/^{238}\text{U}$ théorique à chaque étape. L'écart entre les rapports théoriques et expérimentaux diminue lorsque le nombre d'étapes MS^n augmente puisque la proportion de H, C, N et O diminue. Des erreurs relatives inférieures à 5% ont été obtenues entre les mesures réalisées par ICPMS et EESIMS après des fragmentations successives en

MS⁴. Chaque ion du massif isotopique du complexe de nitrate d'uranyle a été isolé avec une fenêtre d'isolation de 1,2 u.

III.2.2.1. Fragmentation en mode MS/MS avec l'ESIMS-QqQ

Dans notre étude, le Sm-EDTA a été fragmenté dans la cellule de collision Q₂ (Figure II- 12). Pour observer les massifs isotopiques des produits, la résolution a été dégradée sur le premier quadripôle Q₁ avec une largeur de pic à mi-hauteur (Δm) de 10 u, le Sm-EDTA a été fragmenté, puis les spectres des fragments ont été enregistrés avec une résolution de 0,5 u avec le quadripôle Q₃. La pression d'argon et l'énergie de collision ont été optimisées afin d'obtenir le maximum de signal pour le produit ayant le moins de contributions possibles des isotopes H, C, N et O. De plus, ce produit ne doit pas être interféré par d'autres fragments du Sm-EDTA. Une pression de 1,5 mTorr d'argon dans la cellule de collision avec une énergie de collision de 30 V ont permis d'obtenir le massif isotopique du produit correspondant à [SmEDTA-2CO₂-CO-CH₂O-C₂H₃N]⁻ présenté en Figure IV- 20.

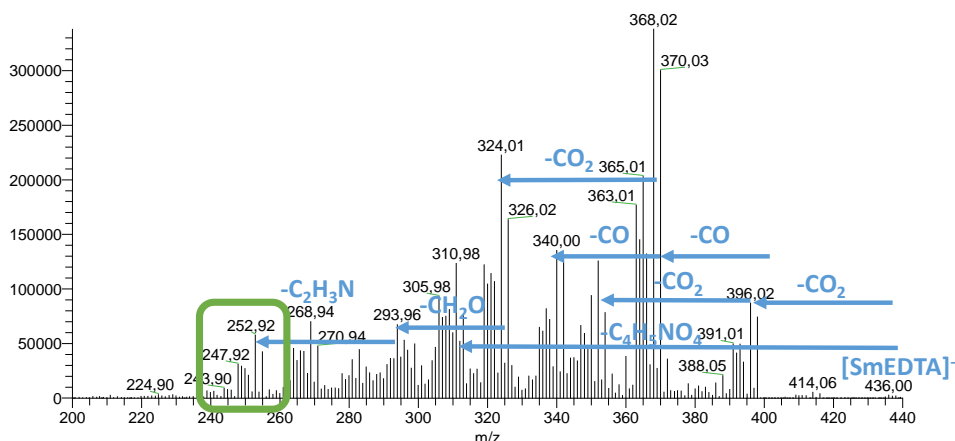


Figure IV- 20 : Spectre MS² du [Sm-EDTA]⁻ avec l'ESIMS-QqQ - largeur de pic à mi-hauteur : Q₁=10 - Q₃=0,5 - gamme de masse d'acquisition 120-460 - temps de scan =0,7 s - 100 scans

Ce produit, de rapports m/z 244-254 et de formule brute SmC₄H₇N₁O₂, est le produit possédant le moins de contributions provenant des isotopes de H, C, N et O. De plus, il n'est pas interféré avec d'autres produits et il est suffisamment intense. Il a par conséquent été sélectionné pour la mesure de rapports d'abondances en mode MS/MS.

Deux méthodes ont été appliquées pour la mesure des rapports d'abondances du Sm dans ce produit :

- Les ions du Sm-EDTA sont filtrés avec une résolution de 10 avec Q₁, fragmentés dans Q₂, et les produits d'intérêts sont balayés dans Q₃ avec une résolution de 0,5, comme précisé ci-dessus.

- Les sept ions du massif isotopique du Sm-EDTA sont isolés individuellement avec une résolution de 0,5 avec Q₁ et sont ensuite fragmentés dans Q₂. Les produits sont balayés dans Q₃ avec une résolution de 0,5.

Dans tous les cas, les mesures de rapports d'abondances du SmC₄H₇N₁O₂ ont été réalisées avec les paramètres d'acquisition sélectionnés en mode MS. La gamme de masse d'acquisition de m/z 243-255 en mode SIM a été adaptée de telle sorte à n'observer que le produit. Les justesses entre les rapports d'abondances du produit mesurés en mode MS/MS et les rapports isotopiques théoriques du Sm ont été calculées pour les deux méthodes de fragmentation (Tableau IV- 6). Les justesses étant supérieures à 20% pour la première méthode, les résultats correspondant ne sont donc pas présentés ici.

Tableau IV- 6 : Justesses entre les rapports d'abondances des produits et les rapports isotopiques du Sm et répétabilités à $k=2$ avec l'ESIMS-QqQ en mode MS² avec $\Delta m=0,5$ ($n=10$)

| Rapports isotopiques | ¹⁴⁴ Sm/ ¹⁵⁰ Sm | ¹⁴⁷ Sm/ ¹⁵⁰ Sm | ¹⁴⁸ Sm/ ¹⁵⁰ Sm | ¹⁴⁹ Sm/ ¹⁵⁰ Sm | ¹⁵² Sm/ ¹⁵⁰ Sm | ¹⁵⁴ Sm/ ¹⁵⁰ Sm |
|----------------------|--------------------------------------|--------------------------------------|--------------------------------------|--------------------------------------|--------------------------------------|--------------------------------------|
| Justesse (%) | -5,8 | -4,8 | -1,6 | -3,1 | -9,2 | -9,9 |
| Répétabilité (%) | 1,8 | 5,4 | 2,7 | 4,4 | 1,8 | 3,2 |

Avec une largeur de pic à mi-hauteur de 0,5 pour Q₁, les justesses sont inférieures à 10%. Les mesures de compositions isotopiques du Sm sont donc plus justes avec une valeur largeur de pic à mi-hauteur de 0,5 pour Q₁ que de 10. Ces résultats sont expliqués par le temps de collection des ions plus long avec Q₁=0,5 que pour Q₁=10. Le mode MS/MS n'étant pas adapté pour l'obtention de compositions isotopiques du Sm justes et précises, il ne sera pas employé dans la suite de l'étude.

III.2.2.2. Fragmentation en mode MSⁿ avec l'ESIMS-LIT

L'objectif de cette partie a consisté à déterminer l'isotopie du Sm en fragmentant le complexe [Sm-EDTA]⁻ par MSⁿ en modes CID et HCD.

III.2.2.2.1. Mode de fragmentation CID

Afin de conserver le massif isotopique du Sm lors de la fragmentation du complexe Sm-EDTA, l'ion situé au milieu du massif isotopique du [Sm-EDTA]⁻ à m/z 437, a été sélectionné comme ion précurseur, avec une fenêtre d'isolation (l) de 12. Les paramètres q, NCE et t_{activ} ont été optimisés pour obtenir le maximum de signal du ou des produit(s) non interféré(s), présentant les plus faibles contributions possibles des isotopes des éléments H, C, N et O. En MS², le maximum d'intensité pour l'ion [SmEDTA-CO₂-CO]⁻ a été obtenu pour des valeurs de NCE = 30%, q = 0,25 et t_{activ} = 5 ms (Figure IV- 21).

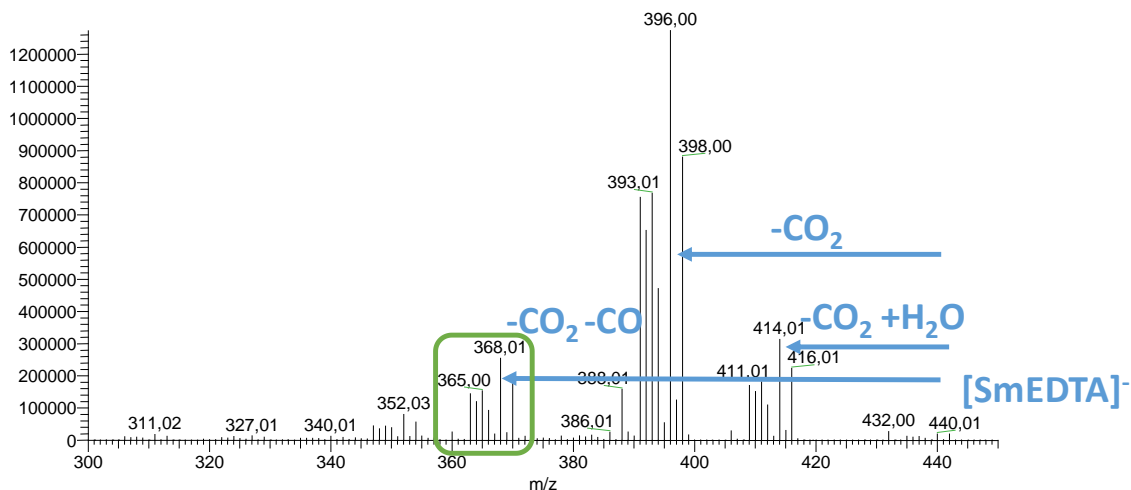


Figure IV- 21 : Spectre MS^2 du $[Sm-EDTA]^-$ avec l'ESIMS-LIT en mode CID avec $NCE=30\%$, $q=0,25$, $t_{activ} = 5ms$ et $l=12u$. Paramètres source optimisés pour $[Sm-EDTA]=10^{-4}$ mol.L $^{-1}$. Paramètres d'acquisition : centroïde - vitesse de balayage 10 kDa.s $^{-1}$ - largeur de pic à mi-hauteur 0,35 - gamme de masse 120-460 - 100 scans

Le produit $[SmEDTA-CO_2-CO]^-$ a été retenu pour effectuer des mesures de rapports d'abondances, car il permet d'avoir des contributions isotopiques de H, C, N et O minimales et un signal suffisamment intense pour réaliser des mesures de composition isotopique du Sm. Nous avons également étudié l'impact de la fenêtre d'isolation de l'ion précurseur sur les rapports d'abondances, en sélectionnant une fenêtre d'isolation de 1,2 u sur la base des travaux de Liu *et al.* [5]. Celle-ci permet une fragmentation individuelle des différents rapports m/z du massif isotopique de l'espèce $[Sm-EDTA]^-$. Des spectres MS^2 ont également été acquis avec des fenêtres d'isolation de 12 et 24 u. Pour ces fenêtres d'isolation, les spectres MS^2 ont été acquis avec une gamme de masse d'acquisition 120-460, la valeur minimale ne pouvant pas être inférieure à 1/3 du rapport de l'ion précurseur. Les justesses entre les rapports d'abondances du produit mesurés en mode MS^2 et les rapports isotopiques théoriques du Sm ont été calculées à partir des spectres de masse acquis avec les différentes fenêtres d'isolation de l'ion précurseur. Les justesses sont supérieures à 20% pour $l=12$ u et $l=24$ u. Pour $l=1,2$ u, les justesses sont comprises entre 7 et 17% avec des répétabilités de l'ordre de 2-3%. Les différences de justesses obtenues avec les différentes fenêtres d'isolation peuvent être expliquées par le temps d'injection des ions dans l'analyseur plus important, de l'ordre de 10 ms (environ 3,3 ms pour m/z 440 et 28 ms pour m/z 432) pour une fenêtre d'isolation de 1,2 u, contre 0,5 ms pour les fenêtres d'isolation de 12 et 24 u. Hoegg et al. ont démontré avec un spectromètre de masse hybride LIT-Orbitrap, qu'en augmentant la valeur du temps d'injection maximal de 10 ms à 1000 ms, les mesures du rapport $^{235}U/^{238}U$ sont plus justes en mode MS^n [16]. Nos résultats sont en accord cette tendance.

Les justesses entre les rapports d'abondances du produit mesurés en mode MS² et les rapports isotopiques théoriques du Sm étant importantes, des expériences en MS³ ont alors été menées afin de réduire les contributions isotopiques H, C, N et O encore trop significatives. Les justesses entre les rapports d'abondances du produit mesurés en mode MS³ et les rapports isotopiques théoriques du Sm sont supérieurs à 10%, expliquées par la faible intensité du signal obtenu. Par conséquent, les modes MS² et MS³ n'ont pas été sélectionnés pour réaliser des mesures de compositions isotopiques du Sm dans la suite de l'étude.

III.2.2.2.2. Mode de fragmentation HCD

Le mode HCD étant moins spécifique mais plus énergétique que le mode CID, des expériences en mode MS² ont été réalisées selon la même démarche. Les valeurs des paramètres NCE et t_{activ} ont été optimisées, pour l'ion précurseur à m/z 437 et avec une fenêtre d'isolation de 12, afin d'obtenir le maximum d'intensité pour le produit non interféré ayant le moins de contributions isotopiques possibles provenant de H, C, N et O du ligand. Les valeurs de NCE = 75% et $t_{\text{activ}} = 0,42$ ms ont permis d'obtenir le maximum d'intensité pour le produit $[\text{Sm}(\text{OH})_4]^-$ (Figure IV- 22).

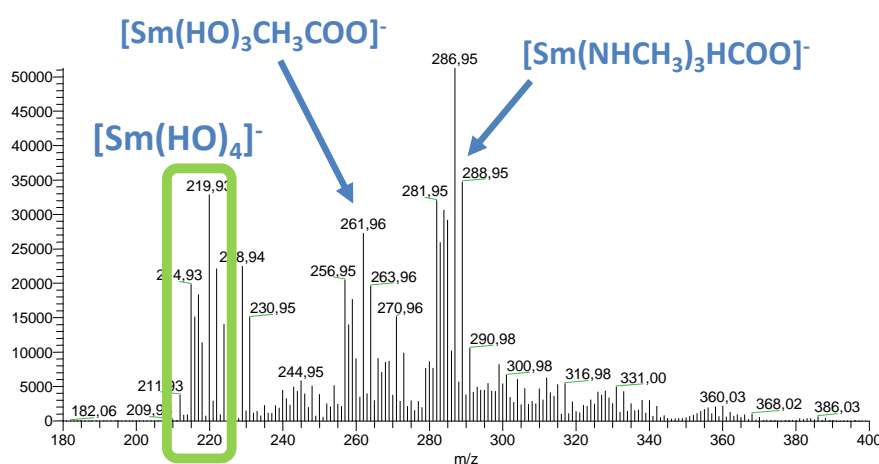


Figure IV- 22 : Spectre MS² du $[\text{Sm-EDTA}]^-$ avec l'ESIMS-LIT en mode HCD pour le précurseur à m/z 437 avec $q=0,08$, NCE=75%, $t_{\text{activ}}=0,42$ ms - $l=12$ u. Paramètres source optimisés pour $[\text{Sm-EDTA}]=10^{-4}$ mol.L⁻¹. Paramètres d'acquisition : centroïde - vitesse de balayage 10 kDa.s⁻¹- largeur de pic à mi-hauteur 0,35 - gamme de masse 50-460 -100 scans

Ce produit est très intéressant pour obtenir l'isotopie du Sm non complexé puisqu'il ne comporte que peu de contributions des isotopes de H, C, N, O et n'est pas interféré par d'autres massifs isotopiques. Il faut toutefois noter que le signal de l'ion le plus abondant de ce produit, à m/z 219,93, est seulement de 35 000 coups, donc peu intense. L'impact de la fenêtre d'isolation sur les mesures de rapports d'abondances du Sm lié aux hydroxydes a été évalué avec des fenêtres d'isolation $l=1,2,12$ et 24 u. Les spectres MS² ont été enregistrés avec une

gamme de masse d'acquisition 50-460. Les justesses entre les rapports d'abondances du Sm dans le produit, mesurés en mode MS² et les rapports isotopiques théoriques du Sm pour les fenêtres d'isolation de 12 et 24 u étant supérieures à 10%, seuls les résultats obtenus avec une fenêtre d'isolation de 1,2 u sont présentés dans le Tableau IV- 7.

Tableau IV- 7 : Justesses entre les rapports d'abondances des produits et les rapports isotopiques du Sm et répétabilités à k=2 pour l=1,2 u (n=10) avec l'ESIMS-LIT

| Rapports isotopiques | ¹⁴⁴ Sm/ ¹⁵⁰ Sm | ¹⁴⁷ Sm/ ¹⁵⁰ Sm | ¹⁴⁸ Sm/ ¹⁵⁰ Sm | ¹⁴⁹ Sm/ ¹⁵⁰ Sm | ¹⁵² Sm/ ¹⁵⁰ Sm | ¹⁵⁴ Sm/ ¹⁵⁰ Sm |
|----------------------|--------------------------------------|--------------------------------------|--------------------------------------|--------------------------------------|--------------------------------------|--------------------------------------|
| Justesse (%) | - | 1,1 | 0,9 | 0,2 | -1,1 | -0,7 |
| Répétabilité (%) | - | 2,8 | 3,0 | 1,6 | 2,4 | 2,9 |

Les justesses sont inférieures à 1,5%, avec des répétabilités de l'ordre de 3% à k=2. Ce mode de fragmentation permet donc de s'affranchir des contributions des isotopes H, C, N et O et de mesurer l'isotopie du Sm de façon directe, sans déconvolution des spectres de masse. Cependant, ces conditions d'analyses ne permettent pas d'obtenir les mêmes performances en termes de répétabilités que le mode MS. Ce dernier sera donc sélectionné pour la suite de notre étude. Une augmentation du nombre de scans pourrait permettre d'obtenir une meilleure répétabilité. Cette approche en mode HCD reste néanmoins une alternative efficace, simple et rapide à mettre en place pour la mesure de composition isotopique de Ln par ESIMS.

III.2.3. Détermination de la composition isotopique du Sm par fragmentation MS² et MSⁿ et déconvolution des spectres

À partir des expériences menées en mode MS² et MSⁿ, la méthode de déconvolution développée pour le Sm-EDTA a été appliquée également aux produits obtenus après fragmentation, afin d'obtenir la composition isotopique du Sm libre. Les justesses entre les rapports isotopiques du Sm obtenus après déconvolution et théoriques ont été calculées pour les différentes expériences. Avec l'ESIMS-QqQ, les justesses sont toujours supérieures à 3%, démontrant que le mode MS/MS avec l'ESIMS-QqQ n'est pas adapté pour la mesure de composition isotopique de Ln. Avec l'ESIMS-LIT, les justesses obtenues après déconvolution sont inférieures à 1% en mode CID en MS² et à 3% en mode HCD, pour des fenêtres d'isolation de l'ion précurseur de 1,2 u. Les répétabilités sont inférieures à 3% pour ces deux types d'expériences. Ces résultats démontrent que la composition isotopique d'un élément peut également être obtenue par l'acquisition de spectres en mode MS² ou MSⁿ en ESIMS-LIT, puis être déconvoluée.

III. 3. Validation de l'approche par l'analyse d'un échantillon de Sm d'isotopie non naturelle connue complexé à l'EDTA

Cette partie consiste à appliquer selon la même démarche, les développements réalisés pour déterminer l'isotopie du Sm libre, en mode MS avec les deux ESIMS, pour l'analyse d'un traceur enrichi en $^{147-149}\text{Sm}$ complexé à l'EDTA. L'évaluation des résultats permettra de valider les méthodes de mesures de compositions isotopiques mises au point ainsi que la méthode de déconvolution développée dans ce chapitre.

III.3.1. Préparation de l'échantillon de Sm enrichi complexé à l'EDTA

Le traceur double $^{147-149}\text{Sm}$ a été préparé au laboratoire par dissolution de deux poudres enrichies en ^{147}Sm (94,40%) et en ^{149}Sm (95,13%) en milieu nitrique à 14 mol.L^{-1} [21]. Ces traceurs comportent également des traces des isotopes ^{144}Sm , ^{148}Sm , ^{150}Sm , ^{152}Sm et ^{154}Sm . Les deux solutions de traceurs ont été mélangées et diluées en milieu aqueux afin d'obtenir un rapport isotopique $^{147}\text{Sm}/^{149}\text{Sm}$ proche de 1 avec une concentration totale en Sm de $8,33 \times 10^{-4}\text{ mol.L}^{-1}$ (125 ppm). La concentration finale de HNO_3 dans la solution du traceur double est de 5 mol.L^{-1} . L'isotopie de ce double traceur a été qualifiée au laboratoire par TIMS [21], technique de référence pour la mesure des compositions isotopiques élémentaires (Figure IV- 23).

a) Rapports isotopiques du $^{147-149}\text{Sm}$ enrichi

$$^{144}\text{Sm}/^{149}\text{Sm} = 0,00104(3)$$

$$^{147}\text{Sm}/^{149}\text{Sm} = 1,1069(22)$$

$$^{148}\text{Sm}/^{149}\text{Sm} = 0,0591(3)$$

$$^{150}\text{Sm}/^{149}\text{Sm} = 0,02796(6)$$

$$^{152}\text{Sm}/^{149}\text{Sm} = 0,01254(3)$$

$$^{154}\text{Sm}/^{149}\text{Sm} = 0,00594(2)$$

b) Abondances relatives des isotopes du $^{147-149}\text{Sm}$ enrichi

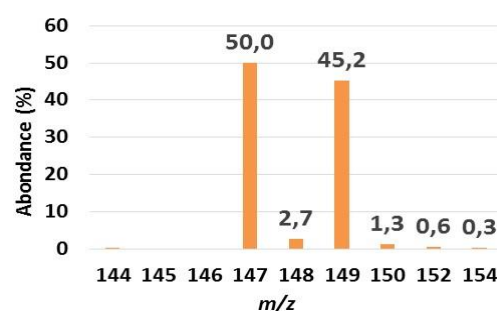


Figure IV- 23 : Données du traceur double $^{147-149}\text{Sm}$ a) Rapports isotopiques mesurés en TIMS b) Abondances des isotopes calculées à partir des rapports isotopiques mesurés en TIMS

Cet échantillon comporte donc deux isotopes majoritaires : ^{147}Sm (50,0%) et ^{149}Sm (45,2%), et des isotopes minoritaires : ^{148}Sm , ^{150}Sm , ^{152}Sm et ^{154}Sm d'abondances respectives de 2,7%, 1,3%, 0,6% et 0,3%. La solution de traceur double a été évaporée afin d'éliminer les ions nitrates provenant de l'acide nitrique à 5 mol.L^{-1} . En effet, des acides concentrés engendrent des effets de matrice importants en ESIMS [22]. L'échantillon a ensuite été repris avec du HNO_3 à 2%, afin d'obtenir une solution en Sm à $5 \times 10^{-3}\text{ mol.L}^{-1}$ (750 ppm), de même

concentration que la solution mère de Sm d'isotopie naturelle (^{nat}Sm) utilisée avec l'EDTA. Le volume nécessaire d'une solution d'EDTA à une concentration de $1,76 \times 10^{-3} \text{ mol.L}^{-1}$ a ensuite été ajouté à la solution du traceur pour respecter le rapport Sm : EDTA 1 : 1,2. Cette solution a enfin été diluée dans la phase mobile pour obtenir une concentration de l'ordre de $10^{-4} \text{ mol.L}^{-1}$ en Sm (15 ppm). Un standard contenant du $^{nat}\text{Sm-EDTA}$ a été préparé de manière strictement similaire à partir d'une solution de Sm à 125 ppm en milieu nitrique à 5 mol.L^{-1} . Cet échantillon a été utilisé en tant que standard de contrôle pour les mesures de rapports d'abondances. Les massifs isotopiques théoriques du $[\text{natSm-EDTA}]^-$ et du $[\text{}^{147-149}\text{Sm-EDTA}]^-$ sont présentés en Figure IV- 24 à titre comparatif.

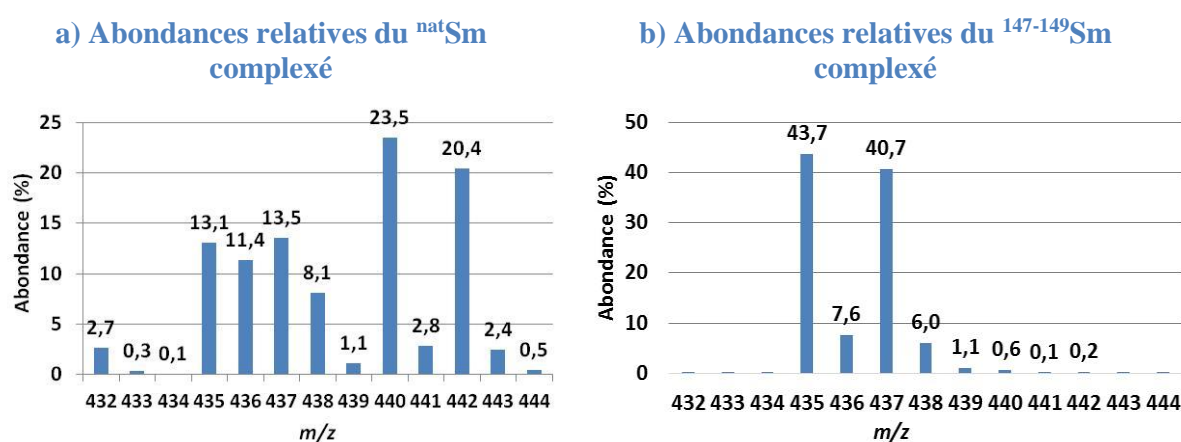


Figure IV- 24 : Spectres de masse théoriques du $[\text{Sm-EDTA}]^-$ calculés avec la méthode de convolution de Yerger [8] avec a) $[\text{natSm-EDTA}]^-$ et b) $[\text{}^{147-149}\text{Sm-EDTA}]^-$

En comparant les Figure IV- 23 et Figure IV- 24b, on constate que l'ion à m/z 435 est attribué majoritairement au $[\text{}^{147}\text{Sm-EDTA}]^-$ et l'ion à m/z 437 au $[\text{}^{149}\text{Sm-EDTA}]^-$, pour lesquels les contributions isotopiques sont majoritaires. Dans le cas du Sm d'isotopie naturelle complexé, les abondances sont comprises entre 2,7 et 23,5%. L'ion à m/z 432 de faible abondance (2,7%) n'est pas ou peu impacté par les contributions isotopiques de H, C, N et O car il correspond à l'isotope de plus faible masse, le ^{144}Sm . En revanche dans l'échantillon enrichi, les ions à m/z 436 et m/z 438 sont eux aussi peu abondants mais fortement impactés par les contributions H, C, N et O des ions adjacents à m/z 435 et 437. En effet, les abondances relatives des isotopes ^{148}Sm et ^{150}Sm sont respectivement de 2,7% et 1,3 % dans le cas du Sm non complexé (Figure IV-23) et de 7,6% et 6% respectivement dans le cas du $^{147-149}\text{Sm-EDTA}$ pour les ions à m/z 436 et m/z 438 après convolution, en raison des fortes contributions issues de pics majoritaires m/z 435 et m/z 437 les précédant (Figure IV-23). Les isotopes ^{152}Sm et ^{154}Sm sont également fortement impactés par les contributions isotopiques de H, C, N et O pour le complexe $^{147-149}\text{Sm-EDTA}$. Ainsi, la détermination des compositions isotopiques par ESIMS

du $^{147-149}\text{Sm}$ complexé à l'EDTA permettra de valider les méthodes de mesures de rapports d'abondances et de déconvolution développées précédemment, notamment dans les cas extrêmes d'isotopes de faible abondance fortement impactés par les contributions isotopiques de H, C, N, et O. Ceci permettra de déterminer les limites d'applicabilité des méthodes de mesure mises au point.

III.3.2. Analyse isotopique de l'échantillon de $^{147-149}\text{Sm-EDTA}$

L'échantillon de $^{147-149}\text{Sm-EDTA}$ et le standard de $^{\text{nat}}\text{Sm-EDTA}$ ont été analysés en infusion directe à un débit de $10 \mu\text{L}\cdot\text{min}^{-1}$ avec l'ESIMS-QqQ et l'ESIMS-LIT. Les paramètres de la source optimisés avec le complexe $[\text{natSm-EDTA}]^-$ à une concentration de $10^{-4} \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$, ont été conservés (Tableau IV- 1).

Les paramètres d'acquisition sélectionnés pour chaque instrument ont été utilisés pour mesurer les rapports isotopiques du Sm dans le $[\text{147-149Sm-EDTA}]^-$ (Tableau IV- 8).

Tableau IV- 8 : Paramètres d'acquisition utilisés avec l'ESIMS-LIT et l'ESIMS-QqQ pour l'analyse du $^{147-149}\text{Sm-EDTA}$

| Paramètres d'acquisition en mode MS | ESIMS-QqQ | ESIMS-LIT |
|-------------------------------------|---------------|---|
| Mode d'acquisition | Centroïde | Centroïde |
| Gamme de masse - mode | 431-443 - SIM | 50-1000 - full scan |
| Nombre de scans | 100 | 100 |
| Temps de scan | 0,7s | - |
| Largeur de pic à mi-hauteur | 0,5 u | 0,35 u |
| Vitesse de balayage | - | Vitesse de balayage 10 kDa.s ⁻¹ |

En ICPMS, les rapports isotopiques sont classiquement corrigés du biais de masse, en utilisant des lois de correction de type exponentielles et une méthode de correction externe appelée technique de l'encadrement (SSB : Sample-Standard-Bracketing) [23]. Elle consiste à encadrer l'analyse de l'échantillon par deux analyses de standards isotopiques afin de déterminer le biais de masse instrumental par interpolation linéaire, au moment de l'analyse de l'échantillon. Cette méthode permet d'évaluer l'évolution du biais de masse au cours du temps et d'obtenir des justesses inférieures à 1 % en ICPMS-Q. Etant donné qu'aucun biais de masse n'a été observé lors des mesures en ESIMS des rapports d'abondances du $^{\text{nat}}\text{Sm}$ complexé à l'EDTA, les trois répliques de dix mesures de l'échantillon enrichi $^{147-149}\text{Sm-EDTA}$ ont été encadrés au début et à la fin par l'analyse du standard isotopique $^{\text{nat}}\text{Sm-EDTA}$, utilisé en tant que standard de contrôle. Les résultats obtenus sur les deux ESIMS sont détaillés ci-après.

III.3.2.1. Détermination de la composition isotopique du $^{147-149}\text{Sm}$ avec l'ESIMS-QqQ

Les écarts théoriques E_{th} entre les rapports d'abondances mesurés et théoriques du Sm naturel ou enrichi complexé à l'EDTA ont été calculés avec comme référence l'ion m/z 435, ion le plus intense du massif isotopique $[\text{}^{147-149}\text{Sm-EDTA}]^-$ (Tableau IV- 9). Les rapports d'abondances théoriques du $^{147-149}\text{Sm}$ complexé à l'EDTA ont été calculés à partir des abondances du $^{147-149}\text{Sm}$ non complexé, déterminées par TIMS et de la méthode de convolution présentée dans la partie II [8].

Tableau IV- 9 : Ecarts théoriques E_{th} obtenus avec l'ESIMS-QqQ entre les rapports isotopiques théoriques et expérimentaux du Sm pour le standard $^{nat}\text{Sm-EDTA}$ et pour le $^{147-149}\text{Sm-EDTA}$. Pour chaque réplique, dix acquisitions ont été réalisées

| Rapports d'abondances | 432/435 | 436/435 | 437/435 | 438/435 | 440/435 | 442/435 |
|-----------------------|---------|------------|------------|------------|-------------|---------|
| Standard- réplique 1 | 1,2 | 4,7 | 1,3 | 1,8 | 1,8 | 2,6 |
| Enrichi - réplique 1 | - | 6,0 | 0,8 | 2,7 | 22,9 | - |
| Enrichi - réplique 2 | - | 6,0 | 1,5 | 2,6 | 90,6 | - |
| Enrichi - réplique 3 | - | 6,8 | 2,0 | 2,9 | 92,6 | - |
| Standard- réplique 2 | 0,2 | 3,4 | 1,7 | 0,9 | 0,7 | 2,2 |

Les écarts théoriques E_{th} observés étant systématiquement positifs, de probables interférences spectrales ou non spectrales, liées aux nitrates résiduels présents dans les échantillons sont mises en évidence. Les biais calculés pour les deux standards de contrôle $^{nat}\text{Sm-EDTA}$ ont été moyennés puis soustraits aux intensités mesurées de l'échantillon enrichi. Les écarts théoriques entre les rapports d'abondances du $^{147-149}\text{Sm}$ complexé à l'EDTA mesurés et théoriques, et les répétabilités obtenus après correction pour les rapports isotopiques du $^{147-149}\text{Sm}$ complexé, sont présentés dans le Tableau IV-10 :

Tableau IV- 10 : Ecarts théoriques E_{th} obtenus avec l'ESIMS-QqQ entre les rapports isotopiques théoriques et expérimentaux du $^{147-149}\text{Sm}$ complexé et répétabilités sur les rapports isotopiques théoriques à $k=2$, après correction des interférences

| Rapports d'abondances | | 436/435 | 437/435 | 438/435 | 440/435 |
|-----------------------|------------------|-------------|------------|------------|--------------|
| réplique 1 (n=10) | E_{th} (%) | -0,5 | 0,4 | 1,2 | -35,9 |
| | Répétabilité (%) | 3,7 | 3,0 | 3,0 | 3,2 |
| réplique 2 (n=10) | E_{th} (%) | -0,4 | 1,1 | 1,1 | -38,5 |
| | Répétabilité (%) | 2,6 | 3,1 | 3,6 | 5,4 |
| réplique 3 (n=10) | E_{th} (%) | 0,4 | 1,6 | 1,5 | -37,9 |
| | Répétabilité (%) | 2,3 | 2,7 | 2,6 | 7,0 |

Les écarts théoriques et les répétabilités obtenus pour le $^{147-149}\text{Sm}$ complexé à l'EDTA sont inférieurs à 2% et 4%, à la fois pour le rapport d'abondance dominant $^{437}\text{Sm-EDTA}/^{435}\text{Sm-EDTA}$ mais également pour les rapports dont les abondances des isotopes du Sm sont

supérieures à 1% (rapports $^{436}\text{Sm-EDTA}/^{435}\text{Sm-EDTA}$ et $^{438}\text{Sm-EDTA}/^{435}\text{Sm-EDTA}$), et ce, malgré la forte contribution isotopique des éléments H, C, N et O issue des pics adjacents m/z 437 et 435. En raison de la très faible abondance du pic à m/z 440 (0,6%), les écarts théoriques obtenus pour le rapport $^{440}\text{Sm-EDTA}/^{435}\text{Sm-EDTA}$ sont de l'ordre de 36%, ce qui définit la limite basse de la méthode en termes d'abondances.

Les abondances du Sm complexé ont été déterminées à partir des rapports d'abondances corrigés et ont ensuite été déconvoluées à l'aide de la méthode développée précédemment afin d'obtenir la composition isotopique du $^{147-149}\text{Sm}$. Les justesses entre les rapports isotopiques théoriques et expérimentaux du $^{147-149}\text{Sm}$ ont été calculées en prenant comme référence les rapports isotopiques du $^{147-149}\text{Sm}$ mesurés en TIMS (Figure IV- 23). Les répétabilités des rapports isotopiques du $^{147-149}\text{Sm}$ à $k=2$ sont également présentées dans le Tableau IV-11.

Tableau IV- 11 : Rapports isotopiques du $^{147-149}\text{Sm}$ obtenus après déconvolution des spectres de masse, avec les justesses et les répétabilités à $k=2$ avec l'ESIMS-QqQ

| Rapports isotopiques | $^{148}\text{Sm}/^{147}\text{Sm}$ | $^{149}\text{Sm}/^{147}\text{Sm}$ | $^{150}\text{Sm}/^{147}\text{Sm}$ | $^{152}\text{Sm}/^{147}\text{Sm}$ |
|--------------------------|-----------------------------------|-----------------------------------|-----------------------------------|-----------------------------------|
| Série 1 - Moyenne (n=10) | 0,0525 | 0,9077 | 0,0264 | 0,0063 |
| Justesse (%) | -1,7 | 0,5 | 4,4 | -44,4 |
| Répétabilité (%) | 12,0 | 3,0 | 15,0 | 5,0 |
| Série 2 - Moyenne (n=10) | 0,0527 | 0,9142 | 0,0255 | 0,0059 |
| Justesse (%) | -1,4 | 1,2 | 0,9 | -47,6 |
| Répétabilité (%) | 8,4 | 3,2 | 15,6 | 8,0 |
| Série 3 - Moyenne (n=10) | 0,0541 | 0,9185 | 0,0254 | 0,0060 |
| Justesse (%) | 1,2 | 1,7 | 0,7 | -46,9 |
| Répétabilité (%) | 7,6 | 2,8 | 8,2 | 9,4 |

Des justesses inférieures à 2% sont obtenues pour tous les rapports isotopiques du Sm hormis pour le rapport $^{150}\text{Sm}/^{147}\text{Sm}$ de la première série de mesure et dans tous les cas, pour le rapport $^{152}\text{Sm}/^{147}\text{Sm}$ dont l'abondance du ^{152}Sm est de 0,6% (Figure IV- 23), avec des justesses supérieures à 10%. Les répétabilités sont de l'ordre de 3% pour le rapport majoritaire $^{149}\text{Sm}/^{147}\text{Sm}$ et sont de l'ordre de 10% pour les rapports $^{148}\text{Sm}/^{147}\text{Sm}$ et $^{150}\text{Sm}/^{147}\text{Sm}$, avec des abondances inférieures à 3% pour les isotopes ^{148}Sm et ^{150}Sm . L'ESIMS-QqQ permet donc de mesurer les rapports isotopiques du Sm, avec des isotopes très abondants d'une part, tels que ^{147}Sm et ^{149}Sm et peu abondants d'autre part tels que ^{148}Sm et ^{150}Sm (< 3% en abondance) et ce, malgré un fort impact des contributions isotopiques des éléments H, C, N et O issu des pics majoritaires adjacents (m/z 435 et 437). Ces résultats confirment la validité de l'ensemble des méthodes de mesure et de déconvolution développées pour des isotopes d'abondance relative supérieure à 1% dans des échantillons comportant des éléments de composition isotopique non naturelle.

III.3.2.2. Détermination de la composition isotopique du $^{147-149}\text{Sm}$ avec l'ESIMS-LIT

La même démarche a été adoptée avec l'ESIMS-LIT. Trois répliques de dix mesures ont été réalisées avec l'échantillon $^{147-149}\text{Sm}$ complexé à l'EDTA, encadrées par deux répliques de dix mesures du standard isotopique $^{\text{nat}}\text{Sm}$ complexé à l'EDTA. Les écarts théoriques entre les rapports d'abondances mesurés et théoriques du Sm naturel ou enrichi complexés à l'EDTA, ont été calculés avec comme référence l'ion m/z 435, ion le plus intense du massif isotopique [$^{147-149}\text{Sm-EDTA}$] (Tableau IV-12).

Tableau IV- 12 : Ecarts théoriques E_{th} obtenus avec l'ESIMS-LIT entre les rapports isotopiques théoriques et expérimentaux du Sm pour le standard $^{\text{nat}}\text{Sm-EDTA}$ et pour le $^{147-149}\text{Sm-EDTA}$. Pour chaque réplique, dix acquisitions ont été réalisées.

| Rapport d'abondance | 432/435 | 436/435 | 437/435 | 438/435 | 440/435 | 442/435 |
|----------------------|---------|------------|------------|------------|------------|---------|
| Standard- réplique 1 | -1,1 | 2,9 | -0,2 | -0,1 | 0,0 | 0,2 |
| Enrichi - réplique 1 | - | 2,9 | 1,0 | 0,7 | 9,9 | - |
| Enrichi - réplique 2 | - | 2,9 | 1,2 | 1,0 | 8,0 | - |
| Enrichi - réplique 3 | - | 3,0 | 1,1 | 1,0 | 8,4 | - |
| Standard- réplique 2 | -1,1 | 2,7 | 0,2 | 0,2 | 0,2 | 0,7 |

Les écarts théoriques E_{th} observés étant systématiquement positifs pour le rapport $^{436}\text{Sm-EDTA}/^{435}\text{Sm-EDTA}$, avec le standard $^{\text{nat}}\text{Sm}$ complexé, de probables interférences spectrales ou non spectrales, liées aux nitrates résiduels présents dans les échantillons sont mises en évidence. Les biais calculés pour les standards de contrôle $^{\text{nat}}\text{Sm-EDTA}$ ont été moyennés puis soustraits aux intensités mesurées dans l'échantillon enrichi. Les écarts théoriques entre les rapports d'abondances du $^{147-149}\text{Sm}$ complexé mesurés et théoriques et les répétabilités obtenus pour les rapports isotopiques du $^{147-149}\text{Sm}$ complexé, après correction sont présentés dans le Tableau IV- 13 :

Tableau IV- 13 : Ecarts théoriques E_{th} obtenus avec l'ESIMS-LIT entre les rapports isotopiques théoriques et expérimentaux du $^{147-149}\text{Sm}$ complexé et répétabilités sur les rapports isotopiques théoriques à $k=2$ obtenus après correction des interférences

| Rapports d'abondances | | 436/435 | 437/435 | 438/435 | 440/435 |
|-----------------------|---------------------|-------------|------------|------------|------------|
| réplique 1 (n=10) | E_{th} (%) | -0,5 | 1,0 | 0,7 | 9,9 |
| | Répétabilité (%) | 0,4 | 0,2 | 0,4 | 1,8 |
| réplique 2 (n=10) | E_{th} (%) | -0,7 | 1,2 | 1,0 | 8,0 |
| | Répétabilité (%) | 0,6 | 0,2 | 0,6 | 1,2 |
| réplique 3 (n=10) | E_{th} (%) | -0,6 | 1,1 | 1,0 | 8,4 |
| | Répétabilité (%) | 0,6 | 0,2 | 0,4 | 2,2 |

Les écarts théoriques et les répétabilités obtenus à $k=2$ pour l'échantillon enrichi $^{147-149}\text{Sm}$ complexé sont inférieurs à 2%, à la fois pour le rapport d'abondance dominant

$^{437}\text{Sm-EDTA}/^{435}\text{Sm-EDTA}$, et également pour les rapports dont les abondances des isotopes du Sm sont supérieures à 1% (rapports $^{436}\text{Sm-EDTA}/^{435}\text{Sm-EDTA}$ et $^{438}\text{Sm-EDTA}/^{435}\text{Sm-EDTA}$), et ce, malgré la forte contribution isotopique des éléments H, C, N et O issue des pics adjacents m/z 437 et 435. En raison de la très faible abondance du pic à m/z 440 (0,6%), les écarts théoriques obtenus pour le rapport $^{440}\text{Sm-EDTA}/^{435}\text{Sm-EDTA}$ sont de l'ordre de 9%, ce qui définit la limite basse de la méthode en termes d'abondances.

Les abondances des rapports du Sm complexé ont ensuite été déconvoluées à l'aide de la méthode développée dans la partie II.2.3., afin d'obtenir la composition isotopique du $^{147-149}\text{Sm}$. Les justesses entre les rapports isotopiques théoriques et expérimentaux du $^{147-149}\text{Sm}$ ont été calculées (Tableau IV- 14). Les répétabilités des rapports isotopiques du $^{147-149}\text{Sm}$ à $k=2$ sont également présentées dans le Tableau IV- 14.

Tableau IV- 14 : Rapports isotopiques du $^{147-149}\text{Sm}$ obtenus après déconvolution des spectres de masse, avec les justesses et les répétabilités à $k=2$, avec l'ESIMS-LIT

| $^{147-149}\text{Sm}$ | $^{148}\text{Sm}/^{147}\text{Sm}$ | $^{149}\text{Sm}/^{147}\text{Sm}$ | $^{150}\text{Sm}/^{147}\text{Sm}$ | $^{152}\text{Sm}/^{147}\text{Sm}$ |
|--------------------------|-----------------------------------|-----------------------------------|-----------------------------------|-----------------------------------|
| Série 1 - Moyenne (n=10) | 0,0525 | 0,9126 | 0,0252 | 0,0126 |
| Justesse (%) | -1,8 | 1,0 | -0,3 | 11,4 |
| Répétabilité (%) | 1,4 | 0,2 | 2,6 | 2,2 |
| Série 2 - Moyenne (n=10) | 0,0522 | 0,9144 | 0,0254 | 0,0124 |
| Justesse (%) | -2,3 | 1,2 | 0,5 | 9,6 |
| Répétabilité (%) | 2,0 | 0,2 | 2,4 | 1,4 |
| Série 3 - Moyenne (n=10) | 0,0524 | 0,9140 | 0,0254 | 0,0125 |
| Justesse (%) | -1,9 | 1,2 | 0,7 | 10,1 |
| Répétabilité (%) | 2,0 | 0,2 | 2,6 | 2,6 |

Des justesses inférieures à 3% sont obtenues pour tous les rapports isotopiques du Sm hormis pour le rapport $^{152}\text{Sm}/^{147}\text{Sm}$ dont l'abondance du ^{152}Sm est de 0,6% (Figure IV- 23) et les justesses sont de l'ordre de 10%. Les répétabilités sont inférieures à 3% dans l'ensemble des cas. L'ESIMS-LIT permet donc de mesurer les rapports isotopiques du Sm, avec des isotopes très abondants : ^{147}Sm et ^{149}Sm et peu abondants : ^{148}Sm et ^{150}Sm (< 3% en abondance) et ce, malgré un fort impact des contributions isotopiques des éléments H, C, N et O issues des pics majoritaires adjacents (m/z 435 et 437). Comme pour l'ESIMS-QqQ, ces résultats confirment la validité de l'ensemble des méthodes de mesure et de deconvolution développées, pour des isotopes d'abondance relative supérieure à 1% dans des échantillons de composition isotopique non naturelle.

III. 4. Comparaison des performances de l'ESIMS-QqQ et de l'ESIMS-LIT avec celles des techniques de référence pour la mesure de compositions isotopiques

Les performances des deux ESIMS pour la caractérisation isotopique du Sm d'isotope naturelle et non naturelle (isotopes d'abondance > 1%) obtenues par mesure des spectres de masse du Sm complexé sous forme de Sm-EDTA, puis par déconvolution des spectres de masse, sont résumées dans le Tableau IV-15 en calculant les incertitudes de mesures avec l'Eq. IV-8 :

Tableau IV- 15 : Récapitulatif des justesses, répétabilité et incertitudes de mesures pour la composition isotopique du Sm obtenues à k=2, avec l'ESIMS-QqQ et l'ESIMS-LIT

| | ESIMS-QqQ en mode SIM 431-443 | | ESIMS-LIT en mode full scan 50-1000 | |
|-------------------------|----------------------------------|-----------------------|--|-----------------------|
| | ^{nat} Sm | ¹⁴⁷⁻¹⁴⁹ Sm | ^{nat} Sm | ¹⁴⁷⁻¹⁴⁹ Sm |
| Justesses | < 3% | < 5% | < 1% | < 3% |
| Répétabilité | < 2% | < 16% | < 1% | < 3% |
| Incertitudes de mesures | < 7% | < 18 % | < 2,5% | < 6,5% |

Avec :
$$\text{Incertitude de mesures} = 2 \sqrt{\text{justesse}^2 + \text{répétabilité}_{(k=1)}^2} \quad (\text{Eq. IV- 8})$$

L'ESIMS-LIT permet d'obtenir de meilleures justesses et répétabilité pour la mesure de la composition isotopique du ¹⁴⁷⁻¹⁴⁹Sm que l'ESIMS-QqQ, avec les conditions d'acquisitions respectives des deux instruments.

Une classification des ESIMS du laboratoire en fonction de leurs performances en termes d'incertitudes pour la mesure de composition isotopique par rapport aux instruments de référence permettant de réaliser des mesures en mode couplage chromatographique est proposée dans le Tableau IV- 16 :

Tableau IV- 16 : Performances des ESIMS pour la caractérisation isotopique du Sm

| Compagnie | Instruments | Incertitudes de mesures |
|-------------------|-------------|-------------------------|
| Thermo Scientific | ESIMS-QqQ | >7% |
| | ESIMS-LIT | 2 à 7% |
| | ICPMS-Q | 0,1 à 1% |
| | ICPMS-MC | Haute précision < 0,1% |

Ainsi, en fonction de la nature de l'échantillon est des incertitudes requises, différentes configurations instrumentales pourront être proposées pour la caractérisation isotopique d'éléments.

III. 5. Impact de la nature du complexe sur les mesures de rapports d'abondances

Afin de connaître si les paramètres de source et d'acquisition optimisés pour le Sm-EDTA, sont applicables à d'autres complexes de Ln à ligand acides polyaminocarboxyliques, l'influence de la nature du ligand, du Ln et de la combinaison des deux, sur la mesure de rapports d'abondances a été évaluée. Ces complexes sont susceptibles d'être rencontrés dans divers types d'échantillons, issus des étapes de procédés de traitement de combustibles usés ou pour le recyclage des terres rares, dans des matrices environnementales ou biologiques, etc. Les paramètres de la source optimisés pour le complexe Sm-EDTA à une concentration de 10^{-4} mol.L⁻¹ et les paramètres d'acquisition sélectionnés en mode MS pour chaque instrument ont donc été conservés.

III.5.1. Impact de la nature du complexe sur les mesures de rapports d'abondances avec l'ESIMS-QqQ

Les expériences ont été menées avec les complexes Sm-DTPA, Nd-EDTA, et Nd-DTPA, en adaptant la gamme de masse d'acquisition à celles des massifs isotopiques du complexe d'intérêt. Les écarts théoriques E_{th} entre les rapports d'abondances mesurés et théoriques du Ln complexé et les répétabilités des rapports d'abondances sont présentés en Figure IV- 25 :

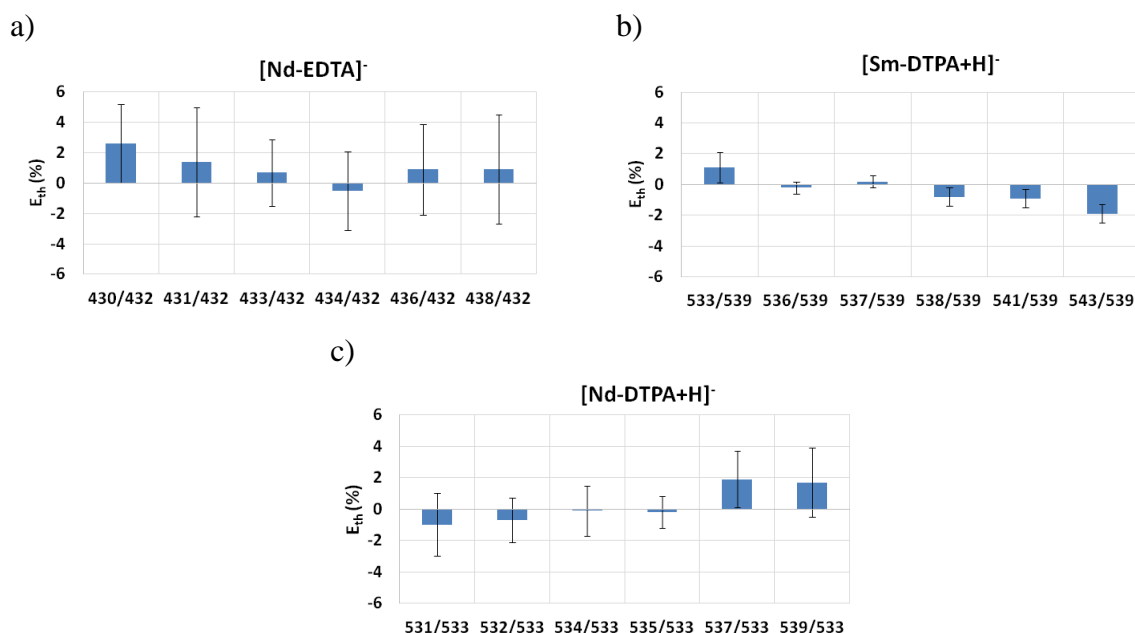


Figure IV- 25: Impact de la nature du complexe sur les écarts théoriques E_{th} et répétabilités à $k=2$ pour a) [Nd-EDTA]⁻, b) [Sm-DTPA+H]⁺, c) [Nd-DTPA+H]⁺. Gammes de masse d'acquisition avec l'ESIMS-QqQ : a) 428-440 b) 532-544 c) 529-541

Les rapports d'abondances ont été calculés avec m/z 432 comme référence pour l'espèce Nd-EDTA, contenant l'isotope ¹⁴⁴Nd (23,8%) ; m/z 539 comme référence pour l'espèce

Sm-DTPA, contenant l'isotope ^{150}Sm (7,4%) et m/z 533 comme référence pour l'espèce Nd-DTPA contenant l'isotope ^{144}Nd (23,8%). Dans tous les cas, les écarts théoriques E_{th} et les répétabilités sont inférieurs respectivement à 3 et 4%. En conséquence, avec des paramètres de source et d'acquisition optimisés pour le Sm-EDTA, la faisabilité de la mesure de rapports d'abondances est démontrée pour d'autres complexes de Ln à ligands acides polyaminocarboxyliques. Ces résultats suggèrent un possible biais de masse notamment pour les complexes Ln-DTPA. Des analyses complémentaires seront nécessaires afin de confirmer ou d'infirmer cette observation.

III.5.2. Impact de la nature du complexe sur les mesures de rapports d'abondances avec l'ESIMS-LIT

Les écarts théoriques E_{th} et les répétabilités obtenus pour les mesures de rapports d'abondances aux masses respectives des complexes Sm-DTPA, Nd-DTPA et Nd-EDTA sont présentés en Figure IV- 26. Les spectres de masse correspondant sont présentés en Annexe 10.

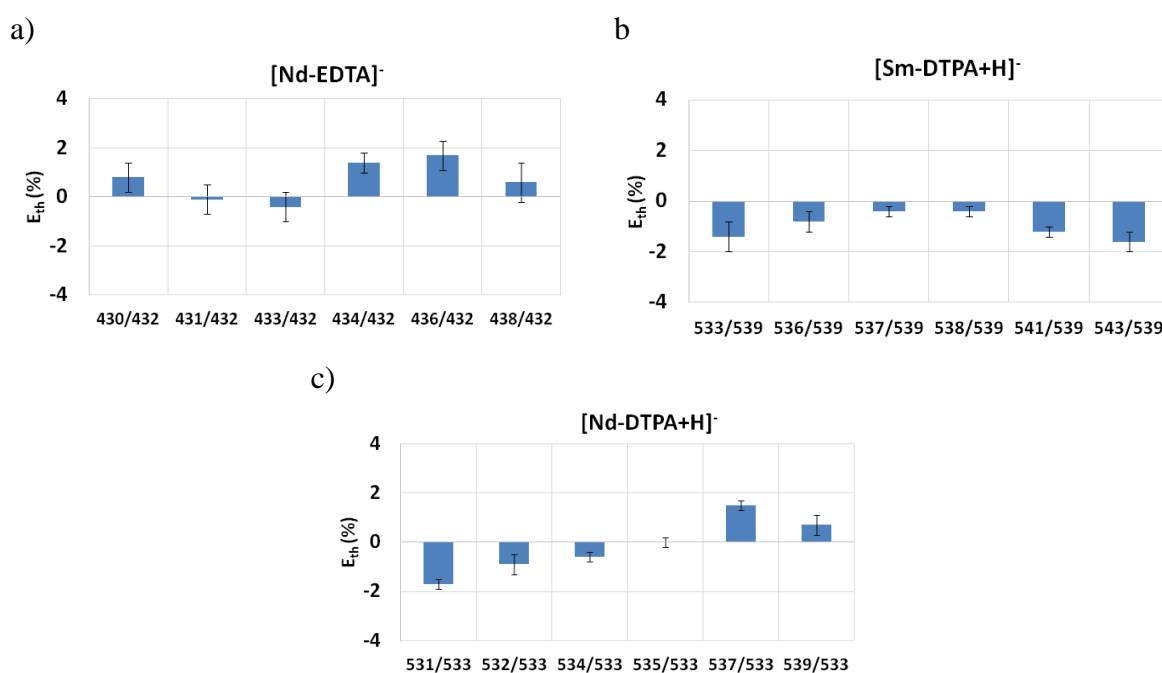


Figure IV- 26 : Ecarts théorique E_{th} et répétabilité à $k=2$ pour l'ensemble des rapports d'abondances du a) $[\text{Nd-EDTA}]^-$, b) $[\text{Sm-DTPA+H}]^+$, c) $[\text{Nd-DTPA+H}]^+$. Gamme de masse d'acquisition avec l'ESIMS-LIT : 50-1000

Dans l'ensemble des cas, les écarts théoriques E_{th} et les répétabilités sont respectivement inférieurs à 2% et 1%. En conséquence, avec des paramètres de source et d'acquisition optimisés pour le Sm-EDTA, la faisabilité de la mesure de rapports d'abondances est démontrée pour d'autres complexes de Ln à ligands acides polyaminocarboxyliques.

En comparant, les résultats obtenus avec l'ESIMS-QqQ et l'ESIMS-LIT (Figures IV-25 et 26), de meilleures répétabilités sont obtenues pour le complexe Nd-EDTA avec l'ESIMS-LIT,

pouvant être expliqué par un signal plus intense avec l'ESIMS-LIT qu'avec l'ESIMS-QqQ. Pour les complexes Ln-DTPA, les écarts théoriques et les répétabilités sont du même ordre de grandeur avec les deux ESIMS.

IV. Conclusion

Ce chapitre décrit la mise au point de méthodes de mesures de compositions isotopiques de Ln, d'isotopie naturelle ou non-naturelle, contenus dans un complexe Ln-acide polyaminocarboxylique, ici le Sm-EDTA, en infusion directe avec un ESIMS-QqQ d'une part et un ESIMS-LIT d'autre part. La technique ESIMS étant très peu employée à notre connaissance pour des mesures isotopiques d'éléments, différents développements ont dus être menés à bien dans ce travail.

Le défi a été d'obtenir la composition isotopique du Sm libre à partir des spectres de masse du Sm complexé mesurés en ESIMS, en raison des contributions des isotopes de H, C, N et O provenant de l'acide polyaminocarboxylique. La première étape a consisté à mettre au point les méthodes de mesures de rapports d'abondances du Sm complexé en mode MS afin d'obtenir les meilleures performances en termes d'écarts théoriques (écarts entre les rapports d'abondances expérimentaux et théoriques pour le Sm complexé) et de répétabilités. Les paramètres d'acquisition sélectionnés ont permis d'obtenir des écarts théoriques E_{th} et des répétabilités inférieurs à 4 % avec l'ESIMS-QqQ et inférieurs à 1% avec l'ESIMS-LIT. Puis, deux approches visant à obtenir la composition isotopique du Sm libre ont ensuite été mises en œuvre. La première approche a consisté à mettre au point une méthode novatrice de déconvolution des spectres de masse acquis en mode MS pour s'affranchir des contributions isotopiques H, C, N et O issues du ligand. À notre connaissance, aucune méthode de ce type n'est décrite dans la littérature à ce jour.

La seconde approche a consisté à fragmenter le Sm-EDTA par MS^2 ou MS^n afin d'obtenir un produit dont les contributions isotopiques résiduelles des éléments H, C, N et O ont le moins d'impact possible sur les mesures de rapports d'abondances du Sm. Avec l'ESIMS-QqQ, les résultats obtenus en mode MS^2 n'ont pas été concluants avec des justesses supérieures à 5%. Les expériences menées en mode HCD avec l'ESIMS-LIT ont permis d'obtenir le Sm non complexé au ligand et des justesses inférieures à 3% sur les compositions isotopiques du Sm avec des répétabilités du même ordre de grandeur. Ces résultats démontrent que la

détermination de la composition isotopique du Sm peut être obtenue simplement par ESIMS-LIT après une optimisation des paramètres d'acquisition et de fragmentation.

La première approche, basée sur la mesure en mode MS des spectres de masse de l'élément complexé associée à la méthode de déconvolution spécifique mise au point dans ce chapitre, permettent d'obtenir les meilleures performances pour la mesure des compositions isotopiques de l'élément libre. Cette approche a été validée avec les deux ESIMS par la mesure d'un échantillon enrichi $^{147-149}\text{Sm-EDTA}$, contenant du Sm d'isotopie non naturelle connue. En effet, des incertitudes de mesure de l'ordre de 2% ($k=2$) avec l'ESIMS-LIT et de l'ordre de 5% avec l'ESIMS-QqQ ont été obtenues pour l'ensemble des isotopes présentant une abondance relative supérieure à 1%. Ces différents développements démontrent que l'approche développée avec la méthode de déconvolution ne nécessitent pas l'achat d'un spectromètre de masse à ultra-haute résolution pour séparer les isotopes. Les méthodes de mesures de compositions isotopiques développées dans ce chapitre vont être à présent appliquées en couplage HILIC ESIMS/ICPMS.

Références :

- [1] Templeton D. M., Fujishiro H., "Terminology of elemental speciation-An IUPAC perspective," *Coord. Chem. Rev.*, 352, (2017), 424-431.
- [2] EGADSNF, "Spent fuel assay data for isotopic validation - state of the art report " Paris, France. OECD, NEA/NSC/WPNCS/DOC, (2011), 5.
- [3] Rodríguez-González P., Marchante-Gayón J. M., García Alonso J. I., Sanz-Medel A., "Isotope dilution analysis for elemental speciation: a tutorial review," *Spectrochimica Acta Part B: Atomic Spectroscopy*, 60, (2005), 151-207.
- [4] Moraes M. C., Neto J. G. B., do Lago C. L., "Boron isotopic ratio by electrospray mass spectra of tetrafluoroborate Part 1. Instrumental conditions, data acquisition, memory effect, and ion stability," *J. Anal. At. Spectrom.*, 16, (2001), 1259-1265.
- [5] Liu C., Hu B., Shi J., Li J., Zhang X., Chen H., "Determination of uranium isotopic ratio ($^{235}\text{U}/^{238}\text{U}$) using extractive electrospray ionization tandem mass spectrometry," *J. Anal. At. Spectrom.*, 26, (2011), 2045-2051.
- [6] Ketterer M. E., Guzowski J. P., "Isotope ratio measurements with elemental-mode electrospray mass spectrometry," *Anal. Chem.*, 68, (1996), 883-887.
- [7] Liu H., Mu J., Wang Z., Ji S., Shi Q., Guo A., *et al.*, "Characterization of vanadyl and nickel porphyrins enriched from heavy residues by positive-ion electrospray ionization FT-ICR mass spectrometry," *Energy & Fuels*, 29, (2015), 4803-4813.
- [8] Yergey J. A., "A general approach to calculating isotopic distributions for mass spectrometry," *Int. J. Mass spectrom. and Ion Physics*, 52, (1983), 337-349.
- [9] Rockwood A. L., Van Orden S. L., Smith R. D., "Ultrahigh resolution isotope distribution calculations," *Rapid Commun. Mass Spectrom.*, 10, (1996), 54-59.
- [10] Valkenburg D., Mertens I., Lemièrre F., Witters E., Burzykowski T., "The isotopic distribution conundrum," *Mass Spectrom. Rev.*, 31, (2012), 96-109.
- [11] Beuvier L., "Développement d'une méthode de séparation chromatographique couplée aux spectrométries de masse à source d'ionisation électrospray (ESI-MS) et à source plasma à couplage inductif (ICP-MS) : application à l'analyse de spéciation des lanthanides," Université Pierre et Marie Curie-Paris VI, (2015), 1-243.
- [12] Dubois J., Retali G., Cesario J., "Isotopic analysis of rare earth elements by total vaporization of samples in thermal ionization mass spectrometry," *Int. J. Mass spectrom. Ion Processes*, 120, (1992), 163-177.
- [13] Berglund M., Wieser M. E., "Isotopic compositions of the elements 2009 (IUPAC Technical Report)," *Pure Appl. Chem.*, 83, (2011), 397-410.
- [14] Meija J., Coplen T. B., Berglund M., Brand W. A., De Bièvre P., Gröning M., *et al.*, "Isotopic compositions of the elements 2013 (IUPAC technical Report)," *Pure Appl. Chem.*, 88, (2016), 293-306.
- [15] "http://wateriso.utah.edu/waterisotopes/pages/data_access/figure_pgs/global.html", consulté le 22 septembre 2018
- [16] Hoegg E. D., Barinaga C. J., Hager G. J., Hart G. L., Koppenaal D. W., Marcus R. K., "Preliminary figures of merit for isotope ratio measurements: The liquid sampling-atmospheric pressure glow discharge microplasma ionization source coupled to an Orbitrap mass analyzer," *J. Am. Soc. Mass. Spectrom.*, 27, (2016), 1393-1403.
- [17] Miller P. E., Denton M. B., "The quadrupole mass filter: basic operating concepts," *J. Chem. Educ.*, 63, (1986), 617-622.
- [18] De Hoffmann E., "Mass spectrometry," *Kirk-Othmer Encyclopedia of Chemical Technology*, (2000), 1-20.

- [19] "Manuel de l'ESIMS-LTQ Velos Pro," *Unity lab Services - Thermo Fisher Scientific*, 1-147.
- [20] Hoegg E. D., Barinaga C. J., Hager G. J., Hart G. L., Koppenaal D. W., Marcus R. K., "Isotope ratio characteristics and sensitivity for uranium determinations using a liquid sampling-atmospheric pressure glow discharge ion source coupled to an Orbitrap mass analyzer," *J. Anal. At. Spectrom.*, 31, (2016), 2355-2362.
- [21] Bourgeois M., Isnard H., Gourgiotis A., Stadelmann G., Gautier C., Mialle S., *et al.*, "Sm isotope composition and Sm/Eu ratio determination in an irradiated ¹⁵³Eu sample by ion exchange chromatography-quadrupole inductively coupled plasma mass spectrometry combined with double spike isotope dilution technique," *J. Anal. At. Spectrom.*, 26, (2011), 1660-1666.
- [22] Kostianen R., Kauppila T. J., "Effect of eluent on the ionization process in liquid chromatography-mass spectrometry," *J Chromatogr A*, 1216, (2009), 685-699.
- [23] Gueguen F., Nonell A., Isnard H., Vio L., Chartier F., "Multi-elemental Gd, Eu, Sm, Nd isotope ratio measurements by liquid chromatography coupled to MC-ICPMS with variable Faraday cup configurations during elution," *Talanta*, 162, (2017), 278-284.

Chapitre V

Développement de méthodes d'analyse de spéciation exhaustive de Ln par couplage simultané HILIC-ESIMS/ICPMS

I. Introduction

Après avoir démontré la potentialité de l'ESIMS pour la caractérisation isotopique du Sm non complexé en infusion directe dans le chapitre IV, ce chapitre est consacré à la mise en œuvre du dispositif de couplage simultané HILIC-ESIMS-QqQ/ICPMS-Q pour la caractérisation élémentaire du Sm-EDTA et du Sm non complexé ainsi qu'à la caractérisation isotopique du Sm non complexé.

Rappelons que ce type de couplage simultané HILIC-ESIMS/ICPMS a déjà été entrepris pour des études de spéciation de l'arsenic [1, 2], et qu'à l'exception de nos précédents travaux, ce type de couplage n'a jamais été mis en œuvre pour les études de spéciation des Ln [3]. Le dimensionnement et l'application du couplage simultané HILIC-ESIMS/ICPMS ont été initialement mis au point en laboratoire conventionnel avec l'ESIMS-QqQ et un ICPMS-Q [3]. Ce montage en laboratoire conventionnel respecte les distances et les contraintes imposées par le dispositif HILIC-ESIMS-LIT/ICPMS-MC implanté en boîte à gants en zone contrôlée, afin de faciliter les transpositions de méthodes entre les deux dispositifs en vue de l'analyse d'échantillons radioactifs.

La première étape de ce travail a été de développer des méthodes de mesures des compositions isotopiques du Sm non complexé par couplage simultané HILIC-ESIMS/ICPMS à partir du complexe $^{\text{nat}}\text{Sm-EDTA}$, qui sont nécessaires pour les études de spéciation ainsi que pour la mise en œuvre des méthodes de quantification par dilution isotopique. Elles permettent généralement d'atteindre les meilleurs niveaux de précision [4].

À l'aide des méthodes de traitement du signal transitoire couramment employées en LC-ICPMS, les rapports isotopiques du Sm ont été déterminés à partir du pic d'élution chromatographique des différents isotopes du Sm acquis par ICPMS et des rapports d'abondances du Sm-EDTA acquis par ESIMS. Les rapports isotopiques du Sm mesurés par ICPMS ont été corrigés du biais de masse suivant les approches classiquement employées dans la littérature [5]. Les rapports d'abondances du Sm-EDTA obtenus par ESIMS ont été ensuite déconvolués à l'aide de la méthode développée dans le Chapitre IV afin d'obtenir la composition isotopique du Sm non complexé. Les performances de l'ESIMS-QqQ en mode couplage simultané pour la caractérisation isotopique pourront ainsi être discutées par rapport à celles obtenues par ICPMS-Q. Les méthodes de mesures de compositions isotopiques développées ont ensuite été validées avec un complexe de Sm-EDTA enrichi en $^{147-149}\text{Sm}$.

Dans la deuxième partie de ce travail, des méthodes de quantification ont été développées avec le complexe Sm-EDTA sur la base des précédents travaux menés au laboratoire [3]. Ces travaux

ont permis de démontrer que l'ajout d'un étalon interne lors de la mise en œuvre de méthodes de quantification conventionnelle (étalonnage) modifiait la répartition des espèces et donc la spéciation des Ln dans nos échantillons. Ce constat est préjudiciable en vue de l'obtention de mesures justes et précises [3]. Une méthode de quantification par étalonnage externe sans étalon interne avait donc été développée pour quantifier chaque complexe de Ln contenu dans l'échantillon modèle étudié.

Dans ce travail, la faisabilité de la méthode de quantification par dilution isotopique spécifique a été démontrée avec le complexe Sm-EDTA par couplage simultané HILIC-ESIMS/ICPMS. La quantification du $^{nat}\text{Sm-EDTA}$ a été réalisée par l'ajout d'un traceur $^{149}\text{Sm-EDTA}$ en amont de la séparation chromatographique. Les performances de cette méthode de quantification en termes d'incertitudes de mesures seront discutées et comparées à celles obtenues par une approche classique en étalonnage externe. Enfin les perspectives de développements des méthodes de quantification notamment par dilution isotopique non-spécifique seront discutées.

II. Matériel et méthodes

Cette partie décrit le dimensionnement du dispositif de couplage simultané HILIC-ESIMS-QqQ/ICPMS-Q, les paramètres instrumentaux employés pour chaque spectromètre de masse, ainsi que les méthodes de traitements des signaux transitoires utilisées pour déterminer les rapports isotopiques ou d'abondances.

II.1. Couplage simultané HILIC-ESIMS-QqQ/ICPMS-Q

Le couplage simultané HILIC-ESIMS-QqQ/ICPMS-Q a été dimensionné dans des précédents travaux en laboratoire conventionnel [3]. Il tient compte des distances imposées par le dispositif HILIC-ESIMS-LIT/ICPMS-MC déjà implanté en boîte à gants en zone contrôlée, en vue de l'analyse d'échantillons radioactifs. Le dispositif est schématisé ci-après :

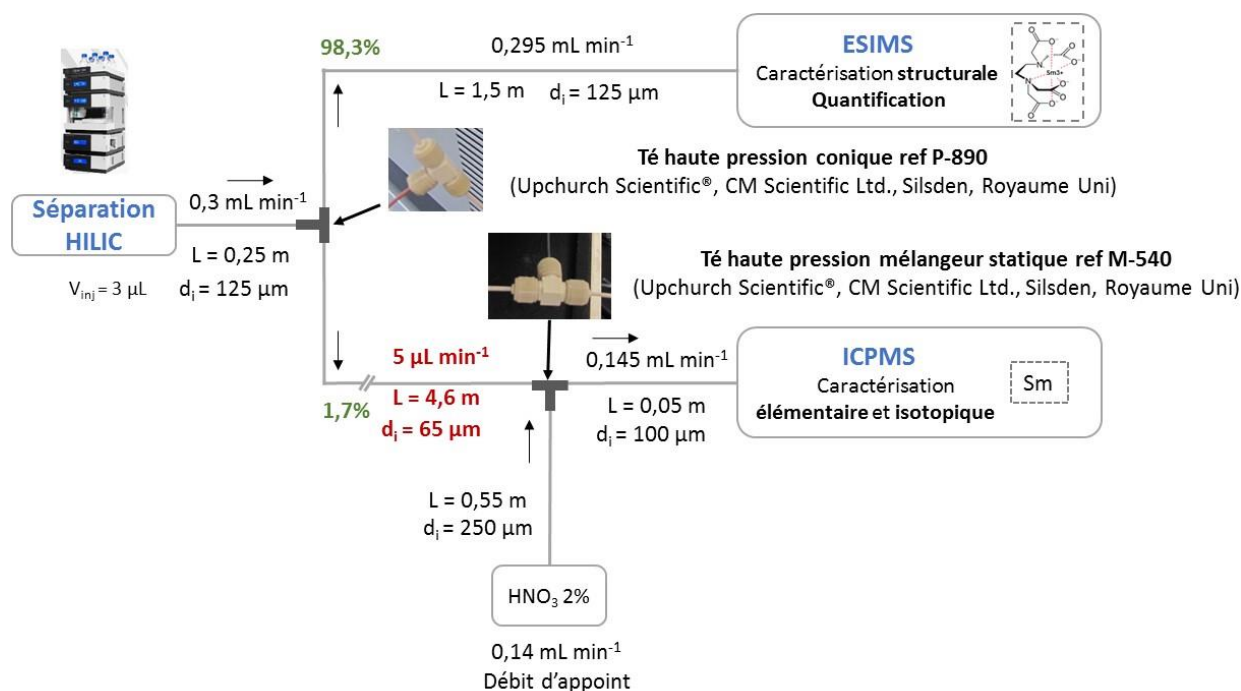


Figure V-1 : Représentation schématique du couplage simultané HILIC-ESIMS/ICPMS (Adaptée de [3])

Comme indiqué dans le chapitre III, les séparations ont été réalisées avec la colonne Acquity amide de dimensions $100 \times 2,1$ mm ; $1,7 \mu\text{m}$ et une phase mobile composée de 70/30 acétonitrile/eau 15 mM d'acétate d'ammonium 0,5% d'acide formique à un débit de $0,3 \text{ mL} \cdot \text{min}^{-1}$ en mode d'élution isocratique. Le débit en sortie de colonne chromatographique est divisé en deux fractions à l'aide d'une union en T haute pression conique, sans volume mort (ref P-890, Upchurch Scientific®, CM Scientific Ltd., Silsden, Royaume Uni). Cette union en T est reliée à l'ESIMS par une tubulure de $1,5 \text{ m} \times 125 \mu\text{m}$ de diamètre interne (d.i.) et à l'ICPMS par une tubulure de $4,6 \text{ m} \times 65 \mu\text{m}$. Le d.i. de cette dernière tubulure a été sélectionné afin de réduire les volumes extra colonne associés à la longueur de cette tubulure. Cette division de flux engendre un débit de $0,295 \text{ mL} \cdot \text{min}^{-1}$ entre l'union en T et l'ESIMS et de $5 \mu\text{L} \cdot \text{min}^{-1}$ en direction de l'ICPMS, soit 98,3% du flux vers l'ESIMS et 1,7% vers l'ICPMS.

Le débit à $5 \mu\text{L} \cdot \text{min}^{-1}$ dirigé vers l'ICPMS, est dilué avant l'arrivée au nébuliseur dans une chambre de mélange (ref M-540, Upchurch Scientific®, CM Scientific Ltd., Silsden, Royaume Uni) avec de l'acide nitrique à 2%. Cet acide est introduit à l'aide d'un pousse seringue à un débit de $0,14 \text{ mL} \cdot \text{min}^{-1}$ environ, et son débit a été adapté pour certaines expériences afin de limiter la concentration en Sm à environ 3,4 partie par milliard (ppb) (Annexe 1 partie 4.4). Ce débit est imposé pour que le débit d'entrée soit compatible avec les caractéristiques du nébuliseur, et pour que le détecteur de l'ICPMS-Q n'opère qu'en mode impulsion. Cette dilution permet également de réduire la charge en solvant organique transférée dans le plasma,

améliorant ainsi la stabilité et la sensibilité du signal mesuré. Les différentes configurations opérées dans ce chapitre sont présentées en Annexe 1 partie 4.4.

Du fait de la présence de solvant organique dans la phase mobile, quelques précautions ont été prises au niveau du système d'introduction de l'ICPMS afin d'éviter tout risque d'encrassement des cônes ou des lentilles. De l'oxygène à un débit de 8 mL.min⁻¹ a été introduit dans le plasma afin d'éviter les dépôts de carbone [6-7], des cônes en platine, résistants à de hautes températures ont été utilisés ainsi qu'un injecteur de 1 mm (d.i).

À noter également que le débit de HNO₃ 2% a été mesuré en temps réel avec un débitmètre de la société Fluigent (Flow-rate platform - Fluigent Inc, Lowell, Etats-Unis). La mesure de ce dernier a permis de déterminer le facteur de dilution exact de l'échantillon arrivant à l'ICPMS. Celui-ci a ensuite été pris en compte lors de la mise en œuvre de la méthode de quantification par étalonnage externe et sera nécessaire pour la mise en œuvre de la dilution isotopique non spécifique.

II.2. Méthodes de mesures de la caractérisation isotopique du Sm par couplage simultané HILIC-ESIMS-QqQ/ICPMS-Q

Avant toute mesure de caractérisation isotopique ou élémentaire, les paramètres de la source de l'ICPMS et du système de focalisation des ions ont été optimisés quotidiennement avec une solution de Sm-EDTA à une concentration de 3,4 ppb en Sm introduite via un pousse seringue. Cette concentration en Sm-EDTA correspond à celle introduite dans l'ICPMS en mode couplage lors d'une injection d'une solution de Sm-EDTA à une concentration de 10⁻⁴ mol.L⁻¹. Cette solution a été préparée par dilution de la solution du Sm-EDTA à une concentration de 10⁻⁴ mol.L⁻¹ par un facteur 150 dans la phase mobile, puis re-diluée dans du HNO₃ à 2%. La préparation de l'échantillon est détaillée en Annexe 1. Les paramètres de la source d'ionisation de l'ICPMS sont reportés dans le Tableau V- 1.

Tableau V- 1 : Paramètres de la source d'ionisation de l'ICPMS-Q en couplage simultané

| Paramètres de la source d'ionisation de l'ICPMS | |
|---|------|
| Puissance RF (W) | 1400 |
| Gaz plasmagène (L.min ⁻¹) | 14 |
| Gaz auxiliaire (L.min ⁻¹) | 0,89 |
| Gaz de nébulisation (L.min ⁻¹) | 0,8 |
| Oxygène (mL.min ⁻¹) | 8 |

Lors des analyses en couplage, les isotopes du Sm ont été suivis avec un temps d'intégration (dwell time) de 30 ms.

Pour l'ESIMS-QqQ, les paramètres de la source ont été optimisés en conditions LC, à un débit de 0,3 mL.min⁻¹. Les paramètres d'acquisition sélectionnés en infusion directe dans le chapitre IV ont été utilisés pour réaliser les expériences en couplage simultané. Les paramètres de la source et d'acquisition de l'ESIMS-QqQ sont récapitulés dans le Tableau V- 2.

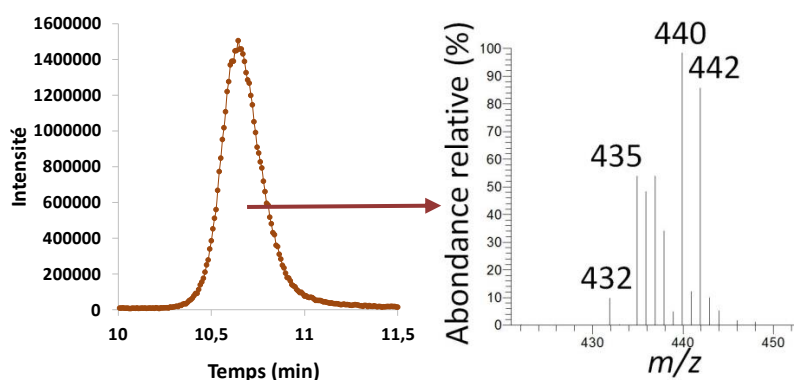
Tableau V- 2 : Paramètres de source et d'acquisition de l'ESIMS-QqQ en couplage simultané

| Paramètres de l'ESIMS-QqQ | | | | | |
|-----------------------------------|------------|----|-------------|---------------------------------|---------------|
| Source | | | Acquisition | | |
| Température de transfert (°C) | capillaire | de | 360 | Mode d'acquisition | Centroïde |
| Tension du spray (V) | | | 3700 | Gamme de masse - mode | 431-443 - SIM |
| Température de vaporisation (°C) | | | 350 | Largeur de pic à mi-hauteur (u) | 0,5 |
| Gaz séchant (unité arbitraire) | | | 15 | Nombre de micro scan | 1 |
| Gaz auxiliaire (unité arbitraire) | | | 35 | Temps de scan (s) | 0,5 |
| Skimmer offset (V) | | | 1 | - | - |

Au début de chaque session analytique, la stabilité et l'intensité du signal ont été vérifiées en infusion directe, avec une solution de Sm-EDTA à une concentration de 10⁻⁴ mol.L⁻¹ en Sm.

Avec les paramètres de source et d'acquisition sélectionnés, les expériences en couplage simultané HILIC-ESIMS-QqQ/ICPMS-Q ont été réalisées avec le complexe Sm-EDTA. Un exemple du profil d'élution chromatographique du ^{nat}Sm-EDTA, acquis par ESIMS-QqQ et par ICPMS-Q est présenté en Figure V- 2 :

a) $^{nat}\text{Sm-EDTA}$ en HILIC-ESIMS-QqQ



b) $^{nat}\text{Sm-EDTA}$ en HILIC-ICPMS-Q

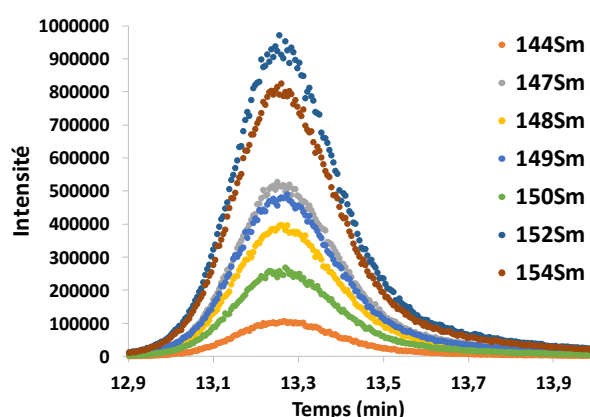


Figure V- 2 : Profil d'élution du $^{nat}\text{Sm-EDTA}$ obtenu par couplage avec a) ESIMS-QqQ en mode MS b) ICPMS-Q

Le profil d'élution obtenu par ICPMS-Q est comparable à celui obtenu en ESIMS-QqQ, mais avec un retard d'environ de 2,5 min due à la différence de longueur et de diamètre de connectique entre l'union en T et les spectromètres de masse.

L'identification des complexes est réalisée à partir du profil d'élution chromatographique mesuré par ESIMS-QqQ, par la mesure des rapports m/z et du massif isotopique du Ln complexé en mode MS. Dans le cas de l'analyse d'échantillons réels, des expériences supplémentaires en mode MS^2 permettront de confirmer la structure des complexes.

II.3. Traitement des signaux transitoires

Pour déterminer les rapports isotopiques des éléments en ICPMS, à partir de signaux transitoires, les données sont généralement traitées avec l'une des trois méthodes suivantes [8] :

(1) **point par point (PbP : Point by Point)** : les rapports isotopiques de l'élément sont calculés pour chaque point du pic chromatographique, puis sont moyennés.

(2) **intégration de l'aire de pic (PAI : Peak Area Integration)** : pour chaque isotope, l'aire du pic est calculée, puis les rapports isotopiques sont déterminés en effectuant le rapport des aires obtenues pour chaque isotope.

Avec ces deux méthodes de traitement, les blancs injectés en début de session analytique ont été soustraits aux intensités du complexe d'intérêt isotope par isotope. De plus, les calculs ont été effectués avec une intégration du pic à 90% et à 95%, afin de définir la meilleure fenêtre d'acquisition, comme réalisé classiquement dans les études en LC-ICPMS [9]. Les résultats seront présentés avec la méthode d'intégration à 95% de la hauteur du pic, en raison des meilleures performances obtenues avec ce pourcentage d'intégration.

(3) méthode de régression linéaire appelée aussi **méthode des pentes (LRS : Linear Regression Slope)** : les rapports isotopiques correspondent à la pente de la droite représentant l'intensité du signal de l'isotope d'intérêt en fonction du signal de l'isotope de référence [10]. Un exemple est présenté en Figure V- 3, dans le cas du ^{nat}Sm .

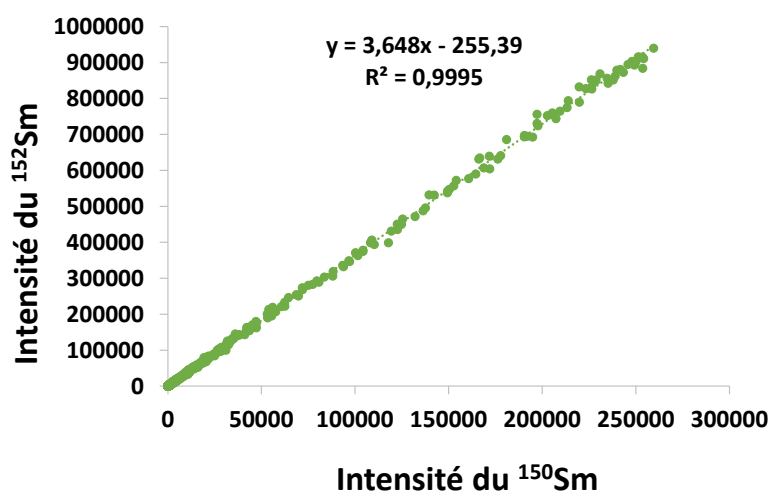


Figure V- 3 : Détermination du rapport isotopique $^{152}\text{Sm}/^{150}\text{Sm}$ avec la méthode des pentes

Pour l'exemple présenté en Figure V- 3, la pente de la droite correspond au rapport isotopique $^{152}\text{Sm}/^{150}\text{Sm}$ mesuré. L'avantage de cette méthode est qu'elle ne nécessite pas de corrections du bruit de fond [9, 10]. De plus, de meilleures justesses et reproductibilités de mesures sont généralement obtenues avec cette méthode de traitement en LC-ICPMS [9].

À ce jour, les méthodes de traitement des données utilisées en LC-ESIMS pour les composés organiques sont basées sur la hauteur de pic relative ou sur l'aire de pic [11].

Les profils d'élution chromatographiques acquis par ESIMS et ICPMS ont été traités avec les trois méthodes de traitement du signal transitoire pour en déterminer les rapports isotopiques mesurés du Sm en ICPMS et les rapports d'abondances du Sm complexé en ESIMS.

II.3.1. Rapports isotopiques corrigés en ICPMS

Les rapports isotopiques mesurés en LC-ICPMS, déterminés à l'aide de ces différentes méthodes de traitement doivent ensuite être corrigés du biais de masse β , qui est un phénomène intrinsèque à l'instrument, généré principalement par des effets de charge au niveau de l'interface. Ce phénomène, bien connu en ICPMS, conduit à la transmission préférentielle des isotopes lourds dans l'instrument et se traduit donc par une sous-estimation des rapports isotopiques mesurés entre les isotopes légers et les isotopes lourds. Il a été ici corrigé de façon classique à l'aide d'une loi exponentielle [12, 13]. Ainsi, le facteur de biais de masse β a été calculé pour chaque rapport isotopique du standard $^{nat}\text{Sm-EDTA}$ suivant l'équation :

$$\beta = \frac{\ln\left(\frac{R_{1/2\ th}}{R_{1/2\ mes}}\right)}{\ln\left(\frac{M_1}{M_2}\right)} \quad (\text{Eq. V- 1})$$

Avec : $R_{1/2\ th}$: rapport isotopique théorique entre l'isotope 1 et l'isotope 2 du standard, $R_{1/2\ mes}$: rapport isotopique mesuré entre l'isotope 1 et l'isotope 2 du standard, sans correction du biais de masse, M_1 : masse molaire de l'isotope 1 et M_2 : masse molaire de l'isotope 2.

Les rapports isotopiques de l'élément dans l'échantillon ont ensuite été corrigés à l'aide de l'équation V-2 :

$$R_{1/2\ cor} = R_{1/2\ mes} \times \left(\frac{M_1}{M_2}\right)^\beta \quad (\text{Eq. V- 2})$$

Avec : $R_{1/2\ cor}$: rapport isotopique corrigé du biais de masse entre l'isotope 1 et l'isotope 2.

Dans le cas des échantillons radioactifs, les méthodes classiques de correction du biais de masse comme la correction interne ne peuvent pas être appliquées en raison des compositions isotopiques non naturelles des échantillons. La méthode de correction externe appelée méthode de l'encadrement par un standard (SSB : Sample Standard Bracketing) a été utilisée [14]. Cette méthode consiste à encadrer l'analyse de l'échantillon par deux analyses de standards afin de déterminer le biais de masse instrumental par interpolation linéaire au moment de l'analyse de l'échantillon.

II.3.2. Rapports isotopiques en ESIMS

Les rapports d'abondances du Sm-EDTA déterminés avec les trois méthodes de traitement du signal ont permis de déduire les abondances du Sm complexé à l'EDTA. Ces abondances ont ensuite été déconvoluées avec la méthode développée dans le chapitre IV afin d'obtenir la composition isotopique du Sm non complexé.

Lors des analyses des échantillons de Sm-EDTA comportant du Sm d'isotopie non naturelle, la méthode de de l'encadrement par un standard externe, ici du $^{nat}\text{Sm-EDTA}$, a été utilisée afin de corriger d'éventuelles interférences.

L'ensemble des résultats obtenus par ces différentes approches sont décrits et discutés ci-après.

III. Résultats

III.1. Méthodes de mesures de composition isotopique du Sm par couplage simultané HILIC-ESIMS-QqQ/ICPMS-Q

Les méthodes de mesures de composition isotopique du ^{nat}Sm non complexé ont été mises au point par couplage simultané HILIC-ESIMS-QqQ/ICPMS-Q et ont été ensuite validées par l'analyse d'un échantillon enrichi $^{147-149}\text{Sm-EDTA}$.

III.1.1. Mesures de la composition isotopique du ^{nat}Sm par couplage simultané HILIC-ESIMS-QqQ/ICPMS-Q

L'objectif de cette partie est de déterminer la composition isotopique du ^{nat}Sm non complexé par HILIC-ESIMS-QqQ/ICPMS-Q après traitement du signal transitoire de l'espèce $^{nat}\text{Sm-EDTA}$.

Les premières mesures de compositions isotopiques en ligne par couplage simultané HILIC-ESIMS-QqQ/ICPMS-Q ont été réalisées à l'aide d'une solution de $^{nat}\text{Sm-EDTA}$ diluée dans la phase mobile à une concentration de $10^{-4} \text{ mol.L}^{-1}$ en Sm, en se référant aux précédents développements réalisés en infusion directe. La gamme dynamique étant de deux ordres de grandeurs en infusion directe en ESIMS, nous nous sommes assurés que les mesures de compositions isotopiques soient justes et précises pour l'ensemble des isotopes du Sm. Pour ce faire, les écarts théoriques E_{th} , définis comme les écarts entre les rapports d'abondance du Sm complexé théoriques et mesurés, ont été calculés à partir du profil d'élution chromatographique acquis par ESIMS-QqQ. Ces écarts E_{th} sont inférieurs à 3 % hormis pour le rapport $^{432}\text{Sm-EDTA}/^{438}\text{Sm-EDTA}$, avec m/z 432, correspondant à l'ion le moins abondant du massif isotopique du $[\text{Sm-EDTA}]^-$. Les mesures de composition isotopique du Sm non complexé ont donc été réalisées avec une concentration de $1,5 \times 10^{-4} \text{ mol.L}^{-1}$ en Sm permettant d'obtenir des écarts théoriques E_{th} inférieures à 3% pour l'ensemble des rapports m/z d'intérêt. Cette concentration a donc été sélectionnée pour la suite de l'étude.

III.1.1.1. Mesures de la composition isotopique du ^{nat}Sm à partir des données acquises en ICPMS-Q

Les rapports isotopiques du ^{nat}Sm mesurés à partir du profil d'éluion chromatographique du ^{nat}Sm-EDTA par ICPMS-Q ont été déterminés avec les trois méthodes de traitement des signaux transitoires présentées précédemment : méthode de pentes, point par point et aire de pic (Figure V- 2). Ces rapports isotopiques ont ensuite été corrigés du biais de masse avec la méthode de l'encadrement SSB, pour une série d'analyse comprenant dix répliques de mesure (n=10).

Les performances de l'ICPMS-Q pour la mesure de composition isotopique du Sm ont été déterminées à partir des incertitudes de mesures déterminées suivant l'Eq. IV-8 :

$$\text{Incertitude de mesure} = 2 \sqrt{\text{justesse}^2 + \text{répétabilité}_{(k=1)}^2} \quad (\text{Eq. IV-8})$$

Les justesses entre les rapports isotopiques du Sm corrigés et les rapports isotopiques déterminés par spectrométrie de masse à thermo-ionisation (TIMS : Thermal Ionisation Mass Spectrometry) [15], valeurs de référence, ont été calculées avec l'Eq. V-3 :

$$\text{Justesse (\%)} = \frac{R_{\text{cor (Sm)}} - R_{\text{th (Sm)}}}{R_{\text{th (Sm)}}} \times 100 \quad (\text{Eq. V- 3})$$

Avec : $R_{\text{cor (Sm)}}$: rapport isotopique mesuré du Sm non complexé, corrigé du biais de masse et $R_{\text{th (Sm)}}$: rapport isotopique du Sm non complexé, de référence déterminé par TIMS.

Les répétabilités ont été déterminées à k=2 avec l'Eq. IV-3 :

$$\text{Répétabilité (\%)} = 2\sigma(\%) = \frac{2 \text{ écart-type}}{\text{moyenne}} \times 100 \quad (\text{Eq. IV-3})$$

Les justesses, les répétabilités et les incertitudes de mesures obtenues pour dix répliques de mesures du ^{nat}Sm en ICPMS-Q sont présentées dans le Tableau V- 3.

Tableau V- 3 : Répétabilité, justesses et incertitudes de mesures à $k=2$ ($n=10$) des rapports isotopiques corrigés du ^{nat}Sm obtenus par couplage avec l'ICPMS-Q, suivant les différentes méthodes de traitement des signaux transitoires

| Rapports isotopiques du ^{nat}Sm | | | | | | |
|---|-----------------------------------|-----------------------------------|-----------------------------------|-----------------------------------|-----------------------------------|-----------------------------------|
| Méthode des pentes | $^{144}\text{Sm}/^{150}\text{Sm}$ | $^{147}\text{Sm}/^{150}\text{Sm}$ | $^{148}\text{Sm}/^{150}\text{Sm}$ | $^{149}\text{Sm}/^{150}\text{Sm}$ | $^{152}\text{Sm}/^{150}\text{Sm}$ | $^{154}\text{Sm}/^{150}\text{Sm}$ |
| Répétabilité (%) | 1,0 | 0,8 | 0,4 | 0,8 | 0,8 | 0,8 |
| Justesse (%) | 0,004 | 0,02 | 0,006 | 0,01 | -0,01 | -0,02 |
| Incertitude (%) | 1,0 | 0,8 | 0,4 | 0,7 | 0,9 | 0,9 |
| Point par point 95% | $^{144}\text{Sm}/^{150}\text{Sm}$ | $^{147}\text{Sm}/^{150}\text{Sm}$ | $^{148}\text{Sm}/^{150}\text{Sm}$ | $^{149}\text{Sm}/^{150}\text{Sm}$ | $^{152}\text{Sm}/^{150}\text{Sm}$ | $^{154}\text{Sm}/^{150}\text{Sm}$ |
| Répétabilité (%) | 1,2 | 0,6 | 0,4 | 0,8 | 0,4 | 0,8 |
| Justesse (%) | 0,04 | -0,01 | 0,004 | 0,01 | -0,004 | -0,02 |
| Incertitude (%) | 1,3 | 0,6 | 0,4 | 0,7 | 0,5 | 0,8 |
| Aire de pic 95% | $^{144}\text{Sm}/^{150}\text{Sm}$ | $^{147}\text{Sm}/^{150}\text{Sm}$ | $^{148}\text{Sm}/^{150}\text{Sm}$ | $^{149}\text{Sm}/^{150}\text{Sm}$ | $^{152}\text{Sm}/^{150}\text{Sm}$ | $^{154}\text{Sm}/^{150}\text{Sm}$ |
| Répétabilité (%) | 1,0 | 0,6 | 0,4 | 0,8 | 0,8 | 0,8 |
| Justesse (%) | 0,03 | 0,01 | 0,001 | 0,007 | -0,02 | -0,02 |
| Incertitude (%) | 1,1 | 0,6 | 0,4 | 0,7 | 0,8 | 0,8 |

Ce tableau met en évidence qu'avec les trois méthodes de traitement, les incertitudes de mesures sont systématiquement inférieures à 1,5% ($k=2$). Ces incertitudes correspondent aux incertitudes classiquement obtenues en LC-ICPMS et ce, malgré un dispositif instrumental complexe et des échantillons de Ln initialement présents en phase hydro-organique [6, 7]. Ces résultats seront utilisés comme référence lors de l'évaluation des performances de l'HILIC-ESIMS-QqQ présentées ci-après.

III.1.1.2. Mesures de la composition isotopique du ^{nat}Sm -EDTA à partir des données acquises en ESIMS-QqQ

Les paramètres de source de l'ESIMS-QqQ optimisés en conditions LC et les paramètres d'acquisition sélectionnés en infusion directe dans le chapitre IV, ont permis d'effectuer les mesures de rapports d'abondances du Sm complexé par couplage simultané à partir du profil d'élution acquis avec l'ESIMS-QqQ (Figure V- 2). Lors des premières mesures, l'influence des valeurs du temps de scan sur les mesures de rapports d'abondances du Sm complexé à l'EDTA pour une gamme de masse 431-443 en mode SIM a été évalué. Cette étude a permis de démontrer que les valeurs de 0,5 s et 0,7 s permettent d'obtenir des écarts théoriques E_{th} et des répétabilités comparables. Une valeur de temps de scan de 0,5 s a été sélectionnée pour la suite de l'étude afin de mieux définir le pic d'élution.

Les écarts théoriques E_{th} , les répétabilités et les incertitudes de mesures pour le Sm complexé ont été calculés avec les trois méthodes de traitement des signaux transitoires pour les dix répliques de mesures, et sont reportés dans le Tableau V- 4.

Tableau V-4 : Répétabilité, écarts théoriques E_{th} et incertitudes de mesures à $k=2$ ($n=10$) des rapports d'abondances du ^{nat}Sm complexé obtenus par couplage avec l'ESIMS-QqQ suivant les différentes méthodes de traitement des signaux transitoires

| Rapports d'abondances du ^{nat}Sm complexé à l'EDTA | | | | | | |
|---|------------|------------|------------|------------|------------|-------------|
| Méthode des pentes | 432/438 | 435/438 | 436/438 | 437/438 | 440/438 | 442/438 |
| Répétabilité (%) | 3,0 | 2,4 | 2,2 | 2,8 | 2,0 | 2,4 |
| E_{th} (%) | -2,9 | -2,1 | -1,6 | -0,3 | -2,2 | -3,9 |
| Incertitude (%) | 6,5 | 4,8 | 3,9 | 2,8 | 4,8 | 8,2 |
| Point par point 95% | 432/438 | 435/438 | 436/438 | 437/438 | 440/438 | 442/438 |
| Répétabilité (%) | 2,6 | 2,4 | 2,4 | 3,0 | 2,2 | 2,0 |
| E_{th} (%) | -1,4 | 0,6 | -1,4 | 0,9 | -0,5 | -3,1 |
| Incertitude (%) | 3,9 | 2,8 | 3,7 | 3,5 | 2,4 | 7,7 |
| Aire de pic 95% | 432/438 | 435/438 | 436/438 | 437/438 | 440/438 | 442/438 |
| Répétabilité (%) | 2,0 | 2,0 | 1,6 | 2,4 | 1,6 | 1,8 |
| E_{th} (%) | -2,3 | -1,0 | -1,4 | 0,4 | -1,6 | -3,8 |
| Incertitude (%) | 5,1 | 2,8 | 3,3 | 2,5 | 3,6 | 7,8 |

Avec les trois méthodes de traitement du signal, les incertitudes de mesures des rapports d'abondances du Sm complexé à $k=2$ sont de l'ordre de 5%. Ces trois méthodes de traitement sont donc comparables en termes d'incertitudes de mesures sur cette série d'analyse. On peut noter que l'écart théorique obtenu pour le rapport $^{442}Sm-EDTA/^{438}Sm-EDTA$ est de l'ordre de 3 à 4%, valeur plus élevée que celui obtenu lors des analyses en infusion directe pour le même rapport, qui n'excédait pas 2%. Ce résultat ne peut pas être expliqué par l'abondance de l'ion du m/z 442, qui est de 20,4% (Figure IV-3), ni par une interférence étant donné que les écarts théoriques des rapports $^{442}Sm-EDTA/^{438}Sm-EDTA$ et $^{442}Sm-EDTA/^{440}Sm-EDTA$ sont négatifs. De nouvelles séries de mesures devront être réalisées afin de confirmer ce biais analytique et à déterminer son origine.

À partir des rapports d'abondances du Sm complexé à l'EDTA, les compositions isotopiques du Sm non complexé ont été calculées à l'aide de la méthode de déconvolution mise au point dans le chapitre IV. Les justesses, les répétabilités et les incertitudes de mesures obtenues pour dix répliques de mesures du ^{nat}Sm obtenues après déconvolution sont récapitulées dans le Tableau V- 5.

Tableau V- 5 : Répétabilité, justesses et incertitudes de mesures à $k=2$ ($n=10$) des rapports isotopiques du ^{nat}Sm après déconvolution obtenus par couplage avec l'ESIMS-QqQ suivant les différentes méthodes de traitement des signaux transitoires

| Rapports isotopiques du ^{nat}Sm | | | | | | |
|---|-----------------------------------|-----------------------------------|-----------------------------------|-----------------------------------|-----------------------------------|-----------------------------------|
| Méthode des pentes | $^{144}\text{Sm}/^{150}\text{Sm}$ | $^{147}\text{Sm}/^{150}\text{Sm}$ | $^{148}\text{Sm}/^{150}\text{Sm}$ | $^{149}\text{Sm}/^{150}\text{Sm}$ | $^{152}\text{Sm}/^{150}\text{Sm}$ | $^{154}\text{Sm}/^{150}\text{Sm}$ |
| Répétabilité (%) | 3,6 | 3,0 | 2,8 | 3,6 | 2,4 | 2,8 |
| Justesse (%) | -3,0 | -2,2 | -1,7 | -0,2 | -2,3 | -4,1 |
| Incertitude (%) | 6,9 | 5,3 | 4,3 | 3,7 | 5,2 | 8,6 |
| Point par point 95% | $^{144}\text{Sm}/^{150}\text{Sm}$ | $^{147}\text{Sm}/^{150}\text{Sm}$ | $^{148}\text{Sm}/^{150}\text{Sm}$ | $^{149}\text{Sm}/^{150}\text{Sm}$ | $^{152}\text{Sm}/^{150}\text{Sm}$ | $^{154}\text{Sm}/^{150}\text{Sm}$ |
| Répétabilité (%) | 2,8 | 3,2 | 3,0 | 4,0 | 2,8 | 2,8 |
| Justesse (%) | -1,2 | 0,8 | -1,5 | 1,4 | -0,3 | -3,6 |
| Incertitude (%) | 3,6 | 3,5 | 4,3 | 4,9 | 2,9 | 7,7 |
| Aire de pic 95% | $^{144}\text{Sm}/^{150}\text{Sm}$ | $^{147}\text{Sm}/^{150}\text{Sm}$ | $^{148}\text{Sm}/^{150}\text{Sm}$ | $^{149}\text{Sm}/^{150}\text{Sm}$ | $^{152}\text{Sm}/^{150}\text{Sm}$ | $^{154}\text{Sm}/^{150}\text{Sm}$ |
| Répétabilité (%) | 2,6 | 2,4 | 2,0 | 3,2 | 2,0 | 2,2 |
| Justesse (%) | -2,5 | -0,9 | -1,4 | 0,8 | -1,6 | -3,8 |
| Incertitude (%) | 5,7 | 3,1 | 3,5 | 3,5 | 3,6 | 7,9 |

Les incertitudes de mesures des rapports isotopiques du Sm non complexé sont de l'ordre de 5% ($k=2$) et sont du même ordre de grandeur que les valeurs obtenues avant déconvolution. On peut noter que la justesse du rapport isotopique $^{154}\text{Sm}/^{150}\text{Sm}$ est de l'ordre de 4%. Celle-ci est du même ordre de grandeur que l'écart théorique observé pour le rapport $^{442}\text{Sm-EDTA}/^{438}\text{Sm-EDTA}$ et est donc lié au biais observé lors de la mesure de ce rapport d'abondance. Comme discuté précédemment, ce biais devra être confirmé par de nouvelles séries de mesures et son origine investiguée ultérieurement.

Ces résultats démontrent que la composition isotopique d'un Ln d'isotope naturelle complexé à un acide polyaminocarboxylique peut être déterminée directement par HILIC-ESIMS-QqQ à partir des mesures d'abondances du Ln complexé sur le pic d'élution de l'espèce puis déconvolution afin d'obtenir la composition isotopique du Ln non complexé, et ce, avec des incertitudes de mesures de l'ordre de 5% ($k=2$). Ces méthodes de mesures en ligne ont été par la suite appliquées à l'analyse d'un échantillon enrichi d'isotope non naturelle.

III.1.2. Mesures de la composition isotopique du $^{147-149}\text{Sm}$ par couplage simultané HILIC-ESIMS-QqQ/ICPMS-Q

Pour valider les méthodes de mesures de composition isotopique du ^{nat}Sm mises au point avec le couplage simultané HILIC-ESIMS-QqQ/ICPMS-Q, un échantillon d'isotope non naturelle, enrichi en ^{147}Sm et ^{149}Sm complexé à l'EDTA a été analysé suivant la même approche.

À partir de l'isotope du $^{147-149}\text{Sm}$ déterminée par TIMS, les abondances théoriques attendues en ICPMS et ESIMS calculées après convolution sont présentées en Figure V- 4.

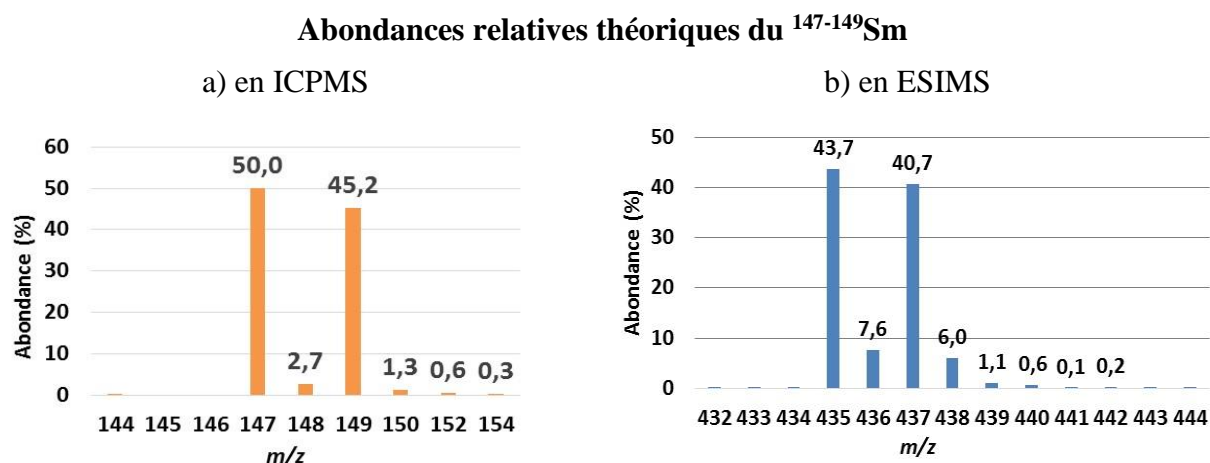


Figure V- 4 : Abondances théoriques du a) $^{147-149}\text{Sm}$ déterminées par TIMS b) $^{147-149}\text{Sm-EDTA}$ calculées sur la base des données TIMS avec la méthode de convolution de Yergey [16]

Comme discuté dans le chapitre IV, avec des abondances relatives de 7,6% et 6% respectivement, les ions à m/z 436 et m/z 438 sont peu abondants et fortement impactés par les contributions isotopiques des éléments H, C, N et O. En effet, les abondances des isotopes principaux du ^{148}Sm et du ^{150}Sm associés à ces rapports m/z sont respectivement de 2,7% et 1,3%. Comme en infusion directe, la mesure de la composition isotopique du $^{147-149}\text{Sm}$ permettra à la fois de valider les méthodes de mesures développées en ligne, et également de déterminer les limites d'application des méthodes de mesures pour des isotopes de faible abondance fortement impactés par les contributions isotopiques des éléments H, C, N et O.

Trois répliques de mesure de l'échantillon enrichi, $^{147-149}\text{Sm-EDTA}$, ont été réalisées. Pour chaque d'entre elle, l'échantillon $^{147-149}\text{Sm-EDTA}$ a été encadré par l'analyse d'un standard isotopique de $^{\text{nat}}\text{Sm-EDTA}$, préparé strictement dans les mêmes conditions (Annexe 1 partie 3). Afin d'obtenir des réponses optimales en ICPMS-Q sans changer de mode détection, les solutions de $^{\text{nat}}\text{Sm-EDTA}$ et de $^{147-149}\text{Sm-EDTA}$ ont été ajustées respectivement à des concentrations de $1,2 \times 10^{-4} \text{ mol.L}^{-1}$ et $5 \times 10^{-5} \text{ mol.L}^{-1}$. À noter que le débit de HNO_3 2% a été augmenté à $0,2 \text{ mL.min}^{-1}$ en lien avec un changement de la chambre de mélange pour cette série de mesures (Annexe 1 partie 4.4). Les résultats seront présentés avec l'isotope le plus abondant comme isotope de référence, à savoir à m/z 147 pour le Sm et à m/z 435 pour le $[\text{Sm-EDTA}]$.

III.1.2.1. Mesures de la composition isotopique du $^{147-149}\text{Sm}$ à partir des données acquises en ICPMS-Q

Les rapports isotopiques du Sm ont été déterminés à l'aide des trois méthodes de traitement des signaux transitoires présentées précédemment, puis ont été corrigés du biais de masse. Les justesses entre les rapports isotopiques du Sm corrigés et les rapports isotopiques déterminés

par TIMS, les répétabilités, les justesses et les incertitudes de mesures ($k=2$) sont reportées dans le Tableau V- 6.

Tableau V- 6 : Répétabilités, justesses et incertitudes de mesures à $k=2$ ($n=3$) des rapports isotopiques du $^{147-149}\text{Sm}$ obtenus à partir du profil d'éluion acquis avec l'ICPMS-Q suivant les différentes méthodes de traitement des signaux transitoires

| Rapports isotopiques du $^{147-149}\text{Sm}$ | | | | | |
|---|-----------------------------------|-----------------------------------|-----------------------------------|-----------------------------------|-----------------------------------|
| Méthode des pentes | $^{148}\text{Sm}/^{147}\text{Sm}$ | $^{149}\text{Sm}/^{147}\text{Sm}$ | $^{150}\text{Sm}/^{147}\text{Sm}$ | $^{152}\text{Sm}/^{147}\text{Sm}$ | $^{154}\text{Sm}/^{147}\text{Sm}$ |
| Répétabilité (%) | 0,5 | 0,7 | 0,5 | 0,6 | 5,1 |
| Justesse (%) | 0,6 | 0,3 | 0,6 | 6,2 | 10,4 |
| Incertitude (%) | 1,3 | 1,0 | 1,3 | 12 | 21 |
| Point par point | $^{148}\text{Sm}/^{147}\text{Sm}$ | $^{149}\text{Sm}/^{147}\text{Sm}$ | $^{150}\text{Sm}/^{147}\text{Sm}$ | $^{152}\text{Sm}/^{147}\text{Sm}$ | $^{154}\text{Sm}/^{147}\text{Sm}$ |
| Répétabilité (%) | 0,7 | 0,7 | 0,4 | 1,4 | 13,0 |
| Justesse (%) | 1,5 | 0,1 | 1,9 | 14,5 | 50,9 |
| Incertitude (%) | 3,0 | 0,7 | 3,9 | 29 | 103 |
| Aire de pic 95% | $^{148}\text{Sm}/^{147}\text{Sm}$ | $^{149}\text{Sm}/^{147}\text{Sm}$ | $^{150}\text{Sm}/^{147}\text{Sm}$ | $^{152}\text{Sm}/^{147}\text{Sm}$ | $^{154}\text{Sm}/^{147}\text{Sm}$ |
| Répétabilité (%) | 0,3 | 0,4 | 0,4 | 0,9 | 8,8 |
| Justesse (%) | 1,1 | 0,3 | 1,4 | 10,8 | 33,4 |
| Incertitude (%) | 2,3 | 0,7 | 2,9 | 21,5 | 68 |

La méthode permettant d'obtenir les meilleures incertitudes de mesures des rapports isotopiques du Sm est la méthode des pentes avec une incertitude de mesure maximale de 1,3% pour les rapports isotopiques $^{148}\text{Sm}/^{147}\text{Sm}$, $^{149}\text{Sm}/^{147}\text{Sm}$, $^{150}\text{Sm}/^{147}\text{Sm}$. Toutefois, les méthodes point par point à 95% et aire de pics à 95% permettent d'obtenir des incertitudes de mesures inférieures à 1% pour le rapport $^{148}\text{Sm}/^{150}\text{Sm}$, isotopes les plus abondants. Avec les trois méthodes, les incertitudes de mesures des rapports $^{152}\text{Sm}/^{147}\text{Sm}$ et $^{154}\text{Sm}/^{147}\text{Sm}$ sont supérieures 10%, en raison de la très faible abondance des isotopes ^{152}Sm et ^{154}Sm ($< 1\%$). Pour l'ensemble des rapports comportant des isotopes d'abondance supérieure à 1%, $^{148}\text{Sm}/^{147}\text{Sm}$, $^{149}\text{Sm}/^{147}\text{Sm}$, $^{150}\text{Sm}/^{147}\text{Sm}$, les incertitudes ($k=2$, $n=3$) de mesures sont inférieures à 4% avec les trois méthodes de traitement.

Les méthodes de mesures de compositions isotopiques du Sm par ICPMS-Q à partir du pic d'éluion chromatographique du Sm complexé à l'EDTA sont donc validées en ICPMS.

III.1.2.2. Mesures de la composition isotopique du $^{147-149}\text{Sm}$ à partir des données acquises en ESIMS-QqQ

Les rapports d'abondance du Sm complexé à l'EDTA ont été déterminés à l'aide des trois méthodes de traitement à partir des signaux transitoires acquis par ESIMS-QqQ en mode MS. Les écarts théoriques E_{th} obtenus pour les standards $^{nat}\text{Sm-EDTA}$ et l'échantillon $^{147-149}\text{Sm-}$

EDTA, ont été calculés et sont présentés dans le Tableau V- 7 pour la méthode des pentes, dans le Tableau V- 8 pour la méthode aire de pic à 95% et dans le Tableau IV-9 pour la méthode point par point à 95%.

Tableau V- 7 : Ecarts E_{th} (%) obtenus entre les rapports d'abondances théoriques et expérimentaux du Sm complexé, pour le standard $^{nat}Sm-EDTA$ et l'échantillon $^{147-149}Sm-EDTA$ avec la méthode des pentes

| Méthodes des pentes - rapports d'abondances du Sm-EDTA | | | | | | |
|--|---------|-------------|-------------|-------------|--------------|---------|
| | 432/435 | 436/435 | 437/435 | 438/435 | 440/435 | 442/435 |
| Standard- réplique 1 | 0,0 | -0,1 | 1,6 | 0,5 | -0,7 | -4,4 |
| Enrichi - réplique 1 | | -2,9 | -1,3 | -4,6 | -18,3 | |
| Standard - réplique 2 | -2,0 | -2,1 | 0,0 | -0,6 | -4,5 | -5,7 |
| Enrichi - réplique 2 | | -4,8 | 0,1 | -5,3 | -10,8 | |
| Standard - réplique 3 | -0,1 | 0,7 | 1,2 | -1,2 | -2,6 | -5,9 |
| Enrichi - réplique 3 | | -2,1 | -1,2 | -4,4 | -10,6 | |
| Standard - réplique 4 | -1,7 | -0,5 | -0,3 | -2,6 | -3,1 | -6,5 |

Tableau V- 8 : Ecarts E_{th} (%) obtenus entre les rapports d'abondances théoriques et expérimentaux du Sm complexé, pour le standard $^{nat}Sm-EDTA$ et l'échantillon $^{147-149}Sm-EDTA$ avec la méthode aire de pic 95%

| Méthode aire de pic 95% - rapports d'abonnces du Sm-EDTA | | | | | | |
|--|---------|-------------|-------------|-------------|--------------|---------|
| [Sm-EDTA] | 432/435 | 436/435 | 437/435 | 438/435 | 440/435 | 442/435 |
| Standard- réplique 1 | -0,2 | 0,3 | 1,6 | 0,1 | 0,1 | -3,7 |
| Enrichi - réplique 1 | | -3,0 | -1,1 | -4,0 | -25,3 | |
| Standard - réplique 2 | -2,3 | -2,1 | -0,2 | -0,5 | -4,3 | -5,8 |
| Enrichi - réplique 2 | | -5,6 | 0,3 | -4,9 | -19,1 | |
| Standard - réplique 3 | 0,1 | 0,9 | 1,6 | -0,3 | -1,9 | -5,5 |
| Enrichi - réplique 3 | | -3,4 | -1,1 | -5,6 | -12,7 | |
| Standard - réplique 4 | -1,5 | -0,4 | 0,1 | -2,8 | -2,9 | -6,5 |

Tableau V- 9 : Ecarts E_{th} (%) obtenus entre les rapports d'abondances théoriques et expérimentaux du Sm complexé, pour le standard $^{nat}Sm-EDTA$ et l'échantillon $^{147-149}Sm-EDTA$ avec la méthode point par point

| Méthode point par point 95%- rapports d'abondances du Sm-EDTA | | | | | | |
|---|---------|-------------|-------------|--------------|--------------|---------|
| [Sm-EDTA] | 432/435 | 436/435 | 437/435 | 438/435 | 440/435 | 442/435 |
| Standard- réplique 1 | -2,1 | -0,5 | 1,0 | 0,7 | 0,9 | -2,2 |
| Enrichi - réplique 1 | | -4,3 | -0,3 | -3,5 | -45,2 | |
| Standard - réplique | -2,8 | -2,3 | -0,1 | -0,8 | -4,1 | -5,2 |
| Enrichi - réplique 2 | | -7,4 | 1,2 | -5,6 | -45,4 | |
| Standard - réplique | -1,6 | 0,9 | 2,5 | 1,5 | -0,6 | -5,0 |
| Enrichi - réplique 3 | | -8,4 | -1,0 | -11,2 | -21,9 | |
| Standard - réplique | 0,7 | 0,6 | 1,9 | -2,3 | -1,3 | -5,2 |

Les valeurs des écarts théoriques E_{th} des standards étant majoritairement négatifs, il n'y a donc pas d'interférences aux rapports m/z du complexe. Par conséquent, les écarts théoriques de l'échantillon enrichi ne nécessitent pas d'être corrigés avec ceux des standards. De même que

dans le paragraphe III.1.1.2, les écarts théoriques pour le standard sont inférieurs à 3% hormis pour le rapport $^{442}\text{Sm-EDTA}/^{435}\text{Sm-EDTA}$, dont la valeur est comprise entre 2% et 7%, en valeur absolue. L'origine de l'écart observé pour le rapport $^{442}\text{Sm-EDTA}/^{435}\text{Sm-EDTA}$ sera investiguée ultérieurement.

Concernant l'échantillon enrichi, l'écart théorique est de l'ordre de 1% pour le rapport majoritaire $^{437}\text{Sm-EDTA}/^{435}\text{Sm-EDTA}$. Pour les rapports d'abondances $^{436}\text{Sm-EDTA}/^{435}\text{Sm-EDTA}$ et $^{438}\text{Sm-EDTA}/^{435}\text{Sm-EDTA}$, les écarts théoriques E_{th} sont compris entre 2 et 6% avec la méthode des pentes et aire de pic à 95% et entre 3 et 12% avec la méthode point par point à 95%. En raison de la très faible abondance des ions à m/z 440, les écarts théoriques sont de l'ordre de 25%. Les compositions isotopiques du Sm non complexé dans l'échantillon enrichi $^{147-149}\text{Sm-EDTA}$ ont été calculées à partir des rapports d'abondances de l'espèce et déconvolués pour les trois répliques avec les trois méthodes de traitement du signal présentées précédemment. Les justesses, les répétabilités et les incertitudes de mesures ($k=2$) obtenues sont présentées dans le Tableau V- 10.

Tableau V- 10 : Répétabilités, justesses et incertitudes de mesures à $k=2$ ($n=3$) des rapports isotopiques du $^{147-149}\text{Sm}$ après déconvolution obtenus à partir du profil d'élution acquis avec l'ESIMS-QqQ, suivant les différentes méthodes de traitement des signaux transitoires

| Rapports isotopiques du $^{147-149}\text{Sm}$ | | | | |
|---|-----------------------------------|-----------------------------------|-----------------------------------|-----------------------------------|
| Méthode des pentes | $^{148}\text{Sm}/^{147}\text{Sm}$ | $^{149}\text{Sm}/^{147}\text{Sm}$ | $^{150}\text{Sm}/^{147}\text{Sm}$ | $^{152}\text{Sm}/^{147}\text{Sm}$ |
| Répétabilité (%) | 10 | 1,6 | 15 | 13 |
| Justesse (%) | -11 | -0,8 | -22 | -15 |
| Incertitude (%) | 24 | 2,3 | 47 | 33 |
| Point par point 95% | $^{148}\text{Sm}/^{147}\text{Sm}$ | $^{149}\text{Sm}/^{147}\text{Sm}$ | $^{150}\text{Sm}/^{147}\text{Sm}$ | $^{152}\text{Sm}/^{147}\text{Sm}$ |
| Répétabilité (%) | 18 | 2,2 | 60 | 63 |
| Justesse (%) | -22 | 0,1 | -36 | -44 |
| Incertitude (%) | 47 | 2,3 | 94 | - |
| Aire de pic 95% | $^{148}\text{Sm}/^{147}\text{Sm}$ | $^{149}\text{Sm}/^{147}\text{Sm}$ | $^{150}\text{Sm}/^{147}\text{Sm}$ | $^{152}\text{Sm}/^{147}\text{Sm}$ |
| Répétabilité (%) | 10 | 1,8 | 15 | -128 |
| Justesse (%) | -13 | -0,6 | -23 | -108 |
| Incertitude (%) | 28 | 2,1 | 49 | - |

Quelle que soit la méthode de traitement utilisée, l'incertitude de mesure du rapport isotopique majoritaire $^{149}\text{Sm}/^{147}\text{Sm}$ est de l'ordre de 2%. En revanche, pour les isotopes peu abondants ($< 3\%$), les justesses et répétabilités des rapports isotopiques sont supérieures à 10%. Ces résultats peuvent être expliqués par les faibles intensités des signaux mesurés. En effet, les valeurs maximales des apex de pic d'élutions de 67000 coups pour l'isotope ^{148}Sm (mesuré à

m/z 436) et de 58 000 coups pour l'isotope du ^{150}Sm (mesuré à m/z 438) semblent insuffisantes pour l'obtention de mesures exploitables. De plus, nous pouvons souligner que les justesses de ces rapports isotopiques mineurs ne sont pas identiques aux écarts théoriques obtenus pour le $^{147-149}\text{Sm}$ complexé à l'EDTA. Ceci peut provenir de la déconvolution par l'effet de la propagation des erreurs et du fort impact des contributions isotopiques des éléments H, C, N et O de rapports m/z 435 et m/z 437 combinées aux isotopes majoritaires du Sm enrichi.

Les différentes expériences menées avec l'échantillon enrichi ont permis de démontrer le potentiel de l'HILIC-ESIMS-QqQ pour la détermination des compositions isotopiques d'éléments d'isotopie naturelle ou non naturelle à partir d'un signal transitoire. De plus, elles ont permis de valider les approches développées en couplage simultané avec le $^{\text{nat}}\text{Sm}$ -EDTA et de déterminer les performances du couplage HILIC-ESIMS-QqQ pour les mesures de rapports isotopiques.

III.2. Méthodes de quantification par couplage simultané HILIC-ESIMS-QqQ/ICPMS-Q

L'objectif de cette partie est de développer et de comparer les performances de méthodes de quantification de Ln complexés à l'EDTA et contenu dans les complexes, par couplage simultané HILIC-ESIMS-QqQ/ICPMS-Q. Celles-ci seront à terme mises en œuvre pour les études de spéciation de radioéléments dans des échantillons réels et pourront également être appliquées en fonction des besoins requis en termes d'incertitudes de mesures et de la quantité d'échantillon disponibles.

La première partie de ce travail a consisté à réaliser une quantification par étalonnage externe en ligne à l'aide d'un échantillon modèle $^{\text{nat}}\text{Sm}$ -EDTA. Les performances de cette méthode d'étalonnage seront ensuite utilisées comme référence pour les premiers essais de quantification par les méthodes de dilution isotopique, susceptibles de procurer de meilleures incertitudes de mesures. Dans ce cadre, la faisabilité de l'approche par dilution isotopique spécifique a pu être démontrée dans le cas d'un échantillon modèle simple $^{\text{nat}}\text{Sm}$ -EDTA. Les essais de mesures par dilution isotopique non spécifique, non intégrés à ce manuscrit, seront réalisés prochainement.

III.2.1. Quantification par étalonnage externe en couplage simultané HILIC-ESIMS-QqQ/ICPMS-Q

La méthode de quantification par étalonnage externe a été mise en œuvre pour doser le $^{\text{nat}}\text{Sm}$ -EDTA en couplage simultané HILIC-ESIMS-QqQ/ICPMS-Q, avec les paramètres

d'acquisition indiqués dans la partie II. Ces premiers essais ont été réalisés sur la base des précédents travaux [3].

Dans ce travail, cinq niveaux de concentrations en Sm-EDTA ont été sélectionnés de $5 \times 10^{-5} \text{ mol.L}^{-1}$ à $1,75 \times 10^{-4} \text{ mol.L}^{-1}$, afin de déterminer les performances de cette méthode de quantification en termes d'incertitudes de mesures. Pour chaque étalon de Sm-EDTA, l'aire du pic d'éluion a été calculée pour l'espèce mesurée en ESIMS-QqQ, et pour l'ensemble des rapports m/z et en ICPMS-Q, pour l'isotope le plus abondant du Sm, m/z 152. L'aire a ensuite été portée en fonction de sa concentration (Figure V- 5).

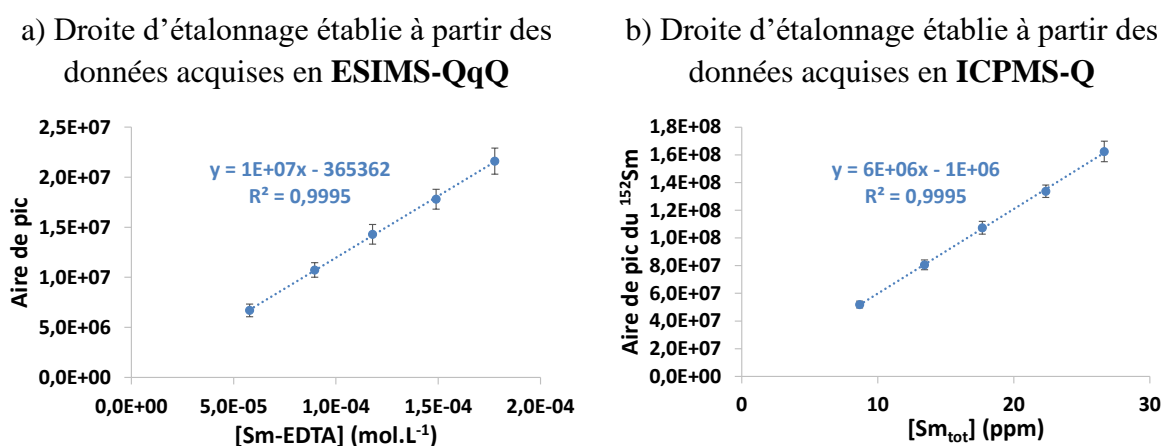


Figure V- 5 : Droites d'étalonnage établies par couplage en ESIMS-QqQ et ICPMS-Q

Les deux droites d'étalonnages réalisées en ESIMS et ICPMS présentent des coefficients de détermination r^2 de 0,9995 et des répétabilités inférieures à 5% pour chaque étalon. Pour être plus spécifique, le mode SRM aurait pu être utilisé, mais le mode SIM a été sélectionné afin d'observer l'intégrité du massif isotopique du complexe de Ln.

Pour évaluer les performances des deux spectromètres de masse en aval d'une séparation chromatographique, la répétabilité, la justesse et les incertitudes de mesure ont été déterminées avec un échantillon de $^{nat}\text{Sm-EDTA}$ à une concentration de $1,2 \times 10^{-4} \text{ mol.L}^{-1}$, situé au milieu de la gamme de linéarité. Trois répliques ont été effectuées. La justesse entre la concentration déterminée avec la droite d'étalonnage et la concentration présente dans l'échantillon, a été évaluée avec l'équation V-4 :

$$\text{Justesse (\%)} = \frac{C_{\text{mes}} - C_{\text{th}}}{C_{\text{th}}} \times 100 \quad (\text{Eq. V- 4})$$

Avec : C_{mes} : concentration déterminée avec la droite d'étalonnage et C_{th} : concentration théorique, présente dans l'échantillon. Celle-ci a été calculée à partir des masses pesées.

La répétabilité a été déterminée à partir de l'écart-type des aires de pic mesurées (n=3) pour cet échantillon avec l'équation IV-3 et l'incertitude de mesure avec l'équation IV-8. La moyenne des résultats obtenus est présentée dans le Tableau V- 11 :

Tableau V- 11 : Récapitulatif des justesses, des répétabilités, et des incertitudes de mesures (k=2, n=3) obtenus par étalonnage externe en HILIC-ESIMS-QqQ/ICPMS-Q

| | ICPMS-Q | ESIMS-QqQ |
|------------------------|-----------------|-----------------|
| Justesse (%) | < 1% | < 1,5% |
| Répétabilité (%) | $2\sigma < 1\%$ | $2\sigma < 4\%$ |
| Incertitudes (%) (k=2) | $\approx 3\%$ | $\approx 5\%$ |

Les incertitudes quadratiques de mesures sont de l'ordre de 3% à partir des signaux transitoires acquis en ICPMS-Q et de l'ordre de 5% pour des signaux transitoires acquis en ESIMS-QqQ à k=2. En HILIC-ESIMS-QqQ, les incertitudes de mesures ont été améliorées par rapport aux précédents travaux menés au laboratoire, par l'utilisation du mode SIM, qui est plus sensible et spécifique. En effet, les justesses obtenues pour le complexe Sm-EDTA étaient de l'ordre de 10% dans les précédents travaux menés au laboratoire [3].

Les justesses en ICPMS-Q ont quant-à-elle été améliorées dans ce travail par la mesure du débit de HNO₃ 2% en continu réalisée à l'aide d'un débitmètre, ce qui a permis de corriger en temps réel le facteur de dilution de l'échantillon. Les répétabilités obtenues étaient de l'ordre de 1% et les justesses de l'ordre de 4% [3].

III.2.2. Quantification par la méthode de la dilution isotopique en couplage simultané HILIC-ESIMS-QqQ/ICPMS-Q

La méthode de quantification par dilution isotopique est l'une des méthodes de référence, de par ses qualités métrologiques, pour la quantification d'un élément ou d'une molécule présent(e) dans un échantillon. Étant considérée comme la méthode permettant d'obtenir les meilleures incertitudes de mesures, elle a été mise en œuvre dans cette partie avec le dispositif HILIC-ESIMS-QqQ/ICPMS-Q en laboratoire conventionnel.

Comme indiqué dans le chapitre I, le principe de la dilution isotopique consiste à ajouter dans l'échantillon à doser une quantité de connue de traceur (ou une espèce marquée dans le cas des études de spéciation), contenant le même élément chimique que l'élément à quantifier, mais de composition isotopique différente (Figure V- 6).

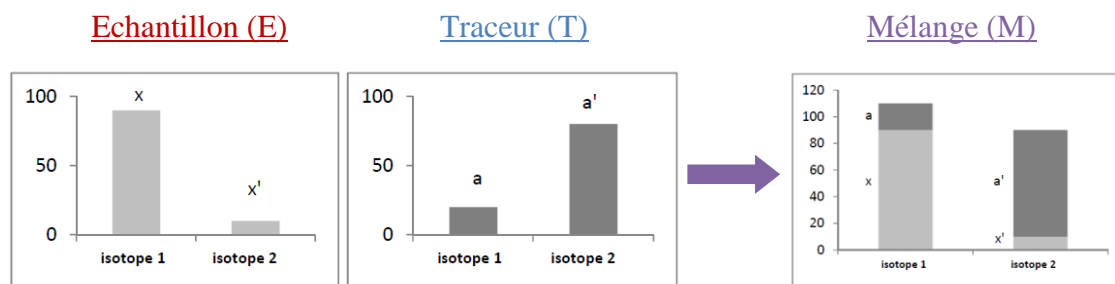


Figure V- 6 : Représentation schématique du principe de la dilution isotopique [17]

Dans l'échantillon, l'isotope 1 de l'élément ou de l'espèce doit de préférence présenter une abondance importante, et être appauvrie dans le traceur. À l'inverse, l'isotope 2 sélectionné comme traceur doit être enrichi dans ce dernier, et présenter une faible abondance dans l'échantillon. Des isotopes non interférés sont généralement sélectionnés afin d'éviter les biais analytiques.

L'équation générale de la dilution isotopique simple est [4] :

$$C_E = C_T \times \frac{m_T}{m_E} \times \frac{M_E}{M_T} \times \frac{A_T^2}{A_E^1} \times \left(\frac{R_M - R_T}{1 - R_M R_E} \right) \quad (\text{Eq. V- 5})$$

Avec : C_E : concentration de l'élément dans l'échantillon, C_T : concentration de l'élément dans le traceur, m_T : masse du traceur, m_E : masse de l'échantillon, M_E : masse molaire de l'élément dans le mélange, M_T : masse molaire de l'élément dans le traceur, A_T^2 : abondance de l'isotope 2 dans le traceur, A_E^1 : abondance de l'isotope 1 dans l'échantillon, R_M : rapport isotopique de l'élément dans le mélange, R_T : rapport isotopique de l'élément dans le traceur et R_E : rapport isotopique de l'élément dans l'échantillon.

Dans cette équation, toutes les données sont connues ou mesurées, excepté le rapport isotopique R_M , correspondant au rapport isotopique des isotopes 1 et 2 mesuré dans le mélange échantillon-traceur.

Afin de minimiser les incertitudes sur la mesure du rapport isotopique de l'élément dans le mélange R_M , un rapport R_M proche de 1 a été sélectionné pour nos essais de dilution isotopique. Dans le cas des études de spéciation, lors d'un traçage dit « spécifique », le traceur (espèce d'intérêt isotopiquement marquée) est ajouté en amont de la séparation chromatographique. Cette méthode permet donc de s'affranchir du rendement de purification ou d'éventuelles pertes dès lors que l'homogénéisation du mélange échantillon-traceur est effectuée.

Cette approche nécessite cependant de connaître au préalable l'ensemble des espèces d'intérêt à quantifier dans l'échantillon et de disposer ou de synthétiser des espèces isotopiquement marquées associées.

La dilution isotopique non spécifique implique l'ajout du traceur en aval de la séparation chromatographique avec la plupart du temps un isotope de l'élément d'intérêt enrichi. Ce mode de traçage est utilisé lorsque les espèces marquées ne sont pas connues ou pas disponibles. Cependant, le mélange échantillon-traceur étant effectué après la séparation chromatographique, toute perte d'échantillon en amont du mélange ne pourra être corrigée.

Dans ce travail, des premiers essais de faisabilités ont été réalisés par dilution isotopique spécifique pour une seule espèce, le Sm-EDTA, en HILIC-ESIMS-QqQ/ICPMS-Q (Figure V-7). L'ajout du traceur, ici du $^{149}\text{Sm-EDTA}$ a donc été réalisé en amont de la séparation chromatographique.

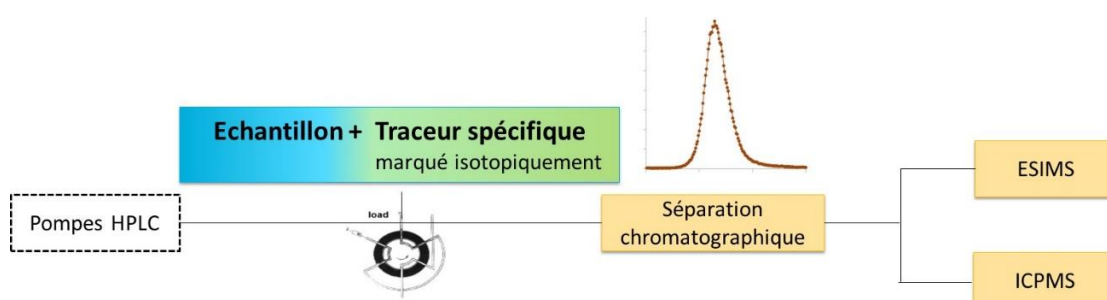


Figure V-7 : Schéma de la dilution isotopique spécifique en HILIC-ESIMS-QqQ/ICPMS-Q (Adapté de [17])

Pour quantifier le complexe $^{\text{nat}}\text{Sm-EDTA}$ présent dans notre échantillon, l'isotope ^{152}Sm le plus abondant du $^{\text{nat}}\text{Sm}$ (26,75%), a été sélectionné comme isotope de référence (isotope 1). L'isotope 2 (isotope traceur) sélectionné est le ^{149}Sm , isotope peu abondant et non interféré avec le Nd, en prévision d'essais avec plusieurs complexes. De plus, un traceur simple ^{149}Sm qualifié en isotope et en concentration par dilution isotopique inverse par TIMS avec du $^{\text{nat}}\text{Sm}$ certifié NIST a été préparé au laboratoire.

Le Sm d'isotope naturelle (NIST) et le Sm d'isotope enrichie ont été d'abord été complexés à l'EDTA de manière indépendante. La préparation des échantillons est décrite en Annexe 1 partie 3. Les masses à prélever des solutions de $^{149}\text{Sm-EDTA}$ et de $^{\text{nat}}\text{Sm-EDTA}$ ont été calculées à partir de l'équation V-7 pour obtenir un mélange $^{149}\text{Sm-EDTA} - ^{\text{nat}}\text{Sm-EDTA}$, présentant un rapport isotopique $^{149}\text{Sm}/^{152}\text{Sm}$ proche de 1.

Les abondances théoriques attendues du Sm contenu dans le mélange échantillon-traceur en ICPMS sont présentées en Figure V- 8a pour un rapport R_M égal à 1. Les abondances du Sm complexé contenu dans ce même mélange, calculées avec la méthode de convolution de Yergey sont présentées en Figure V- 8b [16].

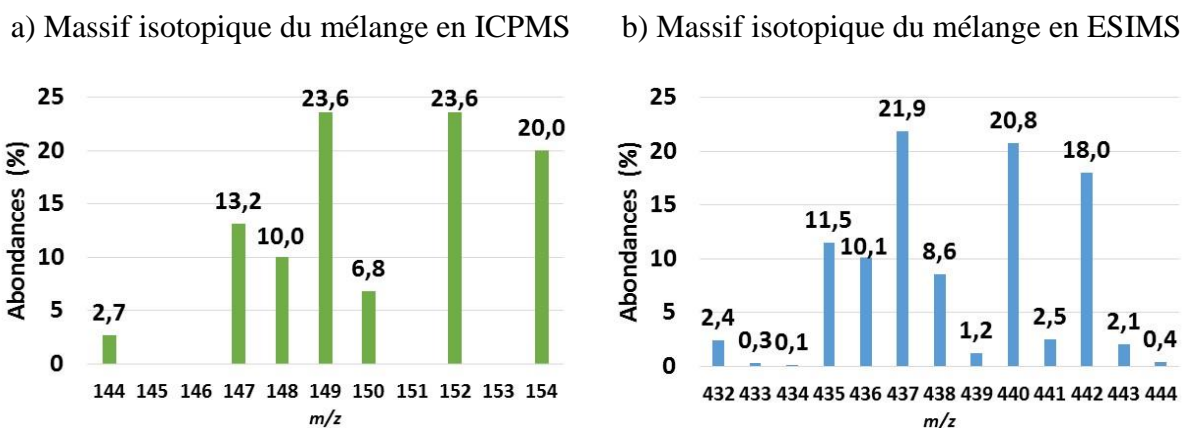


Figure V- 8 : Massifs isotopiques théoriques du mélange $^{149}\text{Sm-EDTA} - ^{\text{nat}}\text{Sm-EDTA}$

La Figure V- 8 montre que la convolution a peu d'impact sur la valeur des rapports de mélange à mesurer $^{149}\text{Sm}/^{152}\text{Sm}$ et $^{437}\text{Sm-EDTA}/^{440}\text{Sm-EDTA}$.

En pratique, deux mélanges $^{149}\text{Sm-EDTA} - ^{\text{nat}}\text{Sm-EDTA}$ ont été préparés avec des concentrations finales en Sm de l'ordre de $10^{-4} \text{ mol.L}^{-1}$. Cette concentration permettra d'obtenir des intensités optimales à la fois en ICPMS et par rapport au domaine de linéarité de l'ESIMS-QqQ pour les deux isotopes du Sm d'intérêt dans le mélange.

En complément de ces deux mélanges, un standard isotopique $^{\text{nat}}\text{Sm-EDTA}$ a été préparé de manière strictement analogue aux deux mélanges afin de corriger le rapport isotopique du Sm R_M mesuré dans les mélanges échantillon-traceur du biais de masse en ICPMS et d'éventuels biais mesurés en ESIMS.

III.2.2.1. Détermination de la concentration du Sm-EDTA et Sm par dilution isotopique à partir des données acquises en ESIMS-QqQ

La dilution isotopique spécifique est mise en œuvre en ESIMS pour déterminer les concentrations d'espèces, mais à notre connaissance n'a jamais été réalisée pour déterminer la concentration d'un élément par LC-ESIMS.

Pour déterminer la concentration du complexe Sm-EDTA et la concentration du Sm par dilution isotopique spécifique, les deux mélanges préparés ont été analysés avec le couplage simultané HILIC-ESIMS-QqQ/ICPMS-Q. Neuf répliques de mesures ont été réalisées, cinq pour le premier mélange traceur et quatre pour le second mélange traceur. Pour chaque réplique, le mélange échantillon-traceur a été encadré par un standard isotopique de $^{\text{nat}}\text{Sm-EDTA}$ pour corriger le biais de masse en ICPMS, les éventuelles interférences en ESIMS et vérifier les performances des spectromètres de masse pour la détermination de la composition isotopique du $^{\text{nat}}\text{Sm}$ non complexé.

Afin de simplifier la présentation des résultats, seules les données obtenues après traitement des signaux transitoires par la méthode des pentes seront présentées. Les résultats obtenus par les méthodes aire de pic ou point par point sont comparables.

III.2.2.1.1. Détermination de la concentration du Sm-EDTA par dilution isotopique à partir des données acquises en ESIMS-QqQ

La concentration du Sm-EDTA dans l'échantillon a été calculée pour chaque réplique avec l'Eq. V-5. Les valeurs obtenues sont présentées dans le Tableau V- 12. Un filtre à 2σ a été appliqué sur les neuf répliques afin d'éliminer d'éventuelles valeurs aberrantes. La concentration moyenne, la répétabilité, la justesse et les incertitudes quadratiques de mesures ont été calculées sur l'ensemble des répliques à l'exception des valeurs aberrantes.

Tableau V- 12 : Concentration du ^{152}Sm -EDTA déterminée par dilution isotopique spécifique à partir du profil d'élution acquis en ESIMS-QqQ, avec les justesses, répétabilités et incertitudes de mesures quadratiques ($k=2$)

| | | Mélange 1 | Mélange 2 |
|---------------------------------------|--------------------------------|-----------------|------------|
| | Concentration théorique | 1222 ppm | |
| Méthodes des Pentes | Concentration mesurée | 1104,8 ppm | 1093,3 ppm |
| | | 1232,0 ppm | 1213,9 ppm |
| | | 1155,5 ppm | 1137,8 ppm |
| | | 1164,4 ppm | 1154,5 ppm |
| | | 1147,9 ppm | - |
| | Concentration moyenne | 1156 ppm | |
| | Répétabilité (%) ($k=2$) | 7,8 | |
| | Justesse (%) | -5,4 | |
| Incertitudes de mesures (%) ($k=2$) | 13 | | |

Les incertitudes de mesures sur la concentration du complexe Sm-EDTA sont de l'ordre de 13% ($k=2$, $n=9$) avec l'ESIMS-QqQ, avec une répétabilité de l'ordre de 8% et une justesse de l'ordre de 5%. La correction effectuée par la méthode de l'encadrement par un standard externe a permis de corriger le rapport d'abondance du Sm dans le mélange, mais n'a permis d'obtenir des incertitudes inférieures à 10% sur les concentrations. Par conséquent, il sera nécessaire d'investiguer sur la nature et la variabilité de ces interférence afin d'améliorer les incertitudes de mesures de concentration d'espèces par cette approche en couplage avec l'ESIMS-QqQ.

III.2.2.1.2. Détermination de la concentration du Sm par dilution isotopique à partir des données acquises en ESIMS-QqQ

Le rapport d'abondance $^{437}\text{Sm-EDTA}/^{440}\text{Sm-EDTA}$ calculé avec la méthode des pentes a ensuite été déconvolué avec la méthode développée dans le chapitre IV afin d'obtenir le rapport

de mélange $^{149}\text{Sm}/^{152}\text{Sm}$ non complexé d'intérêt. La concentration en $^{\text{nat}}\text{Sm}$ initialement présente dans l'échantillon a ensuite été déterminée avec l'équation Eq. V-5. Les valeurs de concentration du Sm dans l'échantillon obtenues pour les neuf répliques sont présentées dans le Tableau V- 13 :

Tableau V- 13 : Concentration du $^{\text{nat}}\text{Sm}$ déterminée par dilution isotopique spécifique à partir du profil d'élution acquis en ESIMS-QqQ, avec les justesses, répétabilités et incertitudes de mesures quadratiques ($k=2$)

| | | Mélange 1 | Mélange 2 |
|---------------------------------------|--------------------------------|--------------------------|--------------------------|
| | Concentration théorique | 420,3 ppm | |
| Méthode des Pentés | Concentration mesurée | 387,5 (aberrante) | 384,6 (aberrante) |
| | | 431,9 ppm | 425,0 ppm |
| | | 405,4 ppm | 398,7 ppm |
| | | 407,7 ppm | 404,1 ppm |
| | | 400,9 ppm | |
| | Concentration moyenne | 410,5 ppm | |
| | Répétabilité (%) ($k=2$) | 6,2 | |
| | Justesse (%) | 2,3 | |
| Incertitudes de mesures (%) ($k=2$) | 7,8 | | |

L'incertitude de mesures sur la concentration de Sm est ici de l'ordre de 8% ($k=2$, $n=7$). Ces résultats démontrent que la dilution isotopique spécifique par couplage avec l'ESIMS-QqQ permet d'obtenir la concentration de l'élément non complexé, avec des incertitudes de mesures inférieures à 10%. En revanche, les incertitudes de mesures obtenues lors de ces premiers essais par dilution isotopique spécifique sont plus élevées par comparaison à celles obtenues avec la méthode classique de quantification par étalonnage externe.

Afin de déterminer les principales sources d'incertitudes lors de ces mesures par dilution isotopique spécifique, la méthode de propagation de Kragten a été mise en œuvre [18]. Les principales sources d'incertitudes sont représentées en Figure V- 9 dans le cas du Sm non complexé. Des résultats équivalents ont été obtenus dans le cas du Sm complexé.

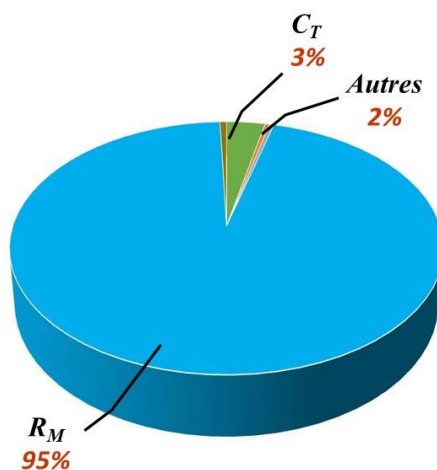


Figure V- 9 : Sources d'incertitudes lors de la mesure de la concentration Sm à partir des profils d'éluion acquis par ESIMS-QqQ, avec la méthode de la dilution isotopique spécifique

La principale source d'incertitudes est dans ce cas la mesure du rapport isotopique dans le mélange qui représente environ 95% de l'incertitude mesurée. L'incertitude de mesure plus élevée qu'en étalonnage externe peut être expliquée par les instabilités observées lors de ces essais. Lors de l'exploitation des résultats, il a été observé que des interférences aux rapports masse/charge du complexe Sm-EDTA étaient variables dans les standards isotopiques $^{nat}\text{Sm-EDTA}$, probablement dues à la présence de nitrates résiduels provenant de la matrice. Ces résultats peuvent être probablement être expliqués par la propagation des incertitudes lors de la déconvolution des spectres de masse.

La stabilisation des mesures sur le rapport d'abondance du complexe Sm-EDTA dans le mélange sera donc la principale voie d'amélioration des incertitudes dans cette configuration. Des incertitudes de mesures pour le rapport isotopique $^{149}\text{Sm}/^{152}\text{Sm}$ de l'ordre de 2% sont attendues comme lors de la mesure du rapport isotopique $^{149}\text{Sm}/^{147}\text{Sm}$ avec l'échantillon enrichi $^{147-149}\text{Sm-EDTA}$ par couplage simultané HILIC-ESIMS/ICPMS.

III.2.2.2. Détermination de la concentration du Sm par dilution isotopique à partir des données acquises en ICPMS-Q

Les données acquises simultanément avec l'ICPMS-Q, lors de ces premiers essais en dilution isotopique spécifique permettent de déterminer la concentration du Sm non complexé. Dans cette configuration, les standards encadrants ont été employés pour corriger le biais de masse à l'aide de la méthode de l'encadrement associée à une loi exponentielle, comme présenté précédemment pour la détermination de la caractérisation isotopique. Afin de simplifier la présentation des résultats, seules les données obtenues après traitement des signaux transitoires

par la méthode des pentes pour le rapport de mélange $^{149}\text{Sm}/^{152}\text{Sm}$, seront présentées dans cette partie. Les résultats obtenus par les méthodes aire de pic ou point par point donnent des résultats comparables.

La concentration du ^{nat}Sm initialement présente dans l'échantillon a ensuite été déterminée avec l'équation de la dilution isotopique (Eq. V-5). Les concentrations obtenues pour chaque réplique sont reportées dans le Tableau V- 14. Sur les neuf répliques, un filtre à 2σ a été réalisé afin d'éliminer d'éventuelles valeurs aberrantes. La concentration moyenne, la répétabilité, la justesse et les incertitudes quadratiques de mesures ont été calculées sur l'ensemble des répliques à l'exception des valeurs aberrantes.

Tableau V- 14 : Concentration du ^{nat}Sm déterminée par dilution isotopique spécifique à partir du profil d'élution acquis en ICPMS-Q, avec les justesses, répétabilités et incertitudes de mesures quadratiques ($k=2$)

| | | Mélange 1 | Mélange 2 |
|----------------------------|---------------------------------------|--------------------------|-----------|
| | Concentration théorique | 420,3 ppm | |
| Méthodes des Pentes | Concentration mesurée | 420,0 ppm | 420,3 ppm |
| | | 436,1 (aberrante) | 428,8 ppm |
| | | 412,9 ppm | 419,4 ppm |
| | | 421,2 ppm | 423,6 ppm |
| | | 420,2 ppm | - |
| | Concentration moyenne | 420,8 ppm | |
| | Répétabilité (%) ($k=2$) | 2,1 | |
| | Justesse (%) | 0,1 | |
| | Incertitudes de mesures (%) ($k=2$) | 2,1 | |

Les incertitudes de mesures obtenues par dilution isotopique spécifique avec l'ICPMS-Q sont de 2% à $k=2$. On note donc une légère amélioration des incertitudes de mesures par comparaison avec la méthode de quantification par étalonnage externe, ce qui est en accord avec les performances attendues des différentes méthodes de quantification [4]. L'ordre de grandeur obtenu est également en accord avec celui obtenu généralement en ICPMS par dilution isotopique inorganique [11, 19].

Afin de déterminer les principales sources d'incertitudes lors de ces mesures par dilution isotopique spécifique par couplage avec l'ICPMS-Q, la méthode de propagation de Kragten a été mise en œuvre [18]. Les principales sources d'incertitudes sont représentées en Figure V- 10 :

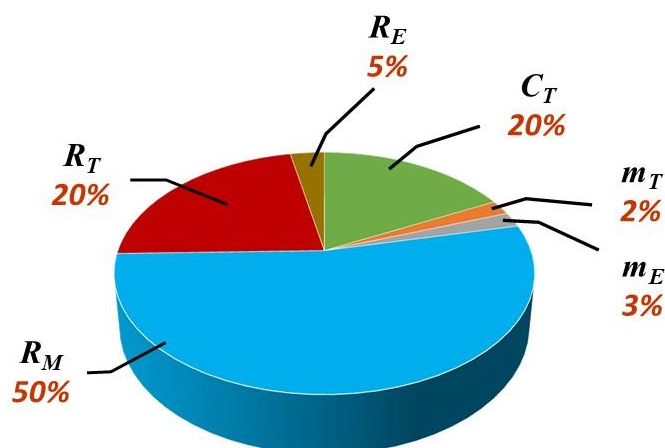


Figure V- 10 : Sources d'incertitudes lors de la mesure de la concentration Sm à partir des profils d'éluion acquis par ICPMS-Q avec la méthode de la dilution isotopique spécifique

Cette figure montre que la mesure du rapport isotopique du Sm dans le mélange représente ici aussi la source principale d'incertitude, avec environ 50% de l'incertitude mesurée. La concentration du Sm dans le traceur et la mesure du rapport isotopique $^{149}\text{Sm}/^{152}\text{Sm}$ dans le traceur sont ensuite les deux autres principales sources d'incertitudes, avec environ 20% chacune. Les autres composantes, représentant moins de 10% de l'incertitude globale.

On note ici que les principales sources d'incertitudes sont celles couramment observées en dilution isotopique simple inorganique [11]. Une voie d'amélioration envisageable est d'utiliser un ICPMS-MC, qui permettra de réaliser des mesures des rapports isotopiques du Sm dans le mélange $^{\text{nat}}\text{Sm-EDTA} - ^{149}\text{Sm-EDTA}$, avec une précision supérieure. Ces essais seront réalisés à terme avec le dispositif HILIC-ESIMS-LIT/ICPMS-MC implanté en zone contrôlée.

IV. Conclusion

Dans ce chapitre, des méthodes d'analyse de spéciation exhaustive de Ln par couplage simultané HILIC-ESIMS-QqQ/ICPMS-Q ont été développées. Les espèces préalablement séparées par HILIC, ont été identifiées avec l'ESIMS en mode MS par la mesure du rapport m/z et du massif isotopique du Ln contenu dans le complexe Ln-acide polyaminocarboxylique. Les méthodes de caractérisation isotopique de Ln mises au point en infusion directe avec l'ESIMS-QqQ ont été appliquées en ligne, dans un premier temps avec le $^{\text{nat}}\text{Sm-EDTA}$. La composition isotopique du Sm non complexé a été déterminée à partir des données acquises en ESIMS après application des méthodes de traitement du signal transitoire, employées couramment en LC-ICPMS et de la méthode de déconvolution développée dans ce travail. Des incertitudes de mesures de l'ordre de 5% en couplage avec l'ESIMS-QqQ ont été obtenues et de l'ordre de 2% avec l'ICPMS-Q. Les incertitudes de mesures obtenues avec l'ESIMS-QqQ par couplage

simultané permettent d'obtenir des incertitudes du même ordre de grandeur qu'en infusion directe.

Les méthodes de mesures de composition isotopique ont ensuite été validées par l'analyse d'un traceur double $^{147-149}\text{Sm-EDTA}$, avec des incertitudes de mesures inférieures à 3% ($k=2$) pour le rapport $^{149}\text{Sm}/^{147}\text{Sm-EDTA}$ en ESIMS-QqQ et inférieures à 3% en ICPMS-Q pour les rapports isotopiques, dont les isotopes ont une abondance supérieure à 1%. La potentialité du couplage HILIC-ESIMS-QqQ a donc été démontrée pour la caractérisation isotopique.

Des méthodes de quantification du $^{\text{nat}}\text{Sm-EDTA}$ et du $^{\text{nat}}\text{Sm}$ non complexé ont ensuite été développées en couplage simultané HILIC-ESIMS-QqQ/ICPMS-Q. Des incertitudes de mesures sur la concentration du $^{\text{nat}}\text{Sm}$ de l'ordre de 3% ($k=2$) avec l'ICPMS-Q ont été obtenues par étalonnage externe, et de l'ordre de 5% ($k=2$) avec l'ESIMS-QqQ sur la concentration du $^{\text{nat}}\text{Sm}$ complexé.

Les premiers essais de quantification par dilution isotopique spécifique ont ensuite été réalisés avec un traceur simple enrichi en $^{149}\text{Sm-EDTA}$. L'isotopie et la concentration du traceur isotopique ^{149}Sm ont été déterminées au préalable au laboratoire par le biais de mesures TIMS et par la méthode de dilution isotopique inverse. Avec les premières mesures réalisées par couplage simultané HILIC-ESIMS-QqQ/ICPMS-Q, les concentrations du $^{\text{nat}}\text{Sm}$ complexé et non complexé contenu dans l'échantillon témoin ont été déterminées à partir des profils d'éluion acquis par ESIMS. Des incertitudes de mesures de l'ordre de 13% ($k=2$) ont été obtenues pour la concentration du Sm complexé et de l'ordre de 8% ($k=2$) pour la concentration du Sm non complexé. Les incertitudes de mesures proviennent majoritairement de la mesure du rapport isotopique de l'élément dans le mélange traceur-échantillon. La forte variabilité observée sur ce rapport peut être expliquée par la présence de nitrates résiduels dans l'échantillon et fera l'objet d'investigations ultérieures.

En ICPMS-Q, les incertitudes de mesures sur la concentration du Sm non complexé sur la même série de mesure sont de l'ordre de 2% ($k=2$). Des essais supplémentaires doivent être réalisés pour valider cette première série de mesures. Cependant, ces résultats démontrent la faisabilité de la mesure de concentration du Sm par dilution isotopique spécifique par couplage simultané HILIC-ESIMS-QqQ/ICPMS-Q.

Des prochains travaux seront réalisés pour mettre en œuvre la méthode de la dilution isotopique non spécifique (Figure V- 11).

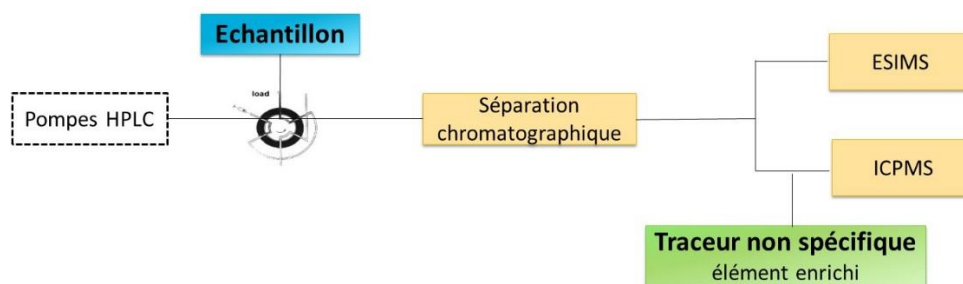


Figure V- 11 : Schéma de la dilution isotopique non spécifique en HILIC-ESIMS/ICPMS (Adapté de [17])

Cette méthode de quantification permettra de s'affranchir de l'utilisation de traceurs spécifiques, de réduire leur consommation.

Les méthodes de dilution isotopique développées seront ensuite appliquées pour quantifier plusieurs complexes métalliques dans un même échantillon. Dans le cas de la dilution isotopique spécifique, des modifications de répartition d'espèces peuvent être observées, modifiant la spéciation. Des méthodes de calculs, appelées déconvolution, permettent de corriger ces inter-conversions et de déterminer la concentration exacte de chaque espèce dans un échantillon [20].

Dans de travaux ultérieurs, les méthodes développées seront appliquées avec le couplage HILIC-ESIMS-LIT/ICPMS-MC en zone contrôlée, pour l'analyse de radioéléments. Les performances du couplage HILIC-ESIMS-LIT pour la caractérisation élémentaire et isotopique d'éléments seront évaluées. Au vu des résultats obtenus, en infusion directe dans le chapitre IV, les performances du couplage HILIC-ESIMS-LIT pourrait permettre d'obtenir de meilleurs résultats que le couplage simultané implanté au laboratoire conventionnel.

Références :

- [1] Xie D., Mattusch J., Wennrich R., "Separation of Organoarsenicals by Means of Zwitterionic Hydrophilic Interaction Chromatography (ZIC-HILIC) and Parallel ICP-MS/ESI-MS Detection," *Engineering in Life Sciences*, 8, (2008), 582-588.
- [2] Xie D., Mattusch J., Wennrich R., "Retention of arsenic species on zwitterionic stationary phase in hydrophilic interaction chromatography," *J Sep Sci*, 33, (2010), 817-825.
- [3] Beuvier L., "Développement d'une méthode de séparation chromatographique couplée aux spectrométries de masse à source d'ionisation électrospray (ESI-MS) et à source plasma à couplage inductif (ICP-MS) : application à l'analyse de spéciation des lanthanides," Université Pierre et Marie Curie-Paris VI, (2015), 1-243.
- [4] Rodríguez-González P., Marchante-Gayón J. M., García Alonso J. I., Sanz-Medel A., "Isotope dilution analysis for elemental speciation: a tutorial review," *Spectrochimica Acta Part B: Atomic Spectroscopy*, 60, (2005), 151-207.
- [5] Rodríguez-González P., Epov V. N., Pecheyran C., Amouroux D., Donard O. F., "Species-specific stable isotope analysis by the hyphenation of chromatographic techniques with MC-ICPMS," *Mass Spectrom. Rev.*, 31, (2012), 504-521.
- [6] Leclercq A., Nonell A., Todoli Torro J. L., Bresson C., Vio L., Vercouter T., *et al.*, "Introduction of organic/hydro-organic matrices in inductively coupled plasma optical emission spectrometry and mass spectrometry: a tutorial review. Part I. Theoretical considerations," *Anal. Chim. Acta.*, 885, (2015), 33-56.
- [7] Leclercq A., Nonell A., Todoli Torro J. L., Bresson C., Vio L., Vercouter T., *et al.*, "Introduction of organic/hydro-organic matrices in inductively coupled plasma optical emission spectrometry and mass spectrometry: A tutorial review. Part II. Practical considerations," *Anal. Chim. Acta.*, 885, (2015), 57-91.
- [8] Guéguen F., Isnard H., Nonell A., Vio L., Vercouter T., Chartier F., "Neodymium isotope ratio measurements by LC-MC-ICPMS for nuclear applications: investigation of isotopic fractionation and mass bias correction," *J. Anal. At. Spectrom.*, 30, (2015), 443-452.
- [9] Epov V. N., Beraïl S., Jimenez-Moreno M., Perrot V., Pecheyran C., Amouroux D., *et al.*, "Approach to measure isotopic ratios in species using multicollector-ICPMS coupled with chromatography," *Anal. Chem.*, 82, (2010), 5652-5662.
- [10] Fietzke J., Liebetau V., Günther D., Gürs K., Hametner K., Zumholz K., *et al.*, "An alternative data acquisition and evaluation strategy for improved isotope ratio precision using LA-MC-ICP-MS applied to stable and radiogenic strontium isotopes in carbonates," *J. Anal. At. Spectrom.*, 23, (2008), 955-961.
- [11] Alonso J. I. G., Rodriguez-González P., *Isotope dilution mass spectrometry*: Royal Society of Chemistry, (2013), 1-453.
- [12] Halliday A. N., Lee D. C., Christensen J. N., Walder A. J., Freedman P. A., Jones C. E., *et al.*, "Recent developments in inductively coupled plasma magnetic sector multiple collector mass spectrometry," *Int. J. Mass Spectrom. Ion Process.*, 146, (1995), 21-33.
- [13] Taylor P. D., de Bièvre P., Walder A. J., Entwistle A., "Validation of the analytical linearity and mass discrimination correction model exhibited by a multiple collector inductively coupled plasma mass spectrometer by means of a set of synthetic uranium isotope mixtures," *Journal of Analytical Atomic Spectrometry*, 10, (1995), 395-398.
- [14] Viers J., Oliva P., Nonell A., Gélabert A., Sonke J. E., Freydier R., *et al.*, "Evidence of Zn isotopic fractionation in a soil-plant system of a pristine tropical watershed (Nsimi, Cameroon)," *Chemical geology*, 239, (2007), 124-137.

- [15] Dubois J., Retali G., Cesario J., "Isotopic analysis of rare earth elements by total vaporization of samples in thermal ionization mass spectrometry," *Int. J. Mass spectrom. Ion Processes*, 120, (1992), 163-177.
- [16] Yergey J. A., "A general approach to calculating isotopic distributions for mass spectrometry," *Int. J. Mass spectrom. and Ion Physics*, 52, (1983), 337-349.
- [17] Chartier F., Isnard H., Nonell A., "Analyses isotopiques par spectrométrie de masse-Méthodes et applications," *Techniques de l'Ingénieur*, 3740, (2014), 1-28.
- [18] Kragten J., "Tutorial review. Calculating standard deviations and confidence intervals with a universally applicable spreadsheet technique," *Analyst*, 119, (1994), 2161-2165.
- [19] Telgmann L., Wehe C. A., Birka M., Kunnemeyer J., Nowak, S., Sperling, M., *et al.*, "Speciation and isotope dilution analysis of gadolinium-based contrast agents in wastewater," *Environ Sci Technol*, 46, (2012), 11929-11936.
- [20] Rodríguez-González P., Rodríguez-Cea A., García Alonso J. I., Sanz-Medel A., "Species-Specific Isotope Dilution Analysis and Isotope Pattern Deconvolution for Butyltin Compounds Metabolism Investigations," *Anal. Chem.*, 77, (2005), 7724-7734.

Conclusion générale et perspectives

Les travaux présentés dans ce mémoire ont été consacrés au développement de méthodes d'analyse de spéciation exhaustive de Ln contenus dans des échantillons modèles représentatifs des phases aqueuses de traitements de combustibles nucléaires usés. Ces informations de spéciation exhaustive sont essentielles pour le dimensionnement des procédés et l'amélioration de la compréhension des mécanismes fondamentaux les régissant. La stratégie analytique initialement adoptée est de mettre en œuvre le couplage simultané entre la chromatographie HILIC et deux techniques de spectrométries de masse : l'ESIMS d'une part, qui permet d'accéder à la caractérisation structurale des espèces chimiques et l'ICPMS d'autre part, qui permet d'accéder à la caractérisation isotopique et élémentaire des éléments au sein des espèces chimiques.

Une partie de ce travail a consisté à réduire les volumes d'effluents chromatographiques tout en conservant des séparations efficaces et rapides, en complément du gain évident engendré par le couplage simultané aux deux instruments. Deux approches chromatographiques dites « éco-responsables », consistant à (1) réduire les paramètres géométriques de colonnes remplies de particules entièrement poreuses (FPP : Fully Porous Particles) et conjointement la taille des particules à un diamètre inférieur à 2 μm et 2) utiliser des colonnes remplies de particules superficiellement poreuses (SPP : Superficially Porous Particles), ont été mises en œuvre avec trois échantillons modèles. Les conditions permettant d'obtenir le meilleur compromis entre nombre de plateaux théoriques, résolution, temps d'analyse et volumes d'effluents, ont permis de sélectionner la colonne remplie de FPP de dimensions 100 \times 2,1 mm ; 1,7 μm . Ce travail a permis de réaliser est la première comparaison des FPP et SPP en mode HILIC pour des études de spéciation. Ce travail a fait l'objet d'une publication acceptée dans le journal RSC Advances en 2018 [1].

En fonction de la composition des échantillons et des niveaux d'incertitudes requis, le couplage HILIC-ESIMS peut s'avérer suffisant pour des études de spéciation exhaustive de Ln, moyennant la possibilité de réaliser des mesures de compositions isotopiques d'éléments par ESIMS. La caractérisation isotopique d'éléments contenus dans des espèces chimiques par ESIMS est très peu documentée dans la littérature. La potentialité de cette technique pour ce type d'analyse a par conséquent été étudiée. La seconde partie de ce travail a donc été dédiée à l'évaluation et à la validation des performances de deux ESIMS, l'un équipé d'un triple quadripôle (ESIMS-QqQ) et l'autre d'une trappe ionique linéaire (ESIMS-LIT), pour la mesure de compositions isotopiques des Ln contenus dans les complexes Ln-acides polyaminocarboxyliques. S'agissant de développements complexes et nouveaux, les mesures de rapports d'abondances ont d'abord été réalisées sur la base d'un système simple, le Sm-

EDTA, et sur signal stationnaire en mode MS. Pour obtenir la composition isotopique du Sm non complexé, deux approches ont été développées : (1) la déconvolution des spectres de masse du complexe Sm-EDTA, acquis en mode MS et (2) la fragmentation du complexe par spectrométrie de masse en tandem en mode MS² ou MSⁿ dans le but d'obtenir un produit avec le minimum de contributions isotopiques des éléments H, C, N et O sur la mesure de la composition isotopique du Sm. La première approche a nécessité de développer une méthode de déconvolution des spectres de masse sur la base des méthodes de convolution existantes. À notre connaissance, aucune méthode de ce type n'existe dans la littérature pour obtenir la composition isotopique d'un élément contenu dans une espèce. Pour les deux ESIMS, l'approche de déconvolution des spectres de masse a été retenue pour la mesure de composition isotopique du Sm non complexé pour ses performances. En effet, cette méthode a conduit à des incertitudes de mesures inférieures à 2,5% avec l'ESIMS-LIT en mode full scan, permettant des analyses non ciblées et à 7% avec l'ESIMS-QqQ en mode SIM, utilisé dans le cas d'analyses ciblées. L'approche développée a ensuite été validée par l'analyse d'un échantillon Sm-EDTA d'isotopie non naturelle, enrichi en ¹⁴⁷Sm et ¹⁴⁹Sm.

Les méthodes de mesures de la composition isotopique du Sm complexé développées en infusion directe ont été étendues au couplage simultané HILIC-ESIMS-QqQ/ICPMS-Q, en laboratoire conventionnel. Des méthodes de traitements des signaux transitoires ont été appliquées aux profils d'élution chromatographiques acquis simultanément par ESIMS-QqQ et par ICPMS-Q, afin de déterminer les rapports d'abondances du complexe en ESIMS et les rapports isotopiques du Ln en ICPMS. Après déconvolution des abondances obtenues en ESIMS, des incertitudes de mesures sur la composition isotopique du ^{nat}Sm de l'ordre de 5% ont été obtenues. En ICPMS, les incertitudes sont inférieures à 2%. Les méthodes de mesures ont ensuite été validées sur les deux instruments avec un échantillon contenant du Sm-EDTA d'isotopie non naturelle, enrichi en ¹⁴⁷Sm et ¹⁴⁹Sm, pour lequel des incertitudes du même ordre de grandeur ont été obtenues. Ces études démontrent que la caractérisation isotopique de Ln peut être obtenue en HILIC-ESIMS pour des études de spéciation, avec des incertitudes de l'ordre de quelques %.

Des méthodes de quantification ont également été développées avec le complexe ^{nat}Sm-EDTA par étalonnage externe dans un premier temps, puis par dilution isotopique spécifique en couplage simultané HILIC-ESIMS-QqQ/ICPMS-Q. Les incertitudes de mesures sont de l'ordre de 2% en ICPMS-Q et sont légèrement inférieures à celles obtenues par étalonnage externe (environ 3%). En ESIMS-QqQ, les concentrations du Sm complexé et non complexé ont pu être déterminées, après application des méthodes de traitement de signaux transitoires et de la

méthode de déconvolution développée. Des incertitudes de mesures de l'ordre de 8% pour le Sm non complexé et de l'ordre de 13% pour le Sm complexé ont été obtenues lors de la première session d'essais. Ces incertitudes supérieures à celles obtenues par étalonnage externe (de l'ordre de 5%), sont probablement liées à une instabilité de l'ESIMS-QqQ au cours de cette session analytique, mais démontre la faisabilité d'une telle approche.

Les perspectives concernant la séparation chromatographique sont de transposer la séparation HILIC en format capillaire, nécessitant la mise au point du couplage d'une nanoLC avec une nano source ESI. Ces travaux ont été initiés au laboratoire et feront l'objet d'une étude. Afin de davantage diminuer l'échelle de la séparation, l'élaboration d'un microsystème séparatif, type laboratoire sur puce, peut être envisagé.

Concernant la caractérisation élémentaire et isotopique d'éléments en ESIMS, des investigations devront être menées afin d'identifier et de corriger les principales sources d'instabilités lors des mesures de rapports d'abondances et de compositions isotopiques.

Des essais complémentaires en dilution isotopique spécifique devront être réalisés sur des échantillons modèles plus représentatifs des échantillons réels, comportant notamment plusieurs complexes Ln-acides polyaminocarboxyliques, afin de déterminer les limites de cette approche, pour laquelle des problématiques d'interconversions d'espèces seront probablement rencontrées.

En complément, la faisabilité et les performances de la quantification par la méthode de dilution isotopique non-spécifique devront être évaluées, notamment dans la perspective de l'analyse d'échantillons complexes pour lesquels des traceurs spécifiques à chaque espèce ne seront pas nécessairement disponibles. Les développements instrumentaux pour mettre en œuvre le couplage simultané HILIC-ESIMS-LIT/ICPMS-MC avec des équipements nucléarisés sont en cours en zone contrôlée. Ainsi, les développements méthodologiques réalisés au cours de ce travail pourront être étendus à l'analyse de spéciation des radioéléments, pour répondre à différents besoins liés au cycle du combustible nucléaire. Ces données de spéciation seront d'un apport significatif, en soutien à la conception de molécules hautement sélectives pour les procédés de traitements, de l'amont à l'aval du cycle du combustible, mais également à l'alimentation de bases de données pour la modélisation et la simulation de procédés. Dans le domaine de la toxicologie nucléaire, l'impact des radionucléides sur l'homme et l'environnement est gouverné par leur spéciation. L'analyse de la spéciation des radionucléides est donc essentielle pour répondre à des questions liées soit à leur toxicité, soit au développement de décorporants hautement sélectifs.

Références :

- [1] Blanchard E., Nonell A., Chartier F., Rincel A., Bresson C., "Evaluation of superficially and fully porous particles for HILIC separation of lanthanide-polyaminocarboxylic species and simultaneous coupling to ESIMS and ICPMS," *RSC Adv.*, 8, (2018), 24760-24772.

Annexes

Annexe 1 : Matériel et méthodes

1. Réactifs

L'acide Diéthylène Triamine Penta Acétique (DTPA) ($C_{14}H_{23}N_3O_{10}$, $M = 393,35 \text{ g.mol}^{-1}$, pureté $> 98 \%$), l'acide Éthylène Diamine Tétra Acétique tétrasodé dihydraté (EDTA) ($C_{10}H_{12}N_2O_8Na_4, 2H_2O$, $M = 416,20 \text{ g.mol}^{-1}$ pureté $> 99,5 \%$) et le toluène (C_7H_8 , $M = 92,14 \text{ g.mol}^{-1}$ pureté $> 99,7 \%$) ont été fournis par Sigma Aldrich (Saint Quentin Fallavier, France). L'acide formique (HCO_2H , $M = 46,03 \text{ g.mol}^{-1}$, qualité Normapur), l'acétate d'ammonium ($CH_3CO_2NH_4$, $M = 77,08 \text{ g.mol}^{-1}$, qualité Normapur), l'acétonitrile (CH_3CN , $M = 41,05 \text{ g.mol}^{-1}$, de qualité LC-MS grade) et l'ammoniaque 25% ont été fournis par VWR Prolabo (Briare-le-Canal, France). Des solutions standards de lanthanides (lanthane (La), cérium (Ce), praséodyme (Pr), néodyme (Nd), samarium (Sm), europium (Eu), gadolinium (Gd), terbium (Tb), dysprosium (Dy), holmium (Ho), erbium (Er), thulium (Tm), ytterbium (Yb) et lutécium (Lu)) certifiées à $1000 \mu\text{g.mL}^{-1}$ en milieu acide nitrique (HNO_3 2% (w/w)) ont été fournies par SPEX CertiPrep (Longjumeau, France). Un traceur double $^{147-149}\text{Sm}$ a été préparé au laboratoire par dissolution de deux poudres enrichies en ^{147}Sm (94,40%) et en ^{149}Sm (95,13%) en milieu nitrique à 14 mol.L^{-1} [1]. Les deux solutions de traceurs ont été mélangées et diluées en milieu aqueux afin d'obtenir un rapport isotopique $^{147}\text{Sm}/^{149}\text{Sm}$ proche de 1 avec une concentration totale en Sm de $8,33 \times 10^{-4} \text{ mol.L}^{-1}$ (125 ppm). La concentration finale de HNO_3 dans la solution du traceur double est de 5 mol.L^{-1} . L'isotopie de ce double traceur a été qualifiée au laboratoire par TIMS [1]. Un traceur simple ^{149}Sm qualifié en isotopie et en concentration par dilution isotopique inverse par TIMS avec du ^{nat}Sm NIST a été préparé au laboratoire. L'eau ultrapure ($18,2 \text{ M}\Omega.\text{cm}$) a été obtenue à partir d'un système de purification : système milliQ (Millipore, Guyancourt, France). Le HNO_3 2% a été préparé à partir d'eau ultrapure et de HNO_3 à 65% de la société Merck (France), qui a été distillé avec un évapoclean provenant de Analab (France).

2. Préparation de la phase mobile

Chaque phase mobile est préparée en mélangeant les proportions appropriées d'acétonitrile et d'eau (v/v) de manière à obtenir les pourcentages de solvant organique et d'eau désirés. Puis, elle est acidifiée avec 0,5% (v/v) d'acide formique. De l'acétate d'ammonium est ensuite ajouté pour atteindre la concentration désirée. Le mélange hydro-organique résultant est placé aux ultrasons et est filtré sur membrane (filtres GH Polypro Hydrophilic polypropylène membrane

47 mm 0,2 μ m 100/PK P/N 66557 Pall Corporation). Un décalage de 0,5 unité de pH est observé entre le pH aqueux et le pH hydro-organique [2]. Le pH de la phase mobile est de 3,8.

3. Préparation des solutions mères et des échantillons

➤ Pour les analyses du chapitre III

Les échantillons modèles utilisés pour réaliser les expériences du chapitre III sont regroupés dans le Tableau 1 :

Tableau 1 : Echantillons modèles utilisés dans le chapitre III

| Echantillon modèle | Proportions | Concentration |
|--------------------|---|---|
| 1 | Ln _T : EDTA : DTPA 2 : 1,75 : 0,75 | [Nd]=[Sm]=10 ⁻⁴ mol.L ⁻¹ |
| 2 | Ln _T : EDTA : DTPA 2 : 1,75 : 0,75 | [Eu]=[Er]=[Gd]=[Nd]=10 ⁻⁴ mol.L ⁻¹ |
| 3 | Ln _T : EDTA 1 : 1,6 | [Ln] _T =5×10 ⁻⁵ mol.L ⁻¹ |

Les solutions mères d'EDTA et de DTPA ont été préparées en dissolvant la masse nécessaire de ligand dans de l'eau ultrapure pour obtenir une concentration de 5×10⁻³ mol.L⁻¹.

Chacune des solutions mères de Ln a été préparée en diluant la solution standard de Ln Spex correspondante (à 1000 μ g.mL⁻¹) dans de l'eau ultrapure pour obtenir une concentration de 5×10⁻³ mol.L⁻¹.

Les échantillons ont été préparés en mélangeant les volumes appropriés de solutions mères de ligands et de Ln pour atteindre les proportions indiquées dans le Tableau 1 et avec une concentration de 1,1×10⁻³ mol.L⁻¹ de chaque Ln pour l'échantillon modèle 1, de 5,6×10⁻⁴ mol.L⁻¹ de chaque Ln pour l'échantillon modèle 2, de 1,4×10⁻⁴ mol.L⁻¹ de chaque Ln pour l'échantillon modèle 3. L'échantillon Gd-DTPA a été préparé avec la proportion suivante Ln : DTPA 1 : 1,2 et avec une concentration de 2,3×10⁻³ mol.L⁻¹ en Ln.

Le pH de ces solutions a ensuite été ajusté à pH=3,2 avec une solution d'ammonique (25%) pour atteindre le pH des phases aqueuses des procédés de traitement de combustibles usés.

Après avoir laissé une heure le(s) Ln en contact avec le(s) ligand(s), les échantillons sont dilués dans la phase mobile pour atteindre une concentration finale de 5×10⁻⁵ mol.L⁻¹ pour chaque Ln pour l'échantillon modèle 3, et une concentration finale de 10⁻⁴ mol.L⁻¹ pour chaque Ln pour les autres échantillons modèles (Tableau 1). Tous les échantillons ont été préparés par pesées.

➤ **Pour les analyses du chapitre IV :**

Les échantillons utilisés pour réaliser les expériences du chapitre IV sont répertoriés en deux catégories :

Préparation des complexes ^{nat}Ln -acides polyaminocarboxyliques :

Les solutions mères d'EDTA ou de DTPA ont été préparées en dissolvant la masse nécessaire de ligand dans de l'eau ultrapure pour obtenir une concentration de $5 \times 10^{-3} \text{ mol.L}^{-1}$.

Chacune des solutions mères de Sm et de Nd a été préparée en diluant la solution standard de Ln Spex correspondante (à $1000 \mu\text{g.mL}^{-1}$) dans de l'eau ultrapure pour obtenir une concentration de $5 \times 10^{-3} \text{ mol.L}^{-1}$.

Les échantillons ont été préparés en mélangeant les volumes appropriés de solutions mères de ligands et de Ln pour atteindre la proportion Ln : ligand 1 : 1,2 et avec une concentration de $2,3 \times 10^{-3} \text{ mol.L}^{-1}$ en Ln. Le pH de ces solutions a ensuite été ajusté à pH=3,2 avec une solution d'ammonique (25%) pour atteindre le pH des phases aqueuses des procédés de traitement de combustibles usés.

Après avoir laissé une heure le Ln en contact avec le ligand, les échantillons sont dilués dans la phase mobile pour atteindre la concentration finale désirée en Ln. Tous les échantillons ont été préparés par pesées.

Préparation du complexe $^{147-149}\text{Sm}$ -EDTA et de son standard ^{nat}Sm -EDTA :

Le traceur $^{147-149}\text{Sm}$ -EDTA a été préparé de la manière suivante :

La solution de traceur $^{147-149}\text{Sm}$ a une concentration de $8,33 \times 10^{-4} \text{ mol.L}^{-1}$ en Sm a été évaporée pour éliminer les nitrates provenant de la matrice d'acide nitrique à une concentration de 5 mol.L^{-1} . L'échantillon a été repris avec de l'acide nitrique 2% pour obtenir une concentration en Sm à $5 \times 10^{-3} \text{ mol.L}^{-1}$ (750 ppm). Une solution d'EDTA à une concentration de $1,76 \times 10^{-3} \text{ mol.L}^{-1}$ a été ajoutée à la solution de traceur pour obtenir la proportion Sm : EDTA de 1 : 1,2 avec une concentration en $^{147-149}\text{Sm}$ de $1,1 \times 10^{-3} \text{ mol.L}^{-1}$. Le pH a ensuite été ajusté à pH=3,2 avec une solution d'ammonique (25%) pour atteindre le pH des phases aqueuses des procédés de traitement de combustibles usés.

Après avoir laissé une heure le $^{147-149}\text{Sm}$ en contact avec l'EDTA, l'échantillon est dilué dans la phase mobile pour atteindre la concentration finale de $10^{-4} \text{ mol.L}^{-1}$ en $^{147-149}\text{Sm}$. L'échantillon a été préparé par pesées. Lors de ces différentes opérations, des pipettes propres, lavées avec du HNO_3 concentré ont été utilisées.

Un standard contenant du $^{nat}\text{Sm-EDTA}$ (de qualité SPEX) à une concentration de $10^{-4} \text{ mol.L}^{-1}$ a été préparé de manière strictement identique à l'échantillon enrichi $^{147-149}\text{Sm-EDTA}$ afin de corriger les éventuelles interférences.

➤ **Pour les analyses du chapitre V :**

Les échantillons utilisés pour réaliser les expériences du chapitre V sont répertoriés en plusieurs catégories :

Préparation du complexe $^{nat}\text{Sm-EDTA}$:

Les solutions mères d'EDTA ont été préparées en dissolvant la masse nécessaire de ligand dans de l'eau ultrapure pour obtenir une concentration de $5 \times 10^{-3} \text{ mol.L}^{-1}$. Chacune des solutions mères de Sm a été préparée en diluant la solution standard de Ln SPEX correspondante (à $1000 \mu\text{g.mL}^{-1}$) dans de l'eau ultrapure pour obtenir une concentration de $5 \times 10^{-3} \text{ mol.L}^{-1}$. Les échantillons ont été préparés en mélangeant les volumes appropriés de solutions mères de ligands et de Sm pour atteindre la proportion Ln : ligand 1 : 1,2 et avec une concentration de $2,3 \times 10^{-3} \text{ mol.L}^{-1}$ en Sm. Le pH a ensuite été ajusté à $\text{pH}=3,2$ avec une solution d'ammoniac (25%). Après avoir laissé une heure le Sm en contact avec le ligand, les échantillons sont dilués dans la phase mobile pour atteindre la concentration finale en Sm de $10^{-4} \text{ mol.L}^{-1}$ et $1,5 \times 10^{-4} \text{ mol.L}^{-1}$ pour les expériences de mesures de compositions isotopiques et de $5,8 \times 10^{-5} \text{ mol.L}^{-1}$, $8,9 \times 10^{-5} \text{ mol.L}^{-1}$, $1,2 \times 10^{-4} \text{ mol.L}^{-1}$, $1,5 \times 10^{-4} \text{ mol.L}^{-1}$ et $1,8 \times 10^{-4} \text{ mol.L}^{-1}$ pour les expériences menées pour la quantification du Sm-EDTA par étalonnage externe. Tous les échantillons ont été préparés par pesées.

Préparation du complexe $^{147-149}\text{Sm-EDTA}$ et de son standard $^{nat}\text{Sm-EDTA}$:

L'échantillon enrichi en $^{147-149}\text{Sm-EDTA}$ avec la proportion Sm : EDTA de 1 : 1,2 et une concentration en $^{147-149}\text{Sm}$ de $1,1 \times 10^{-3} \text{ mol.L}^{-1}$, préparé pour les mesures de compositions isotopiques du Sm en infusion directe dans le chapitre IV a été dilué dans la phase mobile pour obtenir une concentration finale de l'ordre de $5 \times 10^{-5} \text{ mol.L}^{-1}$.

Un standard de $^{nat}\text{Sm-EDTA}$ à une concentration de $10^{-4} \text{ mol.L}^{-1}$, préparé strictement de la même façon que l'échantillon enrichi a permis de corriger les interférences en ESIMS et le biais de masse en ICPMS.

Mélange $^{149}\text{Sm-EDTA}$ - $^{\text{nat}}\text{Sm-EDTA}$:

Concernant les essais de dilution isotopique spécifique, un traceur ^{149}Sm initialement présent à une concentration de $2,2 \times 10^{-3} \text{ mol.L}^{-1}$ (326 ppm) dans une matrice de HNO_3 à 14 mol.L^{-1} a été évaporé et repris avec du HNO_3 2% afin d'obtenir une concentration de $4,3 \times 10^{-4} \text{ mol.L}^{-1}$ (65 ppm). Cette solution a été ajoutée à de l'EDTA pour obtenir des proportions de Sm : EDTA de 1 : 1,2 avec une concentration en Sm de $2,0 \times 10^{-4} \text{ mol.L}^{-1}$ (30 ppm). Cette dernière a ensuite été ajustée à un pH de 3,2 avec une solution d'ammonique (25%).

En parallèle, l'échantillon de $^{\text{nat}}\text{Sm-EDTA}$ a été préparé à partir d'une solution de Sm à 880 ppm, issue d'une dilution de la solution SPEX de Sm à $1000 \mu\text{g.mL}^{-1}$ avec du HNO_3 2% et de l'EDTA. De l'EDTA a été ajouté pour obtenir des proportions de Sm : EDTA de 1 : 1,2 et une concentration de $2,66 \times 10^{-3} \text{ mol.L}^{-1}$ (400 ppm). Cette dernière a ensuite été ajustée à un pH de 3,2 avec une solution d'ammonique (25%).

Deux mélanges traceur-échantillon à savoir $^{149}\text{Sm-EDTA}$ - $^{\text{nat}}\text{Sm-EDTA}$ ont été préparés avec un rapport de mélange proche de 1, dilués dans la phase mobile pour obtenir une concentration de $10^{-4} \text{ mol.L}^{-1}$. Ces deux mélanges ont ensuite été analysés par couplage simultané HILIC-ESIMS/ICPMS, encadré par un standard isotopique de Sm-EDTA à une concentration de $10^{-4} \text{ mol.L}^{-1}$, préparé strictement dans les mêmes conditions.

4. Instrumentations/ Conditions analytiques

4.1. Conditions HILIC

Les séparations ont été réalisées en laboratoire conventionnel avec une chaîne Ultimate 3000 UHPLC⁺ focused (Dionex/ThermoFisher, Courtaboeuf, France), constituée d'un dégazeur, d'une double pompe RS, d'un passeur d'échantillons thermostaté RS, d'un four de colonne thermostaté RS, d'un détecteur UV et d'un système d'acquisition des données (logiciel XCalibur version 2.1.0.1139.).

Les colonnes remplies de FPP ont été achetées chez Waters (Milford, MA, USA) : XBridge Amide ($150 \times 2,1 \text{ mm}$; $3,5 \mu\text{m}$), Acquity BEH amide ($100 \times 2,1 \text{ mm}$, $1,7 \mu\text{m}$ et $100 \times 1,0 \text{ mm}$, $1,7 \mu\text{m}$). Trois colonnes remplies de SPP ont été fournies par Thermo Scientific (Waltham, MA, USA) : deux colonnes Accucore-Amide ($150 \times 2,1 \text{ mm}$, $2,6 \mu\text{m}$ et $100 \times 2,1 \text{ mm}$, $2,6 \mu\text{m}$) et une colonne Accucore-urée ($150 \times 2,1 \text{ mm}$, $2,6 \mu\text{m}$). Une colonne Sunshell HILIC Amide ($100 \times 2,1 \text{ mm}$, $2,6 \mu\text{m}$) remplie de SPP a été achetée chez ChromaNik Technologies (Osaka, Japon). Le temps mort a été déterminé avec du toluène à 254 nm. Les échantillons et la colonne ont été maintenus à une température de 22°C .

Le débit optimal de phase mobile pour la colonne Accucore-amide (150 × 2,1 mm, 2,6 µm) a été déterminé en traçant la courbe de Knox avec des débits de phase mobile variant de 0,035 mL.min⁻¹ à 1,5 mL.min⁻¹ et en injectant 3 µL du complexe Gd-DTPA à une concentration de 10⁻⁴ mol.L⁻¹.

Les chromatogrammes des échantillons modèles 1, 2 et 3 ont été enregistrés avec les conditions chromatographiques indiquées dans le Tableau 2. Ces expériences ont été réalisées en mode isocratique avec une phase mobile composée de 70/30 acétonitrile/eau (v/v) 15 mmol.L⁻¹ d'acétate d'ammonium 0,5% d'acide formique.

Tableau 2 : Conditions chromatographiques avec les différentes colonnes

| Technologie | Colonne (dimensions) | Débit (mL.min ⁻¹) | Volume d'injection (µL) |
|-------------|---|-------------------------------|-------------------------|
| FPP | XBridge Amide (150 × 2,1 mm, 3,5 µm) | 0,15 | 5 |
| FPP | Acquity Amide (100 × 2,1 mm, 1,7 µm) | 0,30 | 3 |
| FPP | Acquity Amide (100 × 1,0 mm, 1,7 µm) | 0,070 | 1 |
| FPP | 2 Acquity Amide en série (100 × 2,1 mm, 1,7 µm) | 0,30 | 3 |
| SPP | Accucore-amide (150 × 2,1 mm, 2,6 µm) | 0,15 | 5 |
| SPP | Accucore-amide (100 × 2,1 mm, 2,6 µm) | 0,15 | 3 |
| SPP | Accucore-urée (100 × 2,1 mm, 2,6 µm) | 0,30 | 5 |
| SPP | Sunshell Amide (100 × 2,1 mm, 2,6 µm) | 0,30 | 3 |

De plus, les échantillons modèles ont été analysés avec la colonne Acquity (100 × 1,0 mm, 1,7 µm) remplie de FPP, à un débit de 0,3 mL.min⁻¹, avec une phase mobile composée de :

- **80/20** acétonitrile/eau (v/v) 15 mmol.L⁻¹ d'acétate d'ammonium 0,5% d'acide formique
- **81/19** acétonitrile /eau (v/v) 15 mmol.L⁻¹ d'acétate d'ammonium 0,5% d'acide formique
- **85/15** acétonitrile /eau (v/v) 15 mmol.L⁻¹ d'acétate d'ammonium 0,5% d'acide formique

Avec la colonne Sunshell HILIC Amide (100 × 2,1 mm, 2,6 µm) remplie de SPP, les échantillons modèles ont été également analysés avec différentes compositions de phase mobile en mode isocratique à un débit de 0,3 mL.min⁻¹ (Tableau 3).

Tableau 3 : Compositions de phase mobile avec la colonne Sunshell HILIC Amide

| Proportion : acétonitrile /eau (v/v) | [Acétate d'ammonium] (mmol.L ⁻¹) | %acide formique (v/v) |
|---|---|--------------------------|
| 10/90 ; 20/80 ; 30/70 ; 40/60 ; 50/50 ; 55/45 ; 60/40 ; 80/20 | 15 | 0,5 |
| 70/30 | 20 | 0,5 |

4.2. ESIMS

L'instrument utilisé en laboratoire conventionnel est un spectromètre de masse TSQ Quantum Ultra™ Triple Stage Quadrupole (Thermo Fisher Scientific, Waltham MA, USA) équipé d'une source d'ionisation H-ESI II et d'un triple quadripôle (ESIMS-QqQ). En zone contrôlée, l'instrument est un spectromètre de masse LTQ VelosPro™ (Thermo Fisher Scientific, Waltham, MA, USA), qui est équipé d'une source d'ionisation H-ESI II et d'une trappe ionique linéaire (ESIMS-LIT). Tous les spectres de masse ont été acquis en mode d'ionisation négatif avec le logiciel XCalibur.

Avant toute analyse en infusion directe ou en HILIC-ESIMS, les paramètres de la source d'ionisation et l'optique ionique ont été optimisés pour chaque composition et débit de phase mobile, afin d'obtenir la meilleure sensibilité et stabilité du signal. Pour ce faire, la position de la sonde, la tension du spray, les débits de gaz séchant et auxiliaire, la température de vaporisation et l'optique ionique ont été optimisés en infusion directe à 10 $\mu\text{L}\cdot\text{min}^{-1}$ et en conditions LC pour un débit supérieur à 50 $\mu\text{L}\cdot\text{min}^{-1}$. De plus, la température du capillaire de transfert, valeur dépendante du débit de la phase mobile, a été fixée en suivant les recommandations du constructeur. L'optimisation du signal en infusion directe consiste à infuser en continu l'échantillon à un débit de 10 $\mu\text{L}\cdot\text{min}^{-1}$ dans la source ESI à l'aide d'un pousse seringue. L'optimisation préalable du signal en conditions LC, consiste à infuser en continu d'une part l'échantillon à un débit de 10 $\mu\text{L}\cdot\text{min}^{-1}$ dans la source ESI à l'aide d'un pousse seringue, et d'autre part de délivrer la phase mobile au débit souhaité avec la pompe de la chaîne chromatographique (Figure 1). Les deux flux sont dirigés dans la source par l'intermédiaire d'une connexion en T.

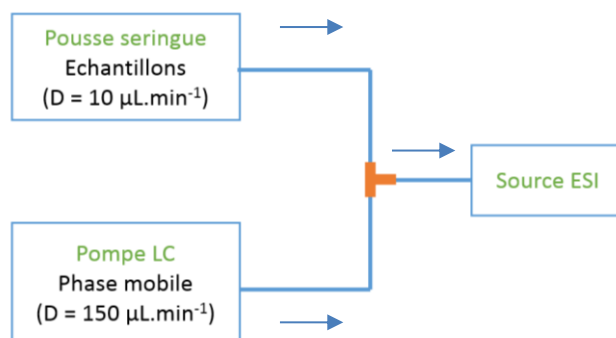


Figure 1 : Présentation du montage de l'optimisation en conditions LC

Pour les échantillons contenant des complexes Ln-EDTA et Ln-DTPA, les paramètres de la source ont été optimisés d'une part pour les complexes Ln-EDTA et d'autre part pour les complexes Ln-DTPA. Avec les deux méthodes d'optimisation des paramètres de la source obtenues, un compromis entre les deux méthodes a été réalisé pour l'analyse des complexes Ln-EDTA et Ln-DTPA, contenus dans un même échantillon.

Les paramètres de la source utilisés en conditions LC sont reportés dans les tableaux 4, 5 et 6.

Paramètres de la source de l'ESIMS-QqQ en conditions LC

➤ Paramètres ESIMS pour un débit de 0,07 mL.min⁻¹

Tableau 4 : Paramètres ESIMS utilisés pour un débit de 0,07 mL.min⁻¹

| Paramètres ESIMS | | Systèmes d'étude | | |
|-----------------------------|---|-----------------------|-----------------------|---------------|
| | | Échantillon 1 | Échantillon 2 | Échantillon 3 |
| Paramètres fixés | Position sonde | B | | |
| | Vis (µm) | 1,75 | | |
| | Q ₁ (u) | 0,5 | | |
| | Temps de scan (s) | 0,5 | | |
| | Température du capillaire de transfert (°C) | 270 | | |
| Paramètres optimisés | Tension du spray (V) | 3500 | | |
| | Température de vaporisation (°C) | 250 | | |
| | Gaz séchant | 10 | | |
| | Gaz auxiliaire | 55 | | |
| | Skimmer offset | 6 | | |
| Types de balayage | Full scan | 200-700 | 200-700 | 200-700 |
| | SIM | 426-446 et 527-547 | 427-463 et 528-564 | 433-459 |

➤ Paramètres ESIMS pour un débit de 0,15 mL.min⁻¹

Tableau 5 : Paramètres ESIMS utilisés pour un débit de 0,15 mL.min⁻¹

| Paramètres ESIMS | | Systèmes d'étude | | |
|-----------------------------|--|-----------------------|-----------------------|---------------|
| | | Échantillon 1 | Échantillon 2 | Échantillon 3 |
| Paramètres fixés | Position sonde | C | | |
| | Vis (µm) | 1,75 | | |
| | Q ₁ (u) | 0,5 | | |
| | Temps de scan (s) | 0,5 | | |
| | Température capillaire de transfert (°C) | 300 | | |
| Paramètres optimisés | Tension du spray (V) | 3500 | 3700 | |
| | Température de vaporisation (°C) | 250 | | |
| | Gaz séchant | 30 | | |
| | Gaz auxiliaire | 45 | 55 | 45 |
| | Skimmer offset | 0 | 1 | 10 |
| Types de balayage | Full scan | 200-700 | 200-700 | 200-700 |
| | SIM | 426-446 et 527-547 | 427-463 et 528-564 | 433-459 |

➤ Paramètres ESIMS pour un débit de 0,3 mL.min⁻¹

Tableau 6 : Paramètres ESIMS utilisés pour un débit de 0,3 mL.min⁻¹

| Paramètres ESIMS | | Systèmes d'étude | | |
|-----------------------------|---|-----------------------|-----------------------|---------------|
| | | Echantillon 1 | Echantillon 2 | Echantillon 3 |
| Paramètres fixés | Position sonde | C | | |
| | Vis (µm) | 1,75 | | |
| | Q ₁ (u) | 0,5 | | |
| | Temps de scan (s) | 0,5 | | |
| | Température du capillaire de transfert (°C) | 360 | | |
| Paramètres optimisés | Tension du spray (V) | 3700 | | |
| | Température de vaporisation (°C) | 350 | | |
| | Gaz séchant | 15 | 30 | 40 |
| | Gaz auxiliaire | 35 | 25 | 5 |
| | Skimmer offset | 1 | 0 | 6 |
| Types de balayage | Full scan | 200-700 | 200-700 | 200-700 |
| | SIM | 426-446 et 527-547 | 427-463 et 528-564 | 433-459 |

4.3. ICPMS

L'instrument utilisé en laboratoire conventionnel est un ICPMS-quadrupolaire XSeries II (Thermo Scientific, Bremen, Allemagne) équipé d'un PC3^X (Elemental Scientific, ESI, Omaha, NE, USA) permettant de refroidir par effet Peltier la chambre de nébulisation.

Pour les différentes expériences menées dans le chapitre V, un débit de 8,2 mL.min⁻¹ d'oxygène, a été introduit dans le plasma afin d'éviter tout dépôt de carbone lié à l'utilisation de solvant organique. L'ICPMS-Q était équipé d'un nébuliseur téflon PFA-ST à 200 µL.min⁻¹ (ES-2040, Elemental Scientific, ESI, Omaha, NE, USA), d'une chambre de nébulisation cyclonique thermostatée à 2°C (ES-3160-1111-23, Elemental Scientific, ESI, Omaha, NE, USA), d'un injecteur de 1 mm (1305750, Thermo Scientific), d'une torche en quartz (1281360, Thermo Scientific) et de cônes échantillonneur et écreteur en platine (3201101 et 3601289, Thermo Scientific). Les données ICPMS ont été acquises avec le logiciel Plasmalab (Thermo Fisher). Les paramètres de la source de l'ICPMS et du système de focalisation des ions ont été optimisés quotidiennement avec une solution de Sm-EDTA à 3,4 ppb en Sm via un pousse seringue.

4.4. Couplage simultané HILIC-ESIMS/ICPMS

Le couplage simultané HILIC-ESIMS-QqQ/ICPMS-Q a été réalisé en laboratoire conventionnel en respectant les contraintes imposées par le dispositif HILIC-ESIMS-LIT/ICPMS-MC implanté en zone contrôlée.

Le couplage simultané initialement mis au point dans de précédents travaux a été utilisé dans le chapitre V pour la caractérisation isotopique du complexe ^{nat}Sm-EDTA et pour la quantification du complexe Sm-EDTA par étalonnage externe [3], représenté en Figure 2.

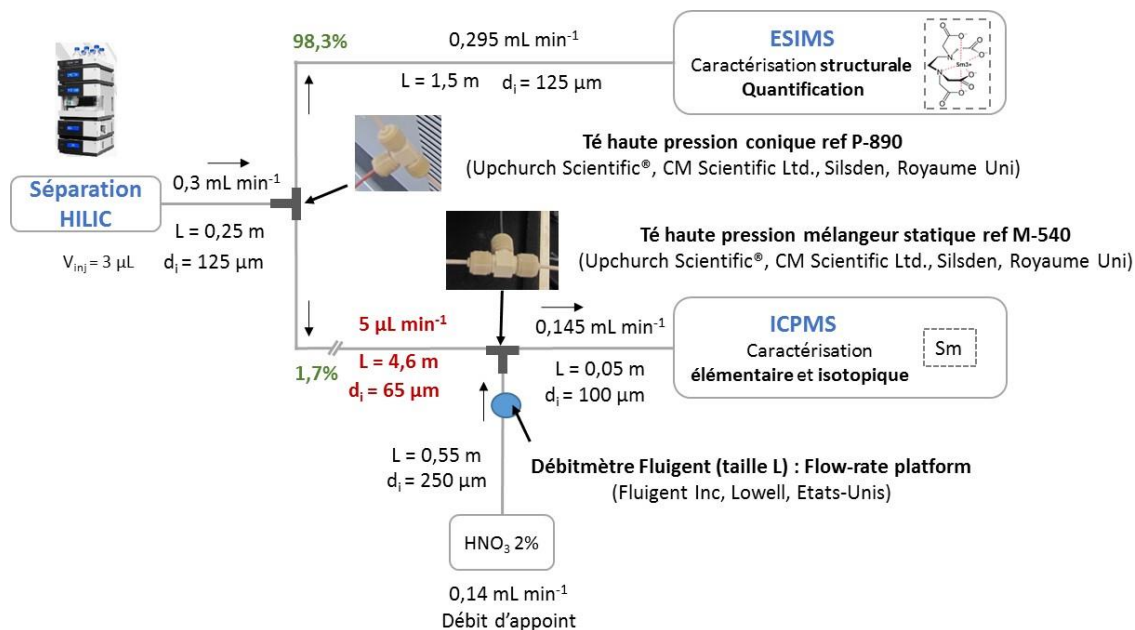


Figure 2 : Représentation schématique du couplage simultané HILIC-ESIMS/ICPMS utilisée pour la caractérisation isotopique du $^{nat}\text{Sm-EDTA}$ et pour la quantification du $^{nat}\text{Sm-EDTA}$ par étalonnage externe (adaptée de [3]).

La mesure du débit de HNO_3 2% a permis notamment de corriger les aires de pics lors de la quantification du complexe Sm-EDTA par étalonnage externe.

Concernant les expériences réalisées pour la caractérisation isotopique du $^{147-149}\text{Sm-EDTA}$ et la dilution isotopique spécifique, le débit de HNO_3 2% a été augmenté à un débit de $0,333 \text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$ afin d'obtenir une réponse en mode impulsion en ICPMS. L'augmentation de ce débit a donc nécessité de réaliser quelques adaptations du dispositif instrumental, notamment par l'utilisation d'un autre té haute pression mélangeur statique et d'augmenter le diamètre interne du tubing situé entre le té et l'ICPMS (Figure 3) :

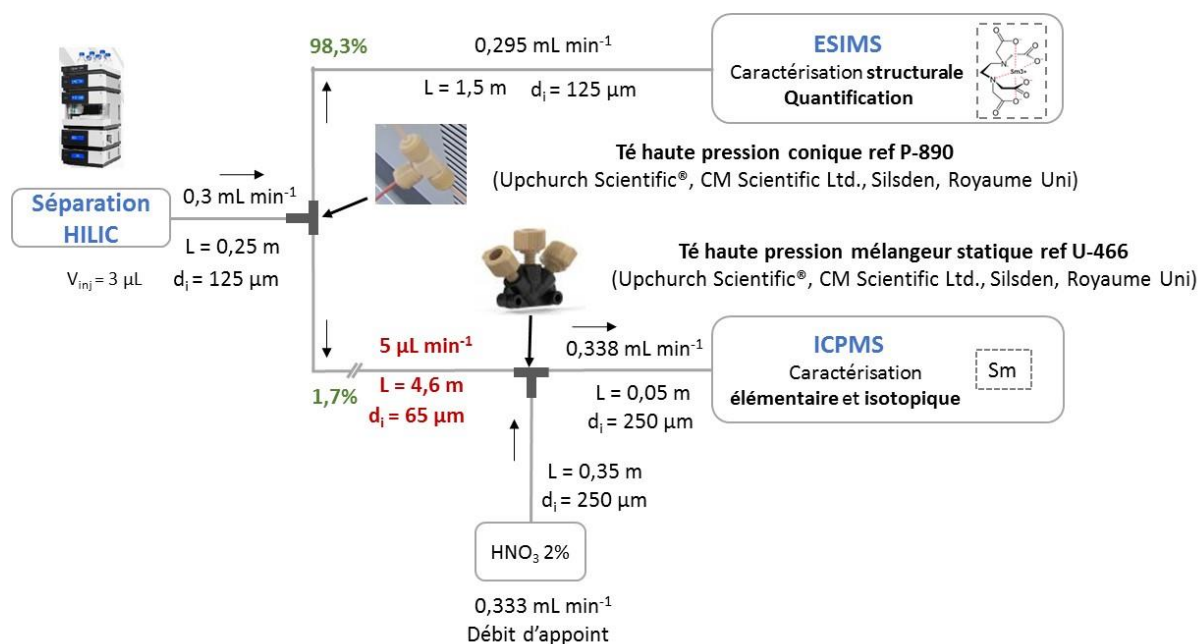


Figure 3 : Représentation schématique du couplage simultané HILIC-ESIMS/ICPMS utilisée pour la détermination de la composition isotopique du $^{147-149}\text{Sm-EDTA}$ et la dilution isotopique spécifique.

Pour les expériences réalisées avec la configuration présentée en Figure 3, la mesure du débit de HNO_3 n'a pas été réalisée pour ces deux types d'expériences en raison de la mesure de rapports isotopiques en ICPMS.

Les différences entre ces deux configurations sont récapitulées dans le Tableau 7 :

Tableau 7 : Différentes configurations du couplage simultané

| Echantillon | Caractérisation isotopique | | Quantification | |
|--|----------------------------------|----------------------------------|---|--|
| | $^{\text{nat}}\text{Sm-EDTA}$ | $^{147-149}\text{Sm-EDTA}$ | $^{\text{nat}}\text{Sm-EDTA}$ (étalonnage externe) | $^{\text{nat}}\text{Sm-EDTA}$ (dilution isotopique) |
| Connectique T | Ref M-540 | Ref U-466 | Ref M-540 | Ref U-466 |
| Débit HNO_3 2% ($\text{mL}\cdot\text{min}^{-1}$) | 0,14 | 0,33 | 0,14 | 0,33 |
| Débitmètre | Taille L | - | Taille L | - |
| Tubing amenant HNO_3 2% | 55 cm \times 250 μm | 35 cm \times 250 μm | 55 cm \times 250 μm | 35 cm \times 250 μm |
| Tubing amenant l'échantillon à l'ICP | 5 cm \times 100 μm | 5 cm \times 250 μm | 5 cm \times 100 μm | 5 cm \times 250 μm |

Annexe 2 : Grandeurs chromatographiques

1. Temps de rétention et temps mort

Le temps de rétention (t_r) correspond au temps nécessaire à l'élution du soluté. Le temps mort (t_0) est le temps associé à un composé non retenu par la phase stationnaire. Pour le déterminer en mode HILIC, des composés non polaires peuvent être injectés tels que du toluène ou du naphthalène.

2. Facteur de rétention

En chromatographie de partage, les séparations sont fondées sur les différences de distributions des espèces entre les phases stationnaire et mobile. Cet équilibre est caractérisé par un facteur de rétention k . Ce dernier est défini comme étant le rapport entre la quantité de matière de soluté dans la phase stationnaire (n_s) et dans la phase mobile (n_M) (Eq. 1) :

$$k = \frac{n_s}{n_M} = \frac{C_s V_s}{C_M V_M} = \frac{K V_s}{V_M} = \frac{K}{\beta} \quad (\text{Eq. 1})$$

Avec C_s : concentration de soluté dans la phase stationnaire (mol.L^{-1}), C_M : concentration de soluté dans la phase mobile (mol.L^{-1}), V_s : volume de phase stationnaire (L), V_M : volume de phase mobile (L), $K = \frac{C_s}{C_M}$: constante de partage et $\beta = \frac{V_M}{V_s}$: rapport de phase.

Cette grandeur permet de caractériser la rétention d'un composé tout en s'affranchissant des paramètres géométriques de la colonne et du débit de la phase mobile. Cependant, elle dépend de la température d'analyse et est invariable pour un système chromatographique donné.

En pratique, k peut être évalué très simplement à partir du temps de rétention du soluté (t_r) et du temps mort (t_0), en appliquant la relation ci-dessous (Eq. 2) :

$$k_i = \frac{t_{r_i} - t_0}{t_0} \quad (\text{Eq. 2})$$

Avec t_{r_i} : temps de rétention du soluté i et t_0 : le temps mort

Lorsque le facteur de rétention est nul, le composé n'est pas retenu par la phase stationnaire. Plus k est grand, plus le composé est retenu par la phase stationnaire.

3. Facteur de sélectivité

Le facteur de séparation encore appelé facteur de sélectivité α permet de caractériser la distance séparant les sommets de deux pics consécutifs des solutés i et j . Il est défini par (Eq. 3) :

$$\alpha = \frac{t_{ri} - t_0}{t_{rj} - t_0} = \frac{k_i}{k_j} \quad (\text{Eq. 3})$$

Avec le soluté i plus retenu que le soluté j, t_{ri} : temps de rétention du soluté i, t_{rj} : temps de rétention du soluté j, t_0 : le temps mort, k_i : le facteur de rétention du soluté i et k_j : le facteur de rétention du soluté j. La sélectivité est toujours supérieure ou égale à 1. Lors d'une co-élution totale, le facteur de sélectivité est de 1.

4. Facteur d'asymétrie

L'asymétrie d'un pic est traduite par le facteur d'asymétrie, mesuré à 10 % de la hauteur du pic (Eq. 4) (Figure 4).

$$As = \frac{b}{a} \quad (\text{Eq. 4})$$

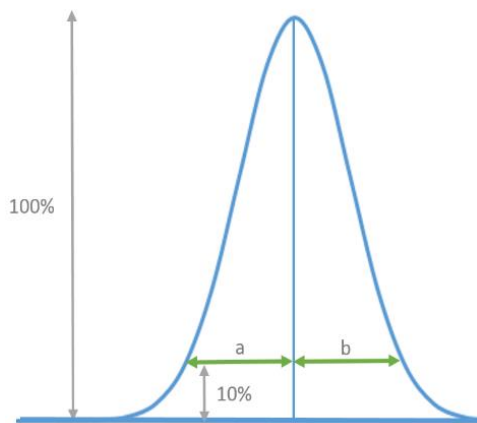


Figure 4 : Calcul du facteur d'asymétrie à partir d'un pic

Avec b : la largeur du pic à 10% de la hauteur après le sommet du pic et a : la largeur du pic à 10% de la hauteur avant le sommet du pic

- Si As est égal à 1, le pic est symétrique (cas idéal)
- Si As est supérieur à 1, alors $b > a$. Cela se traduit par une trainée de pic sur le chromatogramme. Les composés interagissent avec la phase stationnaire.
- Si As est inférieur à 1, alors $a > b$. Un front diffus est alors observable sur le chromatogramme dû à la surcharge du système ou à un problème de solubilité.

5. Efficacité et nombre de plateaux théoriques

L'efficacité d'une colonne chromatographique représente la dispersion des pics. Elle est mesurée pour chaque soluté i par le nombre de plateaux théoriques N_i contenus dans la colonne. Pour un pic gaussien, le nombre de plateaux théoriques est calculé avec les relations suivantes (Eq. 5) :

$$N_i = 16 \left(\frac{t_{ri}}{\omega_i} \right)^2 = 5,54 \left(\frac{t_{ri}}{\omega_{1/2}} \right)^2 \quad (\text{Eq. 5})$$

Avec t_{ri} : le temps de rétention du soluté i ; ω_i : la largeur du pic à la base ; $\omega_{1/2}$: la largeur du pic à mi-hauteur. Pour des pics asymétriques, les relations en équation 5 ne sont plus

applicables ; c'est le cas avec les pics des complexes de Ln. Foley et Dorsey ont proposé une relation permettant de calculer le nombre de plateaux théoriques pour un pic chromatographique asymétrique du soluté i à partir du temps de rétention, de la largeur du pic à 10% de la hauteur et du facteur d'asymétrie (Eq. 6) [4].

$$N_i = \frac{41,7 \left(\frac{t_{ri}}{\omega_{0,1}} \right)^2}{1,25 + \frac{b}{a}} \quad (\text{Eq. 6})$$

Avec t_{r_i} : le temps de rétention du soluté i, $\omega_{0,1}$: la largeur du pic à 10% de sa hauteur, b : la largeur à droite du pic à 10% de la hauteur et a : la largeur à gauche du pic à 10% de la hauteur.

6. Résolution

La résolution est souvent utilisée pour évaluer la qualité de la séparation entre deux pics successifs en chromatographie, mais ne prend pas en compte l'asymétrie des pics et de l'aire des pics (Eq. 7) :

$$R_s = \frac{2 (t_{rj} - t_{ri})}{\omega_i + \omega_j} \quad (\text{Eq. 7})$$

Avec le soluté i plus retenu que le soluté j, t_{r_i} : temps de rétention du soluté i, t_{r_j} : temps de rétention du soluté j, ; ω_i : la largeur du pic à la base pour le soluté i et ω_j : la largeur du pic à la base pour le soluté j.

Annexe 3 : Phénomènes de dispersion

Les phénomènes de dispersion comprennent les phénomènes extra-colonne et les phénomènes de dispersion liés à la colonne (Eq. 8) :

$$\sigma_{tot}^2 = \sigma_{col}^2 + \sigma_{ext}^2 \quad (\text{Eq. 8})$$

Avec σ_{tot}^2 : variance totale, σ_{col}^2 : variance générée par les phénomènes de dispersion de la colonne liés aux paramètres géométriques, σ_{ext}^2 : variance extra-colonne.

Lors de la diminution des paramètres géométriques à savoir longueur et diamètre interne de la colonne, la variance générée par les phénomènes de dispersion de la colonne diminue. La variance liée aux phénomènes extra-colonne devient non négligeable par rapport à celle liée à la colonne, elle est particulièrement observée pour une longueur de colonne inférieure à 10 cm et un diamètre interne inférieur à 4,6 mm. Les phénomènes de dispersion extra-colonne doivent être minimisés, que ce soit pour l'utilisation de colonnes remplies de FPP ou de SPP, comportant un diamètre interne inférieur à 4,6 mm. À titre d'exemple, des colonnes remplies de FPP de différents diamètres interne ont été comparées avec une chaîne chromatographique conventionnelle et un système UHPLC [5] (Figure 5).

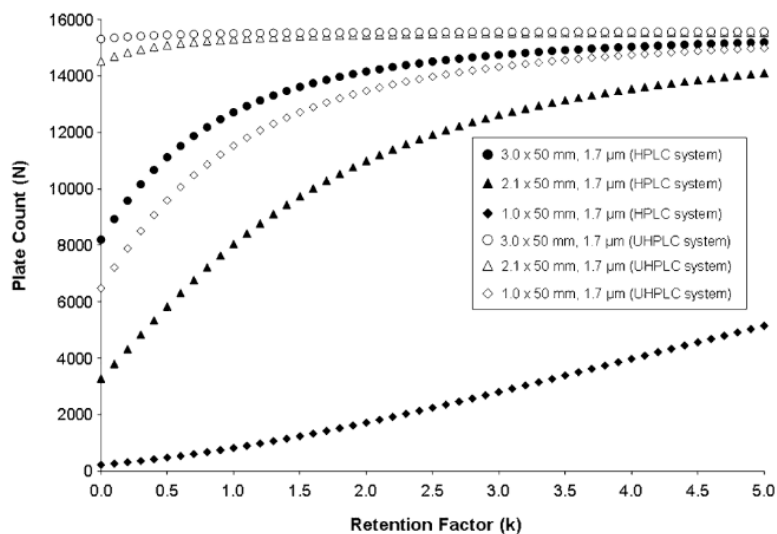


Figure 5 : Comparaison des performances des colonnes remplies de FPP avec une chaîne chromatographique conventionnelle et un système UHPLC en mode isocratique

Les auteurs ont montré qu'avec des colonnes de 2,1 ou 1,0 mm de diamètre interne, une perte du nombre de plateaux théoriques importante est observée avec une chaîne chromatographique conventionnelle à cause des phénomènes dispersifs (environ $50 \mu\text{L}^2$). En revanche, avec un système UHPLC, aucune perte du nombre de plateaux théoriques n'a été notée avec ces deux mêmes colonnes. Avec le système UHPLC, les volumes extra-colonnes sont de l'ordre de $1 \mu\text{L}^2$. L'instrument en lui-même est donc la première source de contribution des volumes extra-

colonnes. Pour nos applications, les complexes de Ln ont été séparés avec un système UHPLC 3000 de Dionex dont les volumes extra-colonne sont optimisés par rapport à une chaîne chromatographique conventionnelle [6]. Sur notre instrument, les volumes extra-colonnes sont de l'ordre de 12 μL^2 [7]. Ils dépendent du volume de la boucle d'injection, du volume de la seringue, de la longueur et du diamètre des connectiques en amont et en aval de la colonne chromatographique et du volume de la cellule de détection en UV. L'équation 9 représente les différents termes :

$$\sigma_{\text{ext}}^2 = \underbrace{K_{\text{inj}} \frac{V_{\text{inj}}^2}{12}}_{\text{Injecteur}} + \underbrace{K_{\text{cell}} \frac{V_{\text{cell}}^2}{12}}_{\text{Détecteur}} + \underbrace{\tau^2 D^2 + \frac{r_c^4 l_c D}{7,6 D_m}}_{\text{Connectiques}} \quad (\text{Eq. 9})$$

Avec V_{inj} : volume d'injection, K_{inj} constante liée au mode d'injection; V_{cell} : volume de la cellule de détection, K_{cell} : constante liée au mode de détection, D : débit, τ : constante de temps liée au détecteur, l_c : longueur des connectiques, r_c : rayon des connectiques, D_m : coefficient de diffusion du soluté dans la phase mobile.

Dans l'équation 9, le terme de la détection correspond à une détection UV. Cependant, des études ont également été réalisées pour évaluer la contribution des spectromètres de masse pour les phénomènes extra-colonne [8, 9]. Spaggiari et al. recommande d'éviter d'utiliser des colonnes de 1 mm de diamètre interne avec un système UHPLC-MS en mode isocratique en RPLC en raison des pertes du nombre de plateaux théoriques et de l'élargissement des pics, hormis pour l'analyse de mélanges relativement simples [8]. C'est pourquoi, il faut réduire les différentes contributions des phénomènes extra-colonne tout particulièrement pour des colonnes de 2,1 mm et 1,0 mm.

Une seringue et une boucle d'injection de 25 μL , correspondant aux plus petits modèles existants pour la chaîne UHPLC U3000 Ultimate, ont été utilisées pour les séparations effectuées. Avec les colonnes remplies de FPP, des connectiques de 125 μm ont été utilisés hormis avec la colonne de dimensions 100 \times 1,0 mm ; 1,7 μm . Pour les études menées avec cette colonne, la longueur et le diamètre des connectiques ont été réduits au maximum en amont et en aval de la colonne (65 μm - 0,0025 inch). Pour les colonnes remplies de SPP, la longueur et le diamètre des connectiques ont été réduit an aval de la séparation chromatographique (65 μm - 0,0025 inch).

Annexe 4 : Grandeurs chromatographiques obtenues avec les technologies FPP et SPP

Les formules permettant de calculer k , α , d_0 et N sont décrites en Annexe 2. Les données ont été obtenues après extraction des chromatogrammes de l'isotope non interféré le plus abondant de chaque complexe de Ln.

Tableau 8 : Données chromatographiques de la séparation de complexes de Ln contenus dans l'échantillon modèle 1. Colonne Acquity (100 × 2,1 mm ; 1,7 μm) remplie de FPP avec un débit de 0,3 mL.min⁻¹ et colonne Accucore-amide (150 × 2,1 mm ; 2,6 μm) remplie de SPP avec un débit de 0,15 mL.min⁻¹.

| Technologie Complexes | k | | α | | d_0 | | N | |
|--------------------------|------|------|----------|------|-------|------|------|------|
| | FPP | SPP | FPP | SPP | FPP | SPP | FPP | SPP |
| Sm-DTPA | 8,5 | 12,0 | 1,09 | 1,09 | 0,87 | 0,74 | 3392 | 1348 |
| Nd-DTPA | 9,2 | 13,1 | | | | | 3780 | 1771 |
| Sm-EDTA | 13,5 | 17,5 | 1,47 | 1,32 | 1,00 | 1,00 | 4952 | 2034 |
| Nd-EDTA | 16,2 | 21,5 | 1,20 | 1,25 | 1,00 | 1,00 | 7447 | 5377 |

Tableau 9 : Données chromatographiques de la séparation de complexes de Ln contenus dans l'échantillon modèle 2. a) colonne Acquity (100 × 2,1 mm ; 1,7 μm) remplie de FPP avec un débit de 0,3 mL.min⁻¹ b) colonne Accucore-amide (150 × 2,1 mm ; 2,6 μm) remplie de SPP avec un débit de 0,15 mL.min⁻¹.

a)

| colonne Acquity UPLC BEH amide remplie de FPP | | | | |
|---|------|------|----------------|------|
| Grandeurs Complexes | k | α | d ₀ | N |
| Er-DTPA | 7,4 | 1,09 | 0,42 | - |
| Gd-DTPA | 8,0 | | | 4812 |
| Eu-DTPA | 8,2 | 1,02 | 0,00 | 3700 |
| Er-EDTA | 8,3 | 1,02 | 0,00 | 4910 |
| Nd-DTPA | 9,2 | 1,10 | 0,90 | 3927 |
| Gd-EDTA | 10,9 | 1,19 | 0,97 | 4799 |
| Eu-EDTA | 12,1 | 1,11 | 0,97 | 5143 |
| Nd-EDTA | 16,2 | 1,33 | 1,00 | 6776 |

b)

| colonne Accucore amide remplie de SPP | | | | |
|---------------------------------------|------|------|----------------|------|
| Grandeurs Complexes | k | α | d ₀ | N |
| Er-EDTA | 9,9 | 1,09 | 0,00 | 2698 |
| Er-DTPA | 10,5 | | | 1617 |
| Gd-DTPA | 11,4 | 1,08 | 0,86 | 336 |
| Eu-DTPA | 11,6 | 1,02 | 0,00 | 1185 |
| Nd-DTPA | 13,0 | 1,12 | 0,70 | 4442 |
| Gd-EDTA | 13,5 | 1,02 | 0,35 | 1760 |
| Eu-EDTA | 15,3 | 1,13 | 0,88 | 1884 |
| Nd-EDTA | 21,6 | 1,44 | 1,00 | 4574 |

Tableau 10 : Données chromatographiques de la séparation de complexes de Ln contenus dans l'échantillon modèle 3. a) colonne Acquity (100 × 2,1 mm ; 1,7 μm) remplie de FPP avec un débit de 0,3 mL.min⁻¹ b) colonne Accucore-amide (150 × 2,1 mm ; 2,6 μm) remplie de SPP avec un débit de 0,15 mL.min⁻¹.

a)

| colonne Acquity UPLC BEH amide remplie de FPP | | | | |
|---|------|------|----------------|------|
| Grandeurs | k | α | d ₀ | N |
| Complexes | | | | |
| Lu-EDTA | 7,2 | 1,04 | 0,48 | 5659 |
| Yb-EDTA | 7,5 | 1,05 | 0,63 | 5836 |
| Tm-EDTA | 7,9 | 1,05 | 0,72 | 6248 |
| Er-EDTA | 8,3 | 1,05 | 0,77 | 3675 |
| Ho-EDTA | 8,8 | 1,06 | 0,82 | 6546 |
| Dy-EDTA | 9,2 | 1,07 | 0,94 | 6300 |
| Tb-EDTA | 9,9 | 1,10 | 0,98 | 6720 |
| Gd-EDTA | 10,9 | 1,11 | 0,98 | 6632 |
| Eu-EDTA | 12,1 | 1,12 | 0,99 | 6798 |
| Sm-EDTA | 13,5 | 1,19 | 1,00 | 7386 |
| Nd-EDTA | 16,1 | 1,05 | 0,87 | 7238 |
| La-EDTA | 16,9 | 1,00 | 0,00 | 2178 |
| Pr-EDTA | 17,0 | 1,04 | 0,37 | 4308 |
| Ce-EDTA | 17,7 | | | 5400 |

b)

| colonne Accucore amide remplie de SPP | | | | |
|---------------------------------------|------|------|----------------|------|
| Grandeurs | k | α | d ₀ | N |
| Complexes | | | | |
| Lu-EDTA | 8,5 | 1,05 | 0,47 | 2498 |
| Yb-EDTA | 8,9 | 1,15 | 0,57 | 3658 |
| Tm-EDTA | 9,3 | 1,06 | 0,66 | 2575 |
| Er-EDTA | 9,9 | 1,06 | 0,70 | 2606 |
| Ho-EDTA | 10,4 | 1,06 | 0,73 | 2773 |
| Dy-EDTA | 11,1 | 1,08 | 0,88 | 2912 |
| Tb-EDTA | 12,0 | 1,12 | 0,93 | 2982 |
| Gd-EDTA | 13,4 | 1,13 | 0,96 | 2839 |
| Eu-EDTA | 15,1 | 1,15 | 0,96 | 2648 |
| Sm-EDTA | 17,4 | 1,24 | 0,98 | 2666 |
| Nd-EDTA | 21,6 | 1,06 | 0,82 | 2574 |
| Pr-EDTA | 22,9 | 1,02 | 0,00 | 2237 |
| La-EDTA | 23,3 | 1,03 | 0,04 | 2691 |
| Ce-EDTA | 23,9 | | | 3043 |

Annexe 5 : Massifs isotopiques d'intérêts des complexes de Ln observés en HILIC-ESI(-)

Tableau 11 : Ions observés en HILIC-ESIMS (-) en mode SIM. Conditions chromatographiques : colonne Acquity (100×2,1 mm 1,7µm) - débit 0,3 mL.min⁻¹ - V_{inj} = 3µL

| Élément Naturel | isotopes | masse (u) | abondance (%) | [(Ln-DTPA)+H] ⁻ | [Ln-EDTA] ⁻ |
|-----------------|-------------------|-----------|---------------|----------------------------|------------------------|
| La | ¹³⁸ La | 137,3 | 0,09 | 526,4 | 425,4 |
| | ¹³⁹ La | 138,9 | 99,91 | 528,0 | 427,0 |
| Ce | ¹³⁶ Ce | 135,9 | 0,19 | 525,0 | 424,0 |
| | ¹³⁸ Ce | 137,9 | 0,25 | 527,0 | 426,0 |
| | ¹⁴⁰ Ce | 139,9 | 88,45 | 529,0 | 428,0 |
| | ¹⁴² Ce | 141,9 | 11,11 | 531,0 | 430,0 |
| Pr | ¹⁴¹ Pr | 140,9 | 100,00 | 530,0 | 429,0 |
| Nd | ¹⁴² Nd | 141,9 | 27,20 | 531,0 | 430,0 |
| | ¹⁴³ Nd | 142,9 | 12,20 | 532,0 | 431,0 |
| | ¹⁴⁴ Nd | 143,9 | 23,80 | 533,0 | 432,0 |
| | ¹⁴⁵ Nd | 144,9 | 8,30 | 534,0 | 433,0 |
| | ¹⁴⁶ Nd | 145,9 | 17,20 | 535,0 | 434,0 |
| | ¹⁴⁸ Nd | 147,9 | 5,70 | 537,0 | 436,0 |
| | ¹⁵⁰ Nd | 149,9 | 5,60 | 539,0 | 438,0 |
| Sm | ¹⁴⁴ Sm | 143,9 | 3,07 | 533,0 | 432,0 |
| | ¹⁴⁷ Sm | 146,9 | 14,99 | 536,0 | 435,0 |
| | ¹⁴⁸ Sm | 147,9 | 11,24 | 537,0 | 436,0 |
| | ¹⁴⁹ Sm | 148,9 | 13,82 | 538,0 | 437,0 |
| | ¹⁵⁰ Sm | 149,9 | 7,38 | 539,0 | 438,0 |
| | ¹⁵² Sm | 151,9 | 26,75 | 541,0 | 440,0 |
| Eu | ¹⁵⁴ Sm | 153,9 | 22,75 | 543,0 | 442,0 |
| | ¹⁵¹ Eu | 150,9 | 47,81 | 540,0 | 439,0 |
| | ¹⁵³ Eu | 152,9 | 52,19 | 542,0 | 441,0 |

| Élément Naturel | Isotopes | masse (u) | abondance (%) | [(Ln-DTPA)+H] ⁻ | [Ln-EDTA] ⁻ |
|-----------------|-------------------|-------------------|---------------|----------------------------|------------------------|
| Gd | ¹⁵² Gd | 151,9 | 0,20 | 541,0 | 440,0 |
| | ¹⁵⁴ Gd | 153,9 | 2,18 | 543,0 | 442,0 |
| | ¹⁵⁵ Gd | 154,9 | 14,80 | 544,0 | 443,0 |
| | ¹⁵⁶ Gd | 155,9 | 20,47 | 545,0 | 444,0 |
| | ¹⁵⁷ Gd | 156,9 | 15,65 | 546,0 | 445,0 |
| | ¹⁵⁸ Gd | 157,9 | 24,84 | 547,0 | 446,0 |
| | ¹⁶⁰ Gd | 159,9 | 21,86 | 549,0 | 448,0 |
| | Tb | ¹⁵⁹ Tb | 158,9 | 100,00 | 548,0 |
| Dy | ¹⁵⁶ Dy | 155,9 | 0,06 | 545,0 | 444,0 |
| | ¹⁵⁸ Dy | 157,9 | 0,10 | 547,0 | 446,0 |
| | ¹⁶⁰ Dy | 159,9 | 2,33 | 549,0 | 448,0 |
| | ¹⁶¹ Dy | 160,9 | 18,89 | 550,0 | 449,0 |
| | ¹⁶² Dy | 161,9 | 25,48 | 551,0 | 450,0 |
| | ¹⁶³ Dy | 162,9 | 24,90 | 552,0 | 451,0 |
| | ¹⁶⁴ Dy | 163,9 | 28,26 | 553,0 | 452,0 |
| | Ho | ¹⁶⁵ Ho | 164,9 | 100,00 | 554,0 |
| Er | ¹⁶² Er | 161,9 | 0,14 | 551,0 | 450,0 |
| | ¹⁶⁴ Er | 163,9 | 1,60 | 553,0 | 452,0 |
| | ¹⁶⁶ Er | 165,9 | 33,50 | 555,0 | 454,0 |
| | ¹⁶⁷ Er | 166,9 | 22,87 | 556,0 | 455,0 |
| | ¹⁶⁸ Er | 167,9 | 26,98 | 557,0 | 456,0 |
| | ¹⁷⁰ Er | 169,9 | 14,91 | 559,0 | 458,0 |
| Tm | ¹⁶⁹ Tm | 168,9 | 100,00 | 558,0 | 457,0 |

| Élément Naturel | isotopes | masse (u) | abondance (%) | $[(Ln-DTPA)+H]^{-}$ | $[Ln-EDTA]^{-}$ |
|--------------------|-------------------|-----------|------------------|---------------------|-----------------|
| Yb | ^{168}Yb | 167,9 | 0,13 | 557,0 | 456,0 |
| | ^{170}Yb | 169,9 | 3,04 | 559,0 | 458,0 |
| | ^{171}Yb | 170,9 | 14,28 | 560,0 | 459,0 |
| | ^{172}Yb | 171,9 | 21,83 | 561,0 | 460,0 |
| | ^{173}Yb | 172,9 | 16,13 | 562,0 | 461,0 |
| | ^{174}Yb | 173,9 | 31,83 | 563,0 | 462,0 |
| | ^{176}Yb | 175,9 | 12,76 | 565,1 | 464,0 |
| Lu | ^{175}Lu | 174,9 | 97,41 | 564,0 | 463,0 |
| | ^{176}Lu | 175,9 | 2,59 | 565,1 | 464,0 |

Annexe 6 : Spectre de masse du complexe Sm-EDTA pour la gamme de masse 50-1000 avec l'ESIMS-LIT

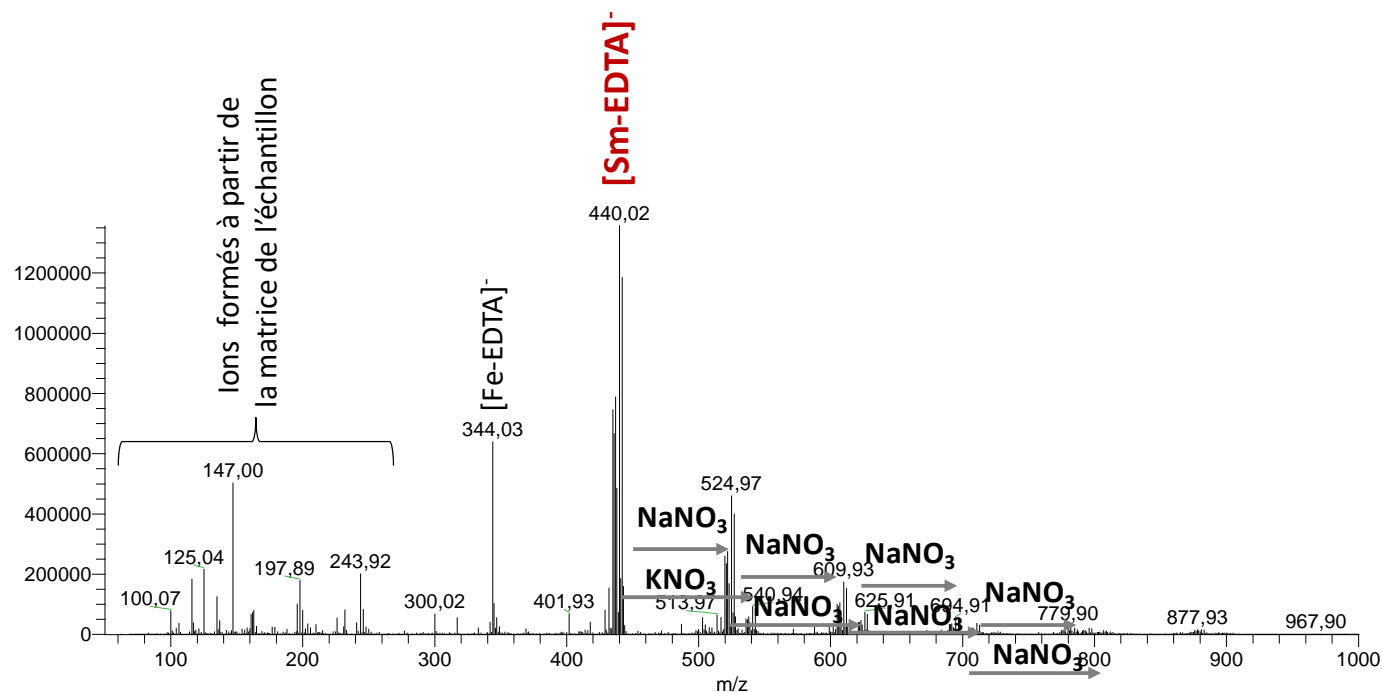


Figure 6 : Spectre de masse du complexe Sm-EDTA à 10^{-4} mol.L⁻¹ obtenu en infusion directe à un débit de $10 \mu\text{L.min}^{-1}$ en ESI(-). Paramètres d'acquisition de l'ESIMS-LIT : centroïde - full scan - gamme de masse 50-1000 - largeur du pic à mi-hauteur 0,5 - 3 μs cans - 200 scans.

En mode d'ionisation négatif, le complexe est observé majoritairement sous forme monochargé $[\text{Sm-EDTA}]^-$, de m/z 432-442 avec m/z 437 l'ion central, correspond au ligand entièrement déprotoné. De nombreux adduits du type $[\text{Sm-EDTA}+n\text{XNO}_3]^-$ avec X : Na ou K sont présents ainsi des ions formés à partir de la matrice de l'échantillon. Des ions du complexe Fe-EDTA sont également présents dus à leur formation dans le spectromètre de masse.

Annexe 7 : Spectres de masse du complexe Sm-EDTA avec l'ESIMS-QqQ en full scan et en SIM

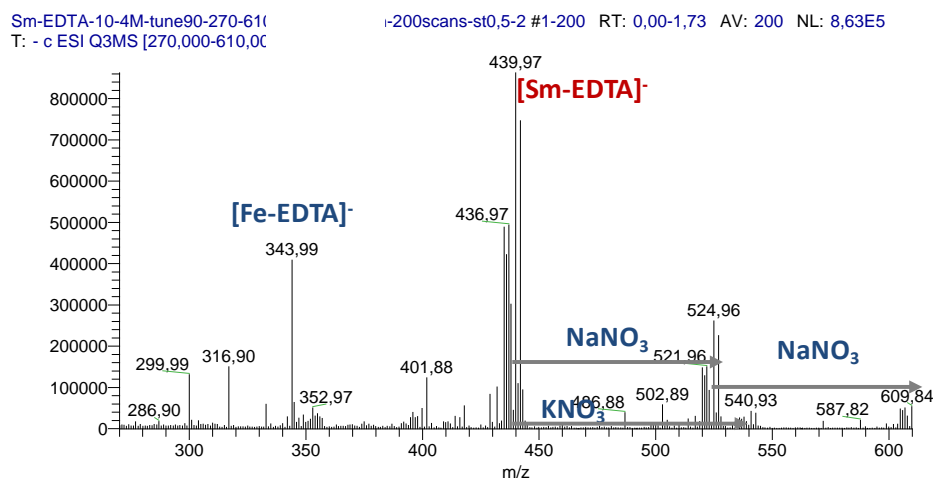


Figure 7 : Spectre de masse du complexe Sm-EDTA à 10^{-4} mol.L⁻¹ obtenu en infusion directe à un débit de $10 \mu\text{L}\cdot\text{min}^{-1}$ en ESI(-). Paramètres d'acquisition : centroïde - full scan 270-610 - largeur du pic à mi-hauteur 0,5, 1 μs can, 200 scans, temps de scan 0,5 s.

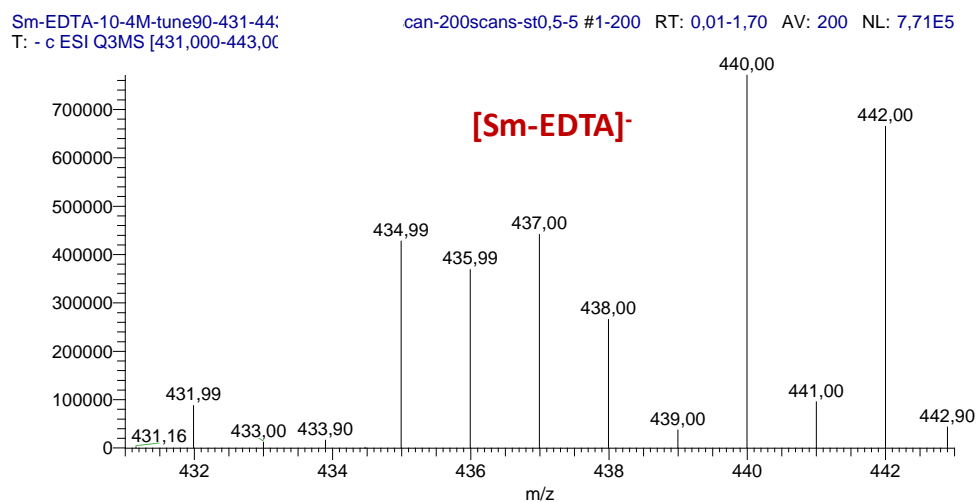


Figure 8 : Spectre de masse du complexe Sm-EDTA à 10^{-4} mol.L⁻¹ obtenu en infusion directe à un débit de $10 \mu\text{L}\cdot\text{min}^{-1}$ en ESI(-). Paramètres d'acquisition : centroïde, SIM 431-443, largeur du pic à mi-hauteur 0,5, 1 μs can, 200 scans, temps de scan 0,5 s.

Comparaison des résultats :

Tableau 12 : Calculs des incertitudes de mesures, des écarts théoriques et des répétabilités à $k=2$. Paramètres d'acquisition : centroïde - SIM et full scan 431-443 - 1 μ scan - 200 scans, temps de scan 0,5 s

a) Full scan 431-443 (n=10)

| | 432/438 | 435/438 | 436/438 | 437/438 | 440/438 | 442/438 |
|-----------------------|---------|---------|---------|---------|---------|---------|
| E_{th} | 0,6 | -0,9 | -0,5 | -0,7 | -0,4 | -1,1 |
| Répétabilité | 1,0 | 0,8 | 1,0 | 1,0 | 0,4 | 0,8 |
| Incertitude | 1,6 | 2,0 | 1,4 | 1,7 | 0,9 | 2,3 |

b) SIM 431-443 (n=10)

| | 432/438 | 435/438 | 436/438 | 437/438 | 440/438 | 442/438 |
|-----------------------|---------|---------|---------|---------|---------|---------|
| E_{th} | 0,8 | -0,4 | -0,4 | 0 | -0,1 | -0,6 |
| Répétabilité | 0,8 | 1,2 | 1,2 | 1,4 | 1,6 | 1,2 |
| Incertitude | 1,8 | 1,4 | 1,4 | 1,4 | 1,6 | 1,7 |

Avec
$$\text{Incertitude} = 2 \sqrt{\text{justesse}^2 + \text{répétabilité}_{(k=1)}^2} \quad (\text{Eq. 10})$$

Annexe 8 : Influence de la largeur du pic à mi-hauteur sur les écarts E_{th} pour le Sm-EDTA avec l'ESIMS-QqQ

Tableau 13 : a) écarts entre les rapports isotopiques mesurés et théoriques (E_{th}) aux masses du Sm-EDTA pour $n=10$, la RSD a été calculée pour chaque rapport isotopique à partir des 10 acquisitions. Le RSD moyen correspond à la moyenne de la RSD des différents rapports isotopiques. b) Intensités des ions du complexe Sm-EDTA à 10^{-4} mol.L⁻¹ obtenu en infusion directe à un débit de 10 μ L.min⁻¹ en ESI(-). Paramètres d'acquisition : centroïde - SIM 431-443 - 1 μ scan - 200 scans, temps de scan 0,5 s

a)

| E_{th} (n=10) | 432/438 | 435/438 | 436/438 | 437/438 | 440/438 | 442/438 | RSD moyen (%) |
|--|---------|---------|---------|---------|---------|---------|---------------|
| Largeur de pic à mi-hauteur 0,1 | 3,2 | -0,6 | 0,5 | 0,3 | 0,0 | -0,9 | 1,0 |
| Largeur de pic à mi-hauteur 0,3 | 2,6 | -1,5 | -1,2 | -0,9 | -1,5 | -1,9 | 0,5 |
| Largeur de pic à mi-hauteur 0,5 | 2,1 | -1,7 | -1,2 | -0,9 | -1,5 | -2,1 | 0,6 |
| Largeur de pic à mi-hauteur 0,7 | 3,0 | -1,8 | -1,4 | -1,6 | -2,4 | -1,3 | 0,7 |

b)

| Intensités (n=10) | 432 | 435 | 436 | 437 | 438 | 440 | 442 | RSD moyen (%) |
|--|-------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|---------------|
| Largeur de pic à mi-hauteur 0,1 | 62151 | 292404 | 257049 | 305177 | 182962 | 528421 | 454012 | 2,0 |
| Largeur de pic à mi-hauteur 0,3 | 73954 | 346921 | 302606 | 360848 | 219054 | 623613 | 538073 | 0,7 |
| Largeur de pic à mi-hauteur 0,5 | 81854 | 385263 | 336464 | 401739 | 243678 | 693274 | 597845 | 1,9 |
| Largeur de pic à mi-hauteur 0,7 | 88012 | 409886 | 357883 | 425000 | 259697 | 732499 | 641778 | 1,0 |

Annexe 9 : Spectres de masse du Sm-EDTA acquis l'ESIMS-LIT en full scan

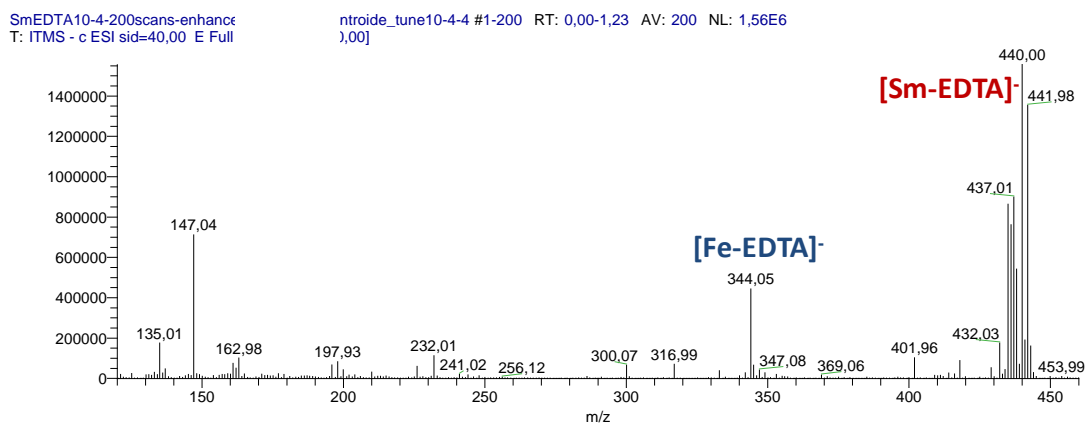


Figure 9 : Spectre de masse du complexe Sm-EDTA à 10^{-4} mol.L $^{-1}$ en infusion directe à un débit de 10 μ L.min $^{-1}$ en ESI(-). Paramètres d'acquisition : centroïde - full scan 120-460 - largeur du pic à mi-hauteur 0,35 - 3 μ scans - 200 scans.

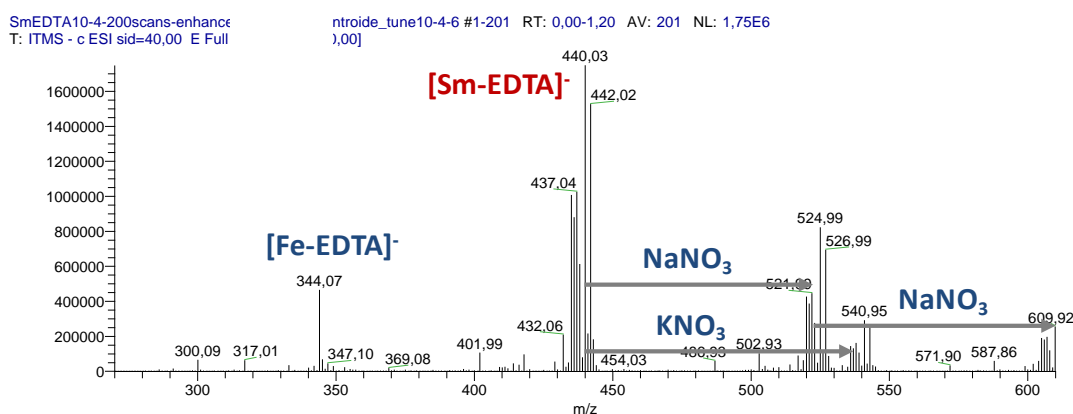


Figure 10 : Spectre de masse du complexe Sm-EDTA à 10^{-4} mol.L $^{-1}$ en infusion directe à un débit de 10 μ L.min $^{-1}$ en ESI(-). Paramètres d'acquisition : centroïde - full scan 270-610 - largeur du pic à mi-hauteur 0,35 - 3 μ scans - 200 scans.

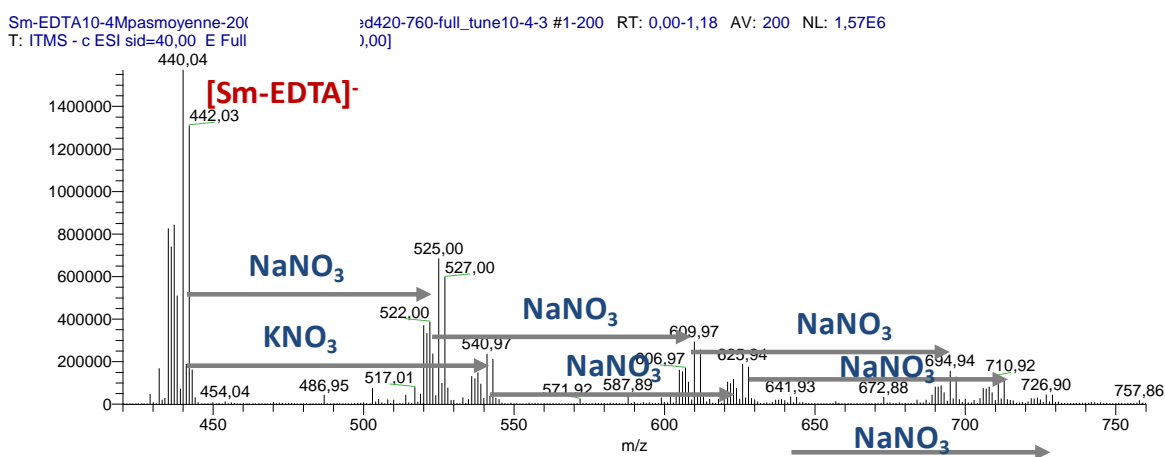


Figure 11 : Spectre de masse du complexe Sm-EDTA à 10^{-4} mol.L $^{-1}$ en infusion directe à un débit de 10 μ L.min $^{-1}$ en ESI(-). Paramètres d'acquisition : centroïde - full scan 420-760 - largeur du pic à mi-hauteur 0,35 - 3 μ scans - 200 scans.

Annexe 10 : Spectres de masse des complexes Ln-ligand en ESIMS-LIT

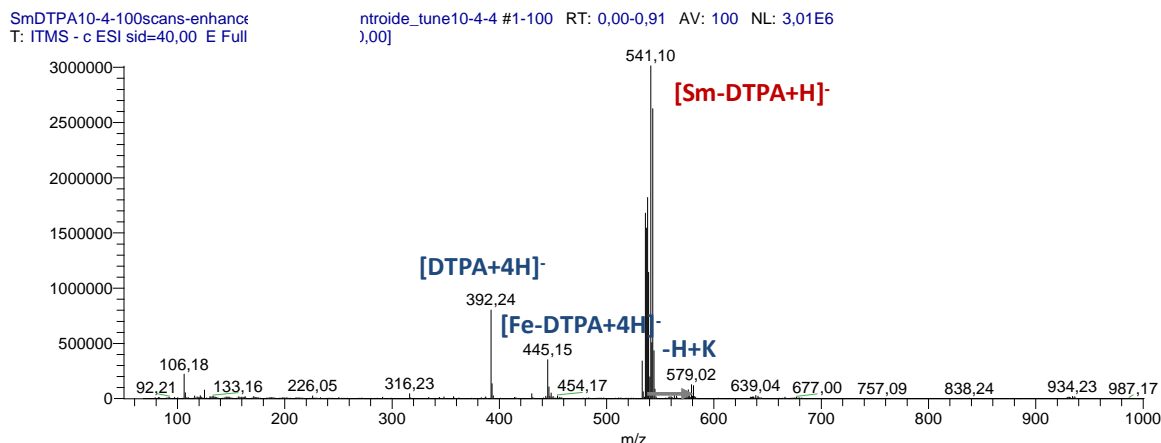


Figure 12 : Spectre de masse du complexe Sm-DTPA à 10^{-4} mol.L⁻¹ en infusion directe à un débit de 10 μ L.min⁻¹ en ESI(-). Paramètres d'acquisition : centroïde - full scan 50-1000 - largeur du pic à mi-hauteur 0,35 - 3 μ scans - 100 scans.

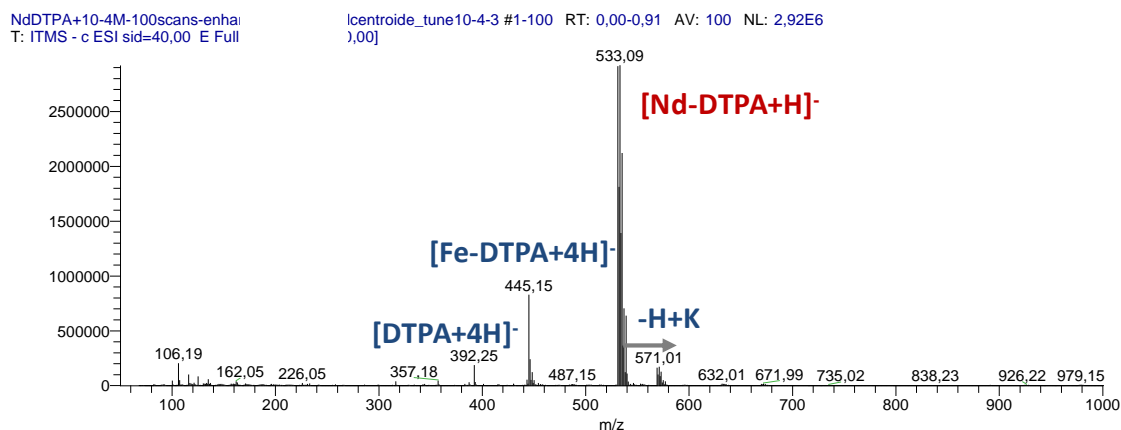


Figure 13 : Spectre de masse du complexe Nd-DTPA à 10^{-4} mol.L⁻¹ en infusion directe à un débit de 10 μ L.min⁻¹ en ESI(-). Paramètres d'acquisition : centroïde - full scan 50-1000 - largeur du pic à mi-hauteur 0,35 - 3 μ scans - 100 scans.

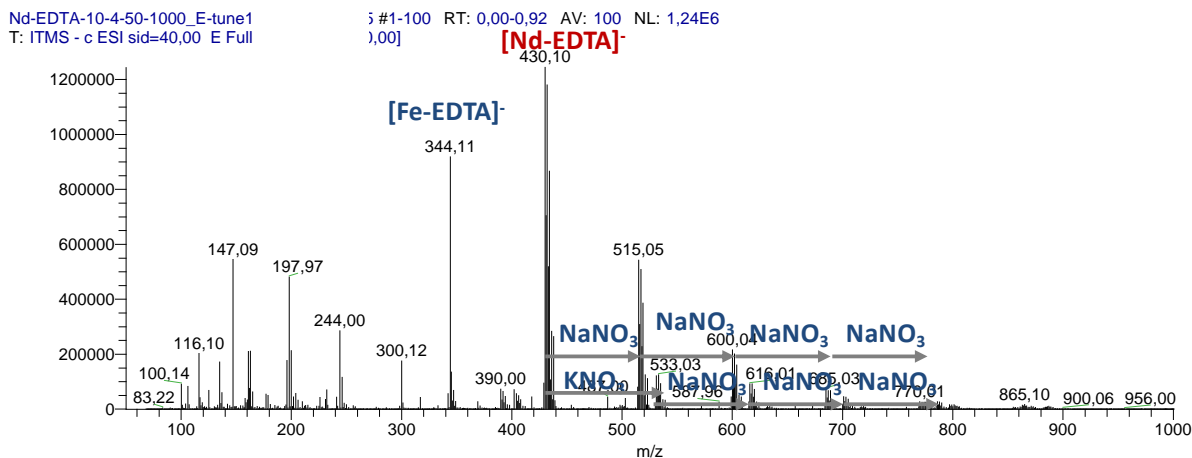


Figure 14 : Spectre de masse du complexe Nd-EDTA à 10^{-4} mol.L⁻¹ en infusion directe à un débit de 10 μ L.min⁻¹ en ESI(-). Paramètres d'acquisition : centroïde - full scan 50-1000 - largeur du pic à mi-hauteur 0,35 - 3 μ scans - 100 scans.

Références :

- [1] Bourgeois M., Isnard H., Gourgiotis A., Stadelmann G., Gautier C., Mialle S., *et al.*, "Sm isotope composition and Sm/Eu ratio determination in an irradiated ^{153}Eu sample by ion exchange chromatography-quadrupole inductively coupled plasma mass spectrometry combined with double spike isotope dilution technique," *J. Anal. At. Spectrom.*, 26, (2011), 1660-1666.
- [2] Gagliardi L. G., Castells C. B., Ràfols C., Rosés M., Bosch E., " δ Conversion Parameter between pH Scales (and) in Acetonitrile/Water Mixtures at Various Compositions and Temperatures," *Analytical chemistry*, 79, (2007), 3180-3187.
- [3] Beuvier L., "Développement d'une méthode de séparation chromatographique couplée aux spectrométries de masse à source d'ionisation électrospray (ESI-MS) et à source plasma à couplage inductif (ICP-MS) : application à l'analyse de spéciation des lanthanides," Université Pierre et Marie Curie-Paris VI, (2015), 1-243.
- [4] Foley J. P., Dorsey J. G., "Equations for calculation of chromatographic figures of merit for ideal and skewed peaks," *Anal. Chem*, 55, (1983), 730-737.
- [5] Fountain K. J., Iraneta P. C., "Instrumentation and columns for UHPLC separations," *UHPLC in Life Sciences*, (2012), 29-66.
- [6] Fountain K. J., Neue U. D., Grumbach E. S., Diehl D. M., "Effects of extra-column band spreading, liquid chromatography system operating pressure, and column temperature on the performance of sub-2- μm porous particles," *Journal of Chromatography A*, 1216, (2009), 5979-5988.
- [7] Walter T. H., Andrews R. W., "Recent innovations in UHPLC columns and instrumentation," *TrAC Trends in Analytical Chemistry*, 63, (2014), 14-20.
- [8] Spaggiari D., Fekete S., Eugster P. J., Veuthey J.-L., Geiser L., Rudaz S., *et al.*, "Contribution of various types of liquid chromatography–mass spectrometry instruments to band broadening in fast analysis," *J Chromatogr A*, 1310, (2013), 45-55.
- [9] Buckenmaier S., Miller C. A., van de Goor T., Dittmann M. M., "Instrument contributions to resolution and sensitivity in ultra high performance liquid chromatography using small bore columns: comparison of diode array and triple quadrupole mass spectrometry detection," *J Chromatogr A*, 1377, (2015), 64-74.

Cite this: *RSC Adv.*, 2018, 8, 24760

Evaluation of superficially and fully porous particles for HILIC separation of lanthanide–polyaminocarboxylic species and simultaneous coupling to ESIMS and ICPMS

E. Blanchard,^{ab} A. Nonell,^a F. Chartier,^c A. Rincel^a and C. Bresson^{id}*^a

In this work, amide-bonded columns packed with fully porous particles (FPP) and superficially porous particles (SPP) were evaluated to separate lanthanide–polyaminocarboxylic species by hydrophilic interaction liquid chromatography (HILIC), using two model samples of interest in nuclear and other industrial applications. We assessed the gains achieved by reducing the dimensions of the columns along with the size of the FPPs to sub-2 μm and by using sub-3 μm SPP-packed columns. The FPP-packed Acquity column (100 \times 2.1 mm; 1.7 μm) performed better than the SPP-packed Accucore column (150 \times 2.1 mm; 2.6 μm), with a separation that was two times more efficient and three times shorter, while generating around 30% less in effluent volumes. This column was also coupled simultaneously to electrospray ionisation mass spectrometry (ESIMS) and inductively coupled plasma mass spectrometry (ICPMS). The instrumental set-up was performed in a conventional laboratory, by taking into account the geometrical constraints existing in the laboratory dedicated to radioelement analysis. Furthermore, separation of the series of lanthanide (Ln) species was demonstrated for the first time thanks to the separation mode of hydrophilic interaction liquid chromatography.

Received 6th April 2018
Accepted 3rd July 2018

DOI: 10.1039/c8ra02961j

rsc.li/rsc-advances

Introduction

Green analytical chemistry has gained increasing attention over the last few years, incited by the ‘three Rs’ concept (reduce, replace, recycle).¹ This approach encourages users to replace hazardous solvents with greener alternatives, and to reduce the consumption of solvent and reagents, as well as the waste generated during analytical procedures. In nuclear applications, this approach is a major step forward in that it helps reduce radioactive waste volumes and sample consumption, not to mention associated facility and cost constraints. With the aim of studying the speciation of lanthanides (Ln) in the framework of spent fuel treatment processes, this approach was initiated in a previous work² and focused on the separation conditions by hydrophilic interaction liquid chromatography (HILIC) of Ln species containing strong chelating agents such as ethylenediaminetetraacetic acid (EDTA) and diethylenetriaminepentaacetic acid (DTPA). In this preliminary study, the selected Ln species were Nd, Eu, Gd, and Er, to be representative

of the Ln series, from the light to the heavy. We showed that among several stationary phases functionalized with cross-linked diol, cyano, zwitterionic and amide functions, the first three led to the co-elution of Ln species, known to be difficult to separate due to their very close physico-chemical properties. Only amide-bonded stationary phases allowed the separation of Ln species.

In order to reduce the effluent volumes produced by these HILIC separations while maintaining or improving their speed and efficiency, two sustainable chromatographic strategies³ were applied in the current work. We took advantage of the gains achieved by reducing the diameter of fully porous particles (FPP) to sub-2 μm along with the dimensions of the columns, and by using columns packed with superficially porous particles (SPP). Sub-2 μm FPP and SPP technologies^{4–6} represent a major advance in chromatographic techniques these past few years, driven by the growing demand of high sample throughput, as well as fast and high efficient separation techniques, prompted by several industrial sectors. However, most applications of sub-2 μm FPP- and SPP-packed columns lie in the analysis of organic compounds by reversed phase liquid chromatography (RPLC).^{7–10} Although hydrophilic interaction liquid chromatography is devoted to separating polar, hydrophilic and/or charged compounds and is well suited for separating metallic complexes, including non-covalent species,¹¹ application of this separation mode for speciation analysis is still relatively limited. Studies on the speciation of lanthanides

^aDen – Service d’Etudes Analytiques et de Réactivité des Surfaces (SEARS) – Laboratoire de développement Analytique Nucléaire, Isotopique et Élémentaire (LANIE), CEA, Université Paris-Saclay, F-91191, Gif-sur-Yvette, France. E-mail: carole.bresson@cea.fr; Fax: +33 (0)169089475; Tel: +33 (0)169088348

^bSorbonne Universités, F-75005 Paris, France

^cDen – Département de Physico-Chimie (DPC), CEA, Université Paris-Saclay, F-91191 Gif-sur-Yvette, France

have focused so far on gadolinium (Gd) species containing linear or cyclic polyaminocarboxylic acids, used as magnetic resonance imaging contrast agents.¹² Dedicated analytical methods have been developed to monitor and quantify Gd species in the environment using HILIC stationary phases in narrow-bore or classical format, most widely functionalised by zwitterionic groups, and packed with fully porous particles of diameters exceeding 3 μm .^{13–15} To the best of our knowledge and excluding our previous work, sub-2 μm FPP-packed columns have only been used in one recent study dealing with speciation,¹⁶ while various polar stationary phases have been developed with this technology since its commercial introduction in 2004.¹⁷ Furthermore, the majority of polar SPP-packed stationary phases dedicated to hydrophilic interaction liquid chromatography are unmodified silica,¹⁸ despite numerous columns packed with SPP of different sizes, chemistries and porous shell thickness, have become available. The only example of separation by hydrophilic interaction liquid chromatography, involving a SPP-packed column for speciation analysis is with a bare silica SPP-packed column.¹⁹ Therefore, sub-2 μm FPPs and shell technologies are currently almost never used for speciation investigations using hydrophilic interaction liquid chromatography.

In this work, amide-bonded columns of different lengths and diameters, packed with 3.5 μm and sub-2 μm FPPs, as well as sub-3 μm SPP-packed columns, were evaluated to separate Ln species by hydrophilic interaction liquid chromatography using two model samples. The first sample concerns the development of nuclear spent fuel treatment processes based on liquid–liquid extraction, being a model of actinide species that can be found in aqueous back extraction phases. It was composed of natural neodymium (Nd) and samarium (Sm), exhibiting natural isobaric interferences also found in irradiated fuel solutions, in the presence of EDTA and DTPA. The second sample contained the entire lanthanide series with EDTA, leading to the formation of the corresponding 14 Ln–EDTA complexes. The separation of these kind of chemical species is of interest for nuclear applications, as well as for environmental and rare-earth recycling purposes.^{20,21} We determined the best compromise between the efficiency, the resolution, the analysis time, and the effluent volumes generated by separation of the species contained in the two samples, in order to select the most suited chromatographic technology. These experiments were run in a conventional laboratory by coupling the separations by hydrophilic interaction liquid chromatography to electrospray ionisation mass spectrometry (ESIMS). In a further step, the selected column was coupled simultaneously to ESIMS and inductively coupled plasma mass spectrometry (ICPMS), also in a conventional laboratory. This integrated mass spectrometric approach will allow to provide, in a single step, the structural characterization of the separated Ln species, along with the elemental and isotopic characterization of the Ln within the species. In addition, the overall effluent volumes, the consumption of the samples and the analysis times are even more reduced compared with the savings already achieved through a single coupling, which is of great interest for the analysis of nuclear or precious samples.

Experimental part

1. Chemicals and samples

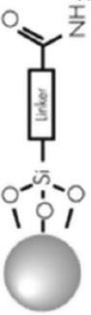
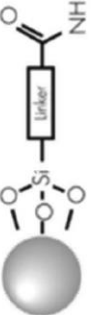

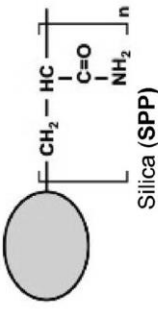
Ethylenediaminetetraacetic acid (EDTA) tetrasodium salt dihydrate ($\text{C}_{10}\text{H}_{12}\text{O}_8\text{N}_2\text{Na}_4$, $2\text{H}_2\text{O}$, purity $\geq 99.5\%$), diethylenetriaminepentaacetic acid (DTPA) ($\text{C}_{14}\text{H}_{23}\text{O}_{10}\text{N}_3$, purity $\geq 98\%$) and toluene were supplied by Sigma Aldrich (Saint Quentin Fallavier, France). Ultrapure water (resistivity 18.2 $\text{M}\Omega\text{ cm}$) was obtained from a Milli-Q water purification system (Millipore, Guyancourt, France). Acetonitrile (ACN, quality LC-MS grade), formic acid (Normapur grade), ammonium acetate ($\text{CH}_3\text{CO}_2\text{-NH}_4$, Normapur grade) and ammonia solution 25% were purchased from VWR ProLabo (Briare-le-Canal, France). Elemental standard solutions at 1000 $\mu\text{g mL}^{-1}$ (lanthanum (La), cerium (Ce), praseodymium (Pr), neodymium (Nd), samarium (Sm), europium (Eu), gadolinium (Gd), terbium (Tb), dysprosium (Dy), holmium (Ho), erbium (Er), thulium (Tm), ytterbium (Yb) and lutetium (Lu)) were provided by the Spex Certiprep Group (Longjumeau, France), diluted in nitric acid media (HNO_3 , 2% w/w).

The stock solutions of EDTA and DTPA were prepared by dissolving the appropriate amount of ligand in ultrapure water to obtain a concentration of $5 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$. Each Ln stock solution was prepared by diluting the corresponding elemental standard solution in ultrapure water to obtain a concentration of $5 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$. The samples were prepared by mixing the appropriate volume of the stock solutions to obtain Ln : EDTA : DTPA ratios of 2 : 1.75 : 0.75 (Ln = Nd, Sm), with each Ln concentration at $10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ for sample 1, and a Ln : EDTA ratio of 1 : 1.6 (Ln = the series of 14 Ln) with each Ln concentration at $1.5 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ for sample 2. Then the pH of each sample was adjusted to 3.2 by adding an ammonia solution (25%) to reach a common pH in the aqueous back-extraction phases of treatment processes. The samples were further diluted in the mobile phase to reach a final concentration of $10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ for each Ln in sample 1 and a concentration of $5 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ for each Ln in sample 2.

2. Hydrophilic interaction liquid chromatography conditions

Separations were carried out in a conventional laboratory using an Ultimate 3000 UHPLC⁺ focused system (Dionex/ThermoFisher, Courtaboeuf, France), which consisted of a degasser, a dual RS pump, an RS auto sampler, a column compartment and a model RS diode array detector. All stationary phases were functionalized with amide groups (Table 1). The FPP-packed columns were obtained from Waters (Milford, MA, USA): XBridge amide (150 \times 2.1 mm; 3.5 μm), Acquity BEH amide (100 \times 2.1 mm; 1.7 μm and 100 \times 1.0 mm; 1.7 μm). Two Accucore-amide columns (150 \times 2.1 mm; 2.6 μm and 100 \times 2.1 mm; 2.6 μm) packed with SPPs were provided by Thermo Scientific (Waltham, MA, USA). A Sunshell HILIC amide column (100 \times 2.1 mm; 2.6 μm) packed with SPPs was obtained from ChromaNik Technologies (Osaka, Japan). The column dead times were determined using toluene as marker and UV detection at 254 nm. The separations were run in isocratic mode,

Table 1 Physico-chemical properties of the different columns used in this study and analysis conditions (NA: non-available)

| Name (manufacturer) | Dimensions, particle size, flow rate (F); injection volume (V_{inj}) | Functionalisation and support | Specific surface ($m^2 g^{-1}$) | Pore size (Å) | Amide grafting, carbon load (%) |
|------------------------------------|--|--|-----------------------------------|---------------|-----------------------------------|
| XBridge amide (Waters) | 150 × 2.1 mm; 3.5 µm, F 150 µL min ⁻¹ ; V_{inj} 5 µL |  | 182 | 138 | 7.34 µmol m ⁻² , 12% C |
| Acquity BEH amide (Waters) | 100 × 2.1 mm; 1.7 µm, F 300 µL min ⁻¹ ; V_{inj} 3 µL 100 × 1.0 mm; 1.7 µm, F 70 µL min ⁻¹ ; V_{inj} 1 µL | Hydrid BEH (FPP)  | 186 | 134 | 7.37 µmol m ⁻² , 12% C |
| Sunshell HILIC amide (ChromaNik) | 100 × 2.1 mm; 2.6 µm, F 300 µL min ⁻¹ ; V_{inj} 3 µL | Hydrid BEH (FPP)  | 150 | 89 | NA, 3.3% C |
| Accucore-amide (Thermo-Scientific) | 150 × 2.1 mm; 2.6 µm, F 150 µL min ⁻¹ ; V_{inj} 5 µL 100 × 2.1 mm; 2.6 µm, F 150 µL min ⁻¹ ; V_{inj} 3 µL | R : hydrophilic group (NA) Silica (SPP)  | 80 | 150 | NA, NA |

with a mobile phase composed of 70/30 (v/v) acetonitrile/water, 0.5% formic acid and 15 mM ammonium acetate. The optimal range of the mobile phase flow rates for the Accucore column (150 × 2.1 mm; 2.6 μm) was determined by plotting the Knox curve at flow rates varying between 35 and 1500 μL min⁻¹ and injecting 3 μL of the Gd-DTPA complex at 10⁻⁴ mol L⁻¹. The Gd-DTPA complex was chosen because of its location in the middle of the Ln series and its retention factor of around ten.

The discrimination factor d_0 was defined as $d_0 = \frac{h_p - h_v}{h_p}$

where h_p : the smallest peak height between two consecutive peaks and h_v : the valley height between two peaks.²² As chromatographic peaks are asymmetrical, efficiency values N were calculated for each species from the extracted ion chromatogram (XIC), with the Foley-Dorsey equation:²³

$$N = \frac{41.7 \left(\frac{t_r}{\omega_{0.1}} \right)^2}{1.25 + \frac{b}{a}}$$

where t_r : the retention time of analyte, $\omega_{0.1}$:

peak width at 10% of the peak height, a and b : peak width before and after the apex, measured at 10% of the peak height. Analyses were performed two times with the XBridge (150 × 2.1 mm; 3.5 μm), Acquity (100 × 2.1 mm; 1.7 μm) and Accucore (150 and 100 × 2.1 mm; 2.6 μm) columns. Similar efficiencies were obtained in all cases, and the average of N is given in the tables. For the Acquity column of internal diameter of 1 mm, as well as for the tests of the Sunshell column, analyses were performed one time.

3. ESIMS parameters

The ESIMS instrument was a TSQ Quantum Ultra™ Stage Quadrupole mass spectrometer (Thermo Fisher Scientific, Waltham MA, USA) equipped with an H-ESI II ionization source. ESIMS data was processed with XCalibur software from Thermo Fisher. All ESIMS spectra were recorded in negative ionization mode with the spray voltage at -3.7 kV. The vaporization and capillary transfer temperatures, the sheath gas, the auxiliary gas and the skimmer offset were optimized for each sample and

flow rate, so as to obtain optimal signal stability and intensity. Full-scan mass spectra were acquired in the mass range m/z 200–700 and single ion monitoring (SIM) mass spectra were acquired by adjusting the scan width to the isotopic pattern of each species. In negative ionization mode, the Ln species were observed as [Ln-EDTA]⁻ and [(Ln-DTPA) + H]⁻, and are noted Ln-EDTA and Ln-DTPA throughout the manuscript.

4. ICPMS parameters

The ICPMS instrument used was an XSeries^{II} (Thermo Electron, UK) equipped with platinum skimmer and sampler cones, a perfluoroalkoxy PFA-ST nebulizer at 200 μL min⁻¹, a quartz cyclonic spray chamber thermostated at 3 °C and a 1 mm inner diameter injector. In order to prevent any carbon deposition linked to the use of organic solvents, a 8.2 mL min⁻¹ oxygen flow rate was injected in the plasma tanks to an oxygen port located just after the spray chamber.^{24,25} ICP-MS data was processed with Plasmalab software from Thermo Fisher. Experimental parameters, such as the torch position, flow rates and optical lens system, were optimized daily with a Sm-EDTA solution obtained by diluting the Sm-EDTA sample at 10⁻⁴ mol L⁻¹ prepared according to part 1, by a factor 150 in the mobile phase. This solution was further re-diluted in the appropriate volume of HNO₃ 2% to reach a concentration of 3.4 ppb for the Sm. For each species, the most abundant Ln isotope was monitored with a dwell time of 30 ms.

5. Simultaneous coupling of HILIC to ESIMS and ICPMS

The instrumental set-up for the simultaneous coupling of HILIC to ESIMS and ICPMS was performed in a conventional laboratory, taking into account the geometrical constraints of the current configuration of the instruments equipped with glove boxes in the laboratory dedicated to the analysis of radioactive samples. The column output stream was split using a T-connector without a dead volume (MicroTee Assy Peek - 1/16in, IDEX Health & Science, USA) (Fig. 1), connected to the ESIMS through a 1.5 m × i.d. 125 μm tubing on the one hand,

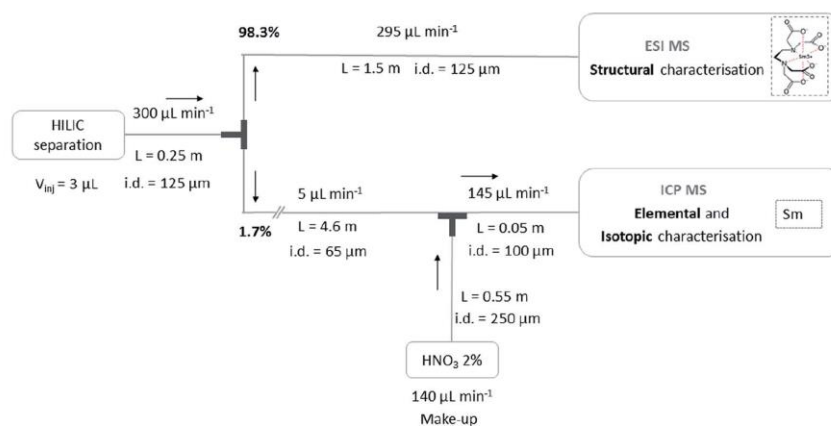


Fig. 1 Schematic representation of the simultaneous coupling of HILIC separation to ESIMS and ICPMS.

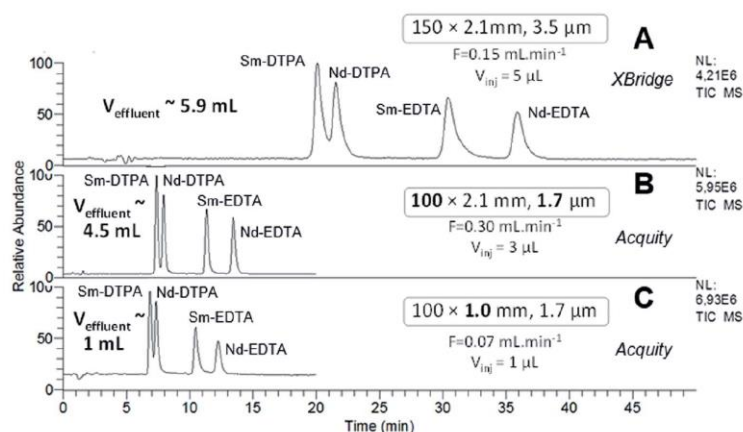


Fig. 2 HILIC separation of Ln species contained in sample 1, in isocratic mode with the three FPP-packed columns. ESI-MS detection with an acquisition in SIM mode, centred on m/z 436 and m/z 537 with a scan width of 20 u.

and to the ICPMS through a $4.6 \text{ m} \times \text{i.d. } 65 \text{ } \mu\text{m}$ tubing on the other hand. Experimental flow rates were $295 \text{ } \mu\text{L min}^{-1}$ for the flow entering the ESIMS and $5 \text{ } \mu\text{L min}^{-1}$ for the flow entering the ICPMS, corresponding to 98.3% for ESIMS and 1.7% for ICPMS. Before entering the ICPMS source, a make-up made of HNO_3 2% was mixed at $140 \text{ } \mu\text{L min}^{-1}$ with the stream at $5 \text{ } \mu\text{L min}^{-1}$ using a mixing tee (Micro Static Mixing Tee Assy, IDEX Health & Science, USA).

Results and discussion

The mobile phase composition was defined in our previous study² on the separation of Ln species by hydrophilic interaction liquid chromatography in isocratic mode, with amide-bonded stationary phase. This mobile phase (70/30 v/v acetonitrile/water, 0.5% v/v formic acid, 15 mM ammonium acetate) was therefore used in the present study.

1. Separation of lanthanide–polyaminocarboxylic species using amide columns packed with fully porous particles (FPP)

The separation of Ln–polyaminocarboxylic species contained in samples 1 and 2 was performed with the XBridge column in narrow-bore format ($150 \times 2.1 \text{ mm}$; $3.5 \text{ } \mu\text{m}$) at the optimal flow rate which was determined in our previous study, *i.e.* $150 \text{ } \mu\text{L min}^{-1}$ (Fig. 2A and 3A). The separation performance was evaluated with the efficiency (N) and the discrimination factor (d_0) values shown in Tables 2 and 3. The discrimination factor was considered instead of the classical resolution R_s because of peak asymmetry. The calculation to obtain N and d_0 are given in the experimental part. As specified in Fig. 2A and 3A, the effluent volumes generated by these separations were higher than 5 mL. A relevant way to reduce the volume of chromatographic effluents while improving the separation efficiency, is to use sub- $2 \text{ } \mu\text{m}$ fully porous particles combined with a reduced

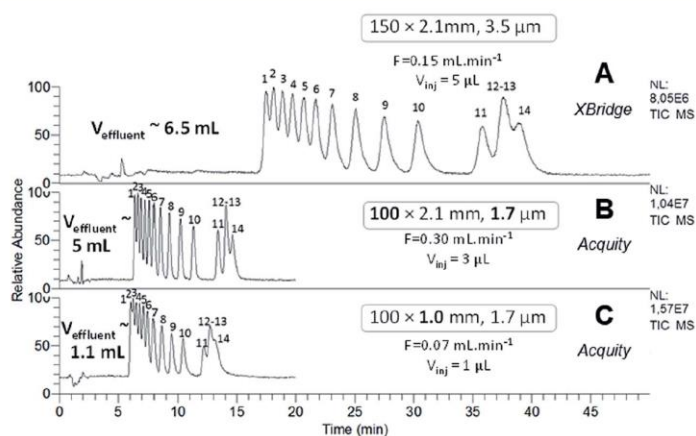


Fig. 3 HILIC separation of Ln species contained in sample 2, in isocratic mode with the three FPP-packed columns. ESI-MS detection with an acquisition in SIM mode, centred on m/z 444 with a scan width of 46 u. Elution order of Ln–EDTA complexes with: (1) Lu, (2) Yb, (3) Tm, (4) Er, (5) Ho, (6) Dy, (7) Tb, (8) Gd, (9) Eu, (10) Sm, (11) Nd, (12) La, (13) Pr, (14) Ce.

Table 2 Chromatographic data (discrimination factor d_0 and efficiency N) associated with sample 1, obtained with FPP-packed columns: XBridge amide column (150 × 2.1 mm; 3.5 μm); Acquity BEH amide column (100 × 2.1 mm; 1.7 μm) and Acquity BEH amide column (100 × 1.0 mm; 1.7 μm). d_0 and N were calculated from the XIC for each species. Flow rate of the mobile phase and injection volume are specified in Table 1 for each column

| | d_0 | | | N | | |
|---------|------------------------|------------------------|------------------------|------------------------|------------------------|------------------------|
| | XBridge i.d. 2.1 mm | Acquity i.d. 2.1 mm | Acquity i.d. 1.0 mm | XBridge i.d. 2.1 mm | Acquity i.d. 2.1 mm | Acquity i.d. 1.0 mm |
| Sm-DTPA | 0.76 | 0.87 | 0.78 | 1937 | 3392 | 2245 |
| Nd-DTPA | 1.00 | 1.00 | 1.00 | 2382 | 3780 | 2364 |
| Sm-EDTA | 1.00 | 1.00 | 1.00 | 1825 | 4952 | 1763 |
| Nd-EDTA | 1.00 | 1.00 | 1.00 | 4810 | 7447 | 3242 |

column length. Therefore, the same experiments were performed with the Acquity column, packed with 1.7 μm particles made of the same material and functionalized with the same amide group as that of the XBridge column. The Acquity column was shorter, but the internal diameter was kept constant (100 × 2.1 mm). According to the rules of geometrical down-scaling²⁶ for isocratic elution mode, the calculated mobile phase flow rate for the Acquity column was 300 μL min⁻¹ and the injection volume was 3 μL, instead of 5 μL for the XBridge column. We

expected the separation process to be 1.5 more efficient and 3 times faster, as well as around 30% less waste volume with the Acquity column. The chromatograms obtained for the two samples are given in Fig. 2B and 3B. From these experiments, we can see that decreasing the particle diameter and shortening the column length by switching from the XBridge to the Acquity column, resulted in a separation that was 2.6 times faster, while reducing waste by around 20%, with a maximum volume of 5 mL. For sample 2, the discrimination factor was improved

Table 3 Chromatographic data (discrimination factor d_0 and efficiency N) associated with sample 2, obtained with FPP-packed columns: XBridge amide column (150 × 2.1 mm; 3.5 μm); Acquity BEH amide column (100 × 2.1 mm; 1.7 μm) and Acquity BEH amide column (100 × 1.0 mm; 1.7 μm). d_0 and N were calculated from the XIC for each species. Flow rate of the mobile phase and injection volume are specified in Table 1 for each column

| | d_0 | | | N | | |
|---------|------------------------|------------------------|------------------------|------------------------|------------------------|------------------------|
| | XBridge i.d. 2.1 mm | Acquity i.d. 2.1 mm | Acquity i.d. 1.0 mm | XBridge i.d. 2.1 mm | Acquity i.d. 2.1 mm | Acquity i.d. 1.0 mm |
| Lu-EDTA | 0.34 | 0.48 | 0.14 | 2934 | 5659 | 2864 |
| Yb-EDTA | 0.47 | 0.63 | 0.31 | 3938 | 5836 | 3742 |
| Tm-EDTA | 0.55 | 0.72 | 0.41 | 2839 | 6248 | 2649 |
| Er-EDTA | 0.57 | 0.77 | 0.47 | 2311 | 3675 | 3703 |
| Ho-EDTA | 0.62 | 0.82 | 0.55 | 3160 | 6546 | 2882 |
| Dy-EDTA | 0.81 | 0.94 | 0.75 | 3390 | 6300 | 3313 |
| Tb-EDTA | 0.94 | 0.98 | 0.92 | 3140 | 6720 | 3142 |
| Gd-EDTA | 0.96 | 0.98 | 0.91 | 3402 | 6632 | 2810 |
| Eu-EDTA | 0.97 | 0.99 | 0.90 | 2976 | 6798 | 2253 |
| Sm-EDTA | 1.00 | 1.00 | 0.84 | 2881 | 7386 | 1817 |
| Nd-EDTA | 0.65 | 0.87 | 0.35 | 3192 | 7238 | 1776 |
| La-EDTA | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 2337 | 2178 | 973 |
| Pr-EDTA | 0.15 | 0.37 | 0.03 | 1771 | 4308 | 956 |
| Ce-EDTA | | | | 2904 | 5400 | 918 |

about 1.5 times with the Acquity column (Table 3). For the two samples, the separation efficiency provided by the Acquity column was around 2 times higher than for the XBridge (Tables 2 and 3), which is higher than expected. By calculating N values per meter, the Acquity column was even around 3 times more efficient than the XBridge column. The difference between theoretical and experimental values regarding efficiency, duration and effluent volumes provided by the separations, may be explained by a slight difference in packing quality and functionalization degree between both columns. Overall, our results are in agreement with the trends observed in the literature based on the comparison of the XBridge (150 × 2.1 mm; 3.5 μm) and the Acquity (100 × 2.1 mm; 1.7 μm) columns packed with silica hybrid FPPs for the HILIC separation of polar organic compounds.^{27,28} The authors found that the analysis time was divided by a factor 3 with the Acquity column, achieving the same plate count N as with the XBridge column.

In order to further reduce the effluent volumes and sample consumption, we used the Acquity column in micro-bore format with an internal diameter of 1 mm, keeping the length and the particle size constant, *i.e.* 100 mm and 1.7 μm respectively. Using the equations of geometrical down-scaling,²⁶ the adjusted flow rate was found to be 70 μL min⁻¹. We expected a similar analysis time and separation efficiency as those obtained with the 100 × 2.1 mm Acquity column, but a waste volume around 80% lower. A sample volume of 1 μL was injected instead of the 0.7 μL theoretical one, since it is the smallest volume that can be injected with the autosampler in question. Since extra-column volumes could have a significant impact on band broadening when reducing the internal diameter of the column, we minimized the length and the internal diameter of the connectors, and bypassed the UV detector and the diverting valve. The resulting chromatograms are shown in Fig. 2C and 3C. For the two samples and in agreement with the theoretical values, the Acquity column in micro-bore format generated a waste volume of around 1 mL, which is around 80% less than that produced with the Acquity column with an inner diameter of 2.1 mm, and the separation durations were similar. Unfortunately, the separation efficiencies were degraded by a factor of at least 2 for the two samples and poor discrimination factors were obtained for the Ln-EDTA complexes contained in sample 2 (Tables 2 and 3). The advantages expected by reducing the column's inner diameter to 1 mm could not fully be exploited despite minimizing the extra-column volumes and using UHPLC instrumentation which is designed to provide the smallest dead volumes. Some papers have stressed the detrimental impact of extra-column effects on the efficiency of sub-2 μm FPP-packed columns with an internal diameter of 1.0 mm, and operating with an UHPLC system.^{29,30} The major source of dispersion has been attributed to the connectors interfacing with the chromatographic instrument and the mass spectrometer.^{31,32}

To summarize, among the FPP-packed columns, the Acquity BEH amide (100 × 2.1 mm; 1.7 μm) provided the best trade-off between separation efficiency, discrimination factor, analysis time and waste volume produced. With this stationary phase, it must be pointed out that some Ln complexes were not separated with a return to the baseline, including d_0 values less than

1. However, we were able to extract the mass spectra from the co-eluted or partially co-eluted peaks, allowing the unambiguous identification of the species. Another remarkable point is that the highest pressure reached only 240 bar, in agreement with the limited impact of decreasing the particle diameter on the pressure in hydrophilic interaction liquid chromatography. Since mobile phases contain a significant fraction of organic solvent, less viscous than water, lower pressures are reached compared with RPLC. This advantage makes it possible to use longer columns or to couple two columns in hydrophilic interaction liquid chromatography, for applications requiring high resolution,²⁷ but at the cost of producing more effluent.

2. Lanthanide polyaminocarboxylic species separation using amide columns with superficially porous particles (SPP)

SPPs are composed of a solid core surrounded by a porous shell, showing restricted axial diffusion associated with the lower internal porosity of the particles.³³ SPPs also show reduced dispersion and band broadening consistent with a narrow particle size distribution, as well as improved mass transfer from shorter diffusion path lengths through the porous layer.³³ Because of these features, SPP-packed columns are expected to provide similar or better performance levels than those of sub-2 μm FPP-packed columns, while generating lower back-pressures.^{34,35} Several generations of shell particles have been marketed in various diameters but fit especially with RPLC applications,^{5,6} while the variety and the size of polar shell particles are more restricted for the hydrophilic interaction liquid chromatography.¹⁸ In our study, we intended to follow the same approach with the SPP-packed columns as with the FPP-packed columns. However, the smallest diameter of amide-bonded SPPs on the market was 2.6 μm and the smallest internal diameter of columns packed with these particles for a use with an UHPLC system, was 2.1 mm. Therefore, we were able to use only 2.1 mm i.d. amide columns of different lengths, and packed with SPP of 2.6 μm. Several tests were conducted with a Sunshell column (100 × 2.1 mm; 2.6 μm) (Table 1), at 300 μL min⁻¹ for a first fast screening. DTPA-complexes were not observable and the heavier EDTA-complexes, containing elements ranging from Tb to Lu, eluted at a shorter time of 27 minutes, while the lighter complexes were too retained. Neither increasing the elution strength by increasing the water percentage, nor increasing the salt concentration, allowed us to improve the quality of the separations. These results highlighted the extremely retentive property of this stationary phase, which could be attributed to the silica-based packing material, together with the structure of the grafted chemical group. This latter is a primary amide that contains a hydrophilic group on the carbonyl function, rendering the stationary phase more polar than the common amide columns. This Sunshell stationary phase was therefore unsuitable for our applications. The Accucore column (150 × 2.1 mm; 2.6 μm) (Table 1), was then tested and revealed retention times comparable to those obtained with the FPP-packed columns. The optimal flow rate was found to be 150 μL min⁻¹ as can be seen in the associated Knox plot (Fig. 4). A non-flat plot at higher flow rates was

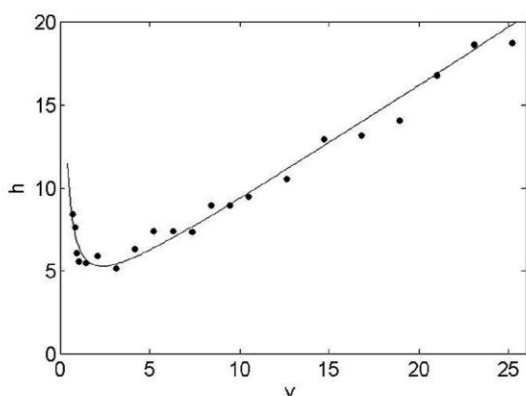


Fig. 4 Experimental Knox curve obtained with the SPP-packed column Accucore-amide (150×2.1 mm; $2.6 \mu\text{m}$). h represents the height equivalent to a reduced theoretical plate and v the reduced linear velocity.

obtained, reflecting a loss of efficiency for flow rates above the optimal value. This is unusual with shell particles, since one of the well-known properties of the SPP-packed columns is to easily operate at high flow rates without losing separation efficiency.³³ The lower efficiencies observed at higher flow rates have been explained by the complex mechanism of the HILIC separation mode and the associated mobile phase compositions.³⁶ The water layer adsorbed at the surface of the stationary phase, combined with the adsorption and/or electrostatic interaction of analytes with the stationary phase, result in decreased diffusivity and greater resistance to the mass transfer, which in turn adversely affect the separation efficiencies.^{27,28,37} It must be pointed out that we obtained the same results with the XBridge column packed with FPPs (data not shown), indicating that the decrease in efficiency with the increasing mobile phase flow rate can be assigned to the features of the HILIC mechanism rather than to the particle technology and the support material. Furthermore, we have

shown that with amide-bonded stationary phases,² an adsorption mechanism played an important role in the HILIC retention of the Ln species, which likely promoted the non-flat trend at high flow rates. Overall, our results confirm that the gains offered by the SPP technology, in connection with an improved mass transfer and shorter path length at higher flow rates, are not clear-cut in hydrophilic interaction liquid chromatography.

The chromatograms of the two samples were recorded with Accucore columns of lengths of 150 and 100 mm at $150 \mu\text{L min}^{-1}$. The length and the diameter of the tubing connections had to be minimized to avoid dispersion of the chromatographic peak. As could be expected, the 100 mm column generated around 30% less effluent than the 150 mm column (data not shown), but with a loss of separation efficiency by at least a factor of 1.5. Since this parameter is essential and must be retained or even improved, the sub- $3 \mu\text{m}$ SPP-packed column Accucore (150×2.1 mm; $2.6 \mu\text{m}$) was used for the comparative study with the Acquity column.

3. Comparison of sub- $2 \mu\text{m}$ FPP and sub- $3 \mu\text{m}$ SPP technologies for lanthanide polyaminocarboxylic species separation by HILIC

The chromatograms of the two samples obtained using sub- $2 \mu\text{m}$ FPP and sub- $3 \mu\text{m}$ SPP-packed columns, the Acquity (100×2.1 mm; $1.7 \mu\text{m}$) and the Accucore (150×2.1 mm; $2.6 \mu\text{m}$), at their respective optimal flow rates, are shown in Fig. 5 and 6. Considering the differences in column lengths and flow rates, the separations carried out with the SPP-packed Accucore column were three times more time-consuming and generated around 30% more waste than the FPP-packed Acquity column. Moreover, the Accucore column was about two times less efficient than the Acquity column (Tables 4 and 5). By working with columns of the same dimensions (100×2.1 mm) and at the same flow rate of $300 \mu\text{L min}^{-1}$, we obtained slightly longer separations and slightly higher effluent volumes for the Accucore column compared with the Acquity column (data not shown). The two stationary phases were made of different packing material, which was untreated bare silica for the

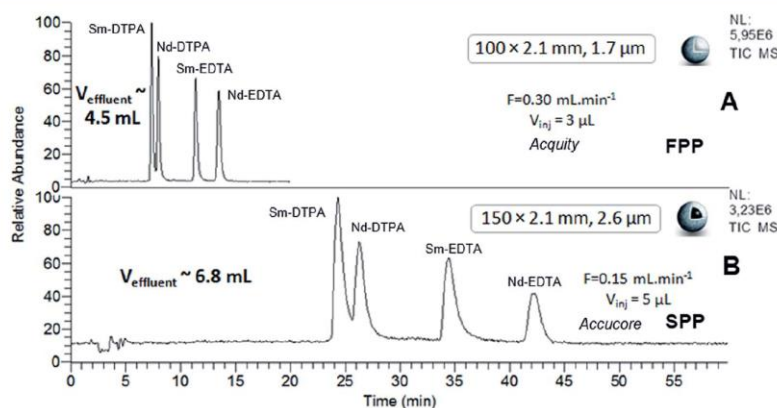


Fig. 5 HILIC separation of Ln species contained in sample 1, in isocratic mode with sub- $2 \mu\text{m}$ FPP- and sub- $3 \mu\text{m}$ SPP-packed columns. ESI-MS detection with an acquisition in SIM mode, centred on m/z 436 and m/z 537 with a scan width of 20 u.

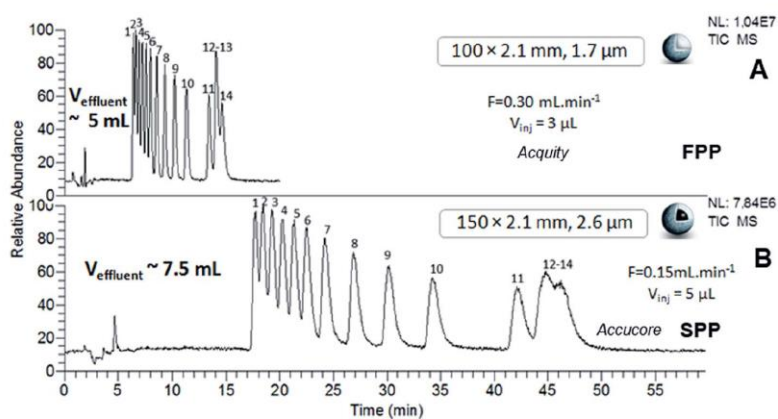


Fig. 6 HILIC separation of Ln species contained in sample 2, in isocratic mode with sub-2 μm FPP- and sub-3 μm SPP-packed columns. ESI-MS detection with an acquisition in SIM mode, centred on m/z 444 with a scan width of 46 u. Elution order of Ln-EDTA complexes with: (1) Lu, (2) Yb, (3) Tm, (4) Er, (5) Ho, (6) Dy, (7) Tb, (8) Gd, (9) Eu, (10) Sm, (11) Nd, (12) La, (13) Pr, (14) Ce.

Accucore column and hybrid material for the Acquity column. This resulted in a lower retention capability and therefore less waste production for the latter. In these conditions, the sub-3 μm SPP-packed Accucore column also provided less efficient separations than the sub-2 μm FPP-packed Acquity column, despite the reduction in the extra-column volumes for the former column. These results are not consistent with what could be expected at least in RPLC, since it is well-recognized that sub-3 μm shell particles generally generate at least an equivalent efficiency level to that of the sub-2 μm porous particles, while inducing lower pressure and solvent consumption.³⁴ Studies comparing polar SPP- and FPP-packed columns in hydrophilic interaction liquid chromatography are not as widespread, and almost always limited to silica-based stationary phases and exclusively for organic compound separation.^{36–40} With columns of the same dimensions, using shell technology led to higher efficiency levels than with porous particles, with shorter analysis times.³⁶ This has particularly been observed for underivatized silica columns packed with SPPs and FPPs with comparable sub-2 μm diameters.³⁷ By contrast, in the study evaluating hybrid and nude silica-based

columns of the same dimensions and packed with sub-2 μm FPPs and sub-3 μm SPPs, the shell technology was shown to be 30% less efficient regarding the HILIC separation of organic compounds exhibiting different properties.³⁹ The authors attributed this result to the different quality of the column packing, the different support material and the complex mechanism of hydrophilic interaction liquid chromatography. Our results are in agreement with the latter study and similar explanations can be provided to interpret them. In spite of the benefits claimed for the shell technology, our work shows that sub-2 μm FPPs are most suited for achieving the best trade-off between efficiency, discrimination factor, analysis time and effluent volumes regarding the HILIC separation of Ln-poly-aminocarboxylic species. Separation levels reached by the FPP-packed Acquity column (100 \times 2.1 mm; 1.7 μm) were two times more efficient than those obtained with the SPP-packed Accucore column (150 \times 2.1 mm; 2.6 μm), and three times more efficient when using N values per meter. The Acquity column also generated around 30% less waste, lower than 5 mL, in three times shorter analysis time, *i.e.* a maximum of 15 minutes. In addition, thanks to the HILIC mobile phase composition, the

Table 4 Chromatographic data (discrimination factor d_0 and efficiency N) associated with sample 1, obtained with the SPP-packed Accucore-amide column (150 \times 2.1 mm; 2.6 μm) and FPP-packed Acquity BEH amide column (100 \times 2.1 mm; 1.7 μm). d_0 and N were calculated from the XIC for each species. Flow rate of the mobile phase and injection volume are specified in Table 1 for each column

| | d_0 | | N | |
|---------|--|---|--|---|
| | Accucore 150 \times 2.1 mm; 2.6 μm | Acquity 100 \times 2.1 mm; 1.7 μm | Accucore 150 \times 2.1 mm; 2.6 μm | Acquity 100 \times 2.1 mm; 1.7 μm |
| Sm-DTPA | | | 1348 | 3392 |
| Nd-DTPA | 0.74 | 0.87 | 1771 | 3780 |
| Sm-EDTA | 1.00 | 1.00 | 2034 | 4952 |
| Nd-EDTA | 1.00 | 1.00 | 5377 | 7447 |

Table 5 Chromatographic data (discrimination factor d_0 and efficiency N) associated with sample 2, obtained with SPP-packed Accucore-amide column (150 × 2.1 mm; 2.6 μm) and FPP-packed Acquity BEH amide column (100 × 2.1 mm; 1.7 μm). d_0 and N were calculated from the XIC for each species. Flow rate of the mobile phase and injection volume are specified in Table 1 for each column

| | d_0 | | N | |
|---------|----------------------------------|---------------------------------|----------------------------------|---------------------------------|
| | Accucore 150 × 2.1 mm; 2.6 μm | Acquity 100 × 2.1 mm; 1.7 μm | Accucore 150 × 2.1 mm; 2.6 μm | Acquity 100 × 2.1 mm; 1.7 μm |
| Lu-EDTA | | | 2498 | 5659 |
| Yb-EDTA | 0.47 | 0.48 | 3658 | 5836 |
| Tm-EDTA | 0.57 | 0.63 | 2575 | 6248 |
| Er-EDTA | 0.66 | 0.72 | 2606 | 3675 |
| Ho-EDTA | 0.70 | 0.77 | 2773 | 6546 |
| Dy-EDTA | 0.73 | 0.82 | 2912 | 6300 |
| Tb-EDTA | 0.88 | 0.94 | 2982 | 6720 |
| Gd-EDTA | 0.93 | 0.98 | 2839 | 6632 |
| Eu-EDTA | 0.96 | 0.98 | 2648 | 6798 |
| Sm-EDTA | 0.96 | 0.99 | 2666 | 7386 |
| Nd-EDTA | 0.98 | 1.00 | 2574 | 7238 |
| La-EDTA | 0.82 | 0.87 | 2237 | 2178 |
| Pr-EDTA | 0.00 | 0.00 | 2691 | 4308 |
| Ce-EDTA | 0.04 | 0.37 | 3043 | 5400 |

back-pressure did not exceed 240 bar even using sub-2 μm FPP particles, which is particularly interesting to implement chromatographic separations in glove box for the study of radioactive samples.

4. Simultaneous coupling of HILIC separation to ESIMS and ICPMS

The selected Acquity column was used to perform the simultaneous coupling to ESIMS and ICPMS (Fig. 1). This single-step approach exhibits outstanding advantages. Firstly, comprehensive speciation information can be collected through the simultaneous acquisition of structural, elemental and isotopic data. Secondly, an additional decrease in the overall effluent volumes, sample consumption and analysis times is afforded with respect to independent coupling experiments. All these advantages are of prime importance, in particular for nuclear applications.

Fig. 7A and B shows the chromatograms of the sample containing the entire series of Ln-EDTA complexes, recorded simultaneously by ESIMS and ICPMS. Each Ln-EDTA species was identified by ESIMS through the extraction of the mass spectra from the chromatographic peaks and by comparison with the theoretical isotopic patterns of the species (Fig. 7A). ICPMS allowed us to monitor the Ln isotopes contained in the species associated with each chromatographic peak (Fig. 7B).

The ICPMS chromatographic profiles were comparable to those obtained by ESIMS, but with a 2.4 minutes delay due to the difference in the connector lengths from the outlet of the column to the ICPMS on the one hand, and to the ESIMS in the other hand. The separation efficiencies calculated with ESIMS and ICPMS chromatograms were comparable. These preliminary results demonstrate that the 4.6 m tubing with a small inner diameter of 65 μm made it possible to compensate the performance loss expected with such connector lengths, which is paramount to implement this coupling with instruments equipped with glove boxes. As indicated above, in addition to species identification, comprehensive speciation includes both quantitative and isotopic measurements of separated species. The associated analytical methods are currently under development. It must be noted that because of the numerous Ln industrial applications, the separation of the series of lanthanide ions has been reported with other separation techniques such as ionic chromatography,⁴¹ ion pairing reversed-phase chromatography,⁴² capillary electrophoresis⁴³ and isotachopheresis.⁴⁴ All these techniques require the addition of ion pairing and/or complexing agents in the mobile phases for Ln elution and the use of complexing agents as constituents of background electrolyte to insure differential Ln migration. To the best of our knowledge, this is the first time that the separation of the entire series of Ln chemical species is performed in

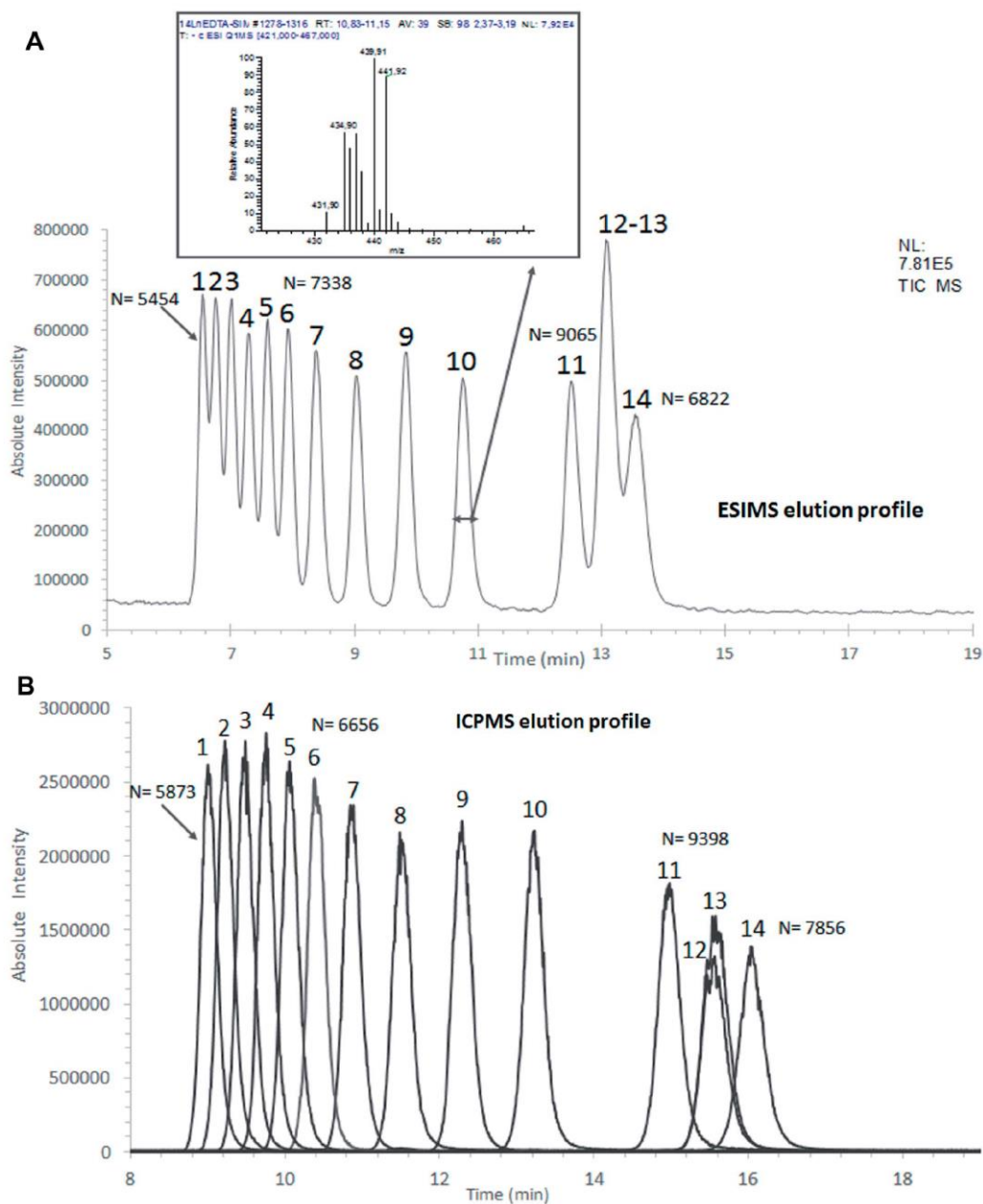


Fig. 7 HILIC separation of Ln species contained in sample 2, in isocratic mode with the FPP-packed column Acquity BEH amide (100×2.1 mm; $1.7 \mu\text{m}$). (A) ESI MS detection with an acquisition in SIM mode centred on m/z 444 with a scan width of 46 u. Elution order of Ln-EDTA complexes with: (1) Lu, (2) Yb, (3) Tm, (4) Er, (5) Ho, (6) Dy, (7) Tb, (8) Gd, (9) Eu, (10) Sm, (11) Nd, (12) La, (13) Pr, (14) Ce. (B) ICP MS detection, by monitoring the most abundant lanthanide in each species. The corresponding intensities were normalized to 100%. Elution order (relative abundance indicated in brackets): (1) ^{175}Lu [97.4%], (2) ^{172}Yb [21.8%], (3) ^{169}Tm [100%], (4) ^{166}Er [33.5%], (5) ^{165}Ho [100%], (6) ^{163}Dy [24.9%], (7) ^{159}Tb [100%], (8) ^{156}Gd [20.5%], (9) ^{153}Eu [52.2], (10) ^{152}Sm [26.8%], (11) ^{146}Nd [17.2%], (12) ^{139}La [99.9%], (13) ^{141}Pr [100%], (14) ^{140}Ce [88.5%]. N was calculated for each species based on the extracted ion chromatogram.

hydrophilic interaction liquid chromatography and isocratic mode. This is a great advantage since this separation technique can be directly coupled with ICPMS and ESIMS, without requiring the addition of any extra reagent in the mobile phase or after separation in order to be compatible with the mass spectrometers.

Conclusion

Amide-bonded columns packed with FPPs and SPPs were evaluated for the separation of Ln-polyaminocarboxylic species by hydrophilic interaction liquid chromatography. The efficiency, discrimination factor, analysis time and effluent volumes yielded by 3.5 μm FPP-packed columns were compared with those obtained with sub-2 μm FPP- and sub-3 μm SPP-packed columns. Regarding the FPP technology, the gains afforded by decreasing the particle size, column length and internal diameter were assessed, leading to the selection of the Acquity (100 \times 2.1 mm; 1.7 μm) column. For the SPP-packed columns, the most satisfactory conditions were obtained with the Accucore column (150 \times 2.1 mm; 2.6 μm). By comparing the two technologies, an efficiency level multiplied by a factor two, an analysis time three times shorter and around 30% less effluent waste were obtained with the sub-2 μm FPP Acquity column compared with the sub-3 μm SPP Accucore column, demonstrating that the totally porous technology was the most suitable for our purpose. Such an approach, *i.e.* evaluating sustainable chromatographic techniques, had never been undertaken for speciation analysis, by investigating the separation of metal species by hydrophilic interaction liquid chromatography. Finally, we selected the Acquity column for simultaneous coupling to ICPMS and ESIMS in order to carry out speciation studies of lanthanides in a single step. The instrumental set-up was implemented in a conventional laboratory using the sample containing the entire series of Ln-EDTA complexes, taking into account the geometrical constraints existing in the laboratory dedicated to radioactive sample analysis. The separation of the entire Ln series under their complexed forms, in hydrophilic interaction liquid chromatography and isocratic mode, was demonstrated for the first time. The next stage will involve developing isotopic measurements and quantification methods. Simultaneous coupling will then be implemented in glove box for the speciation analysis of radioelements.

Conflicts of interest

There are no conflicts of interest to declare.

Acknowledgements

The authors acknowledge CEA for financial support.

References

- 1 C. J. Welch, N. Wu, M. Biba, R. Hartman, T. Brkovic, X. Gong, R. Helmy, W. Schafer, J. Cuff and Z. Pirzada, *TrAC, Trends Anal. Chem.*, 2010, **29**, 667.
- 2 L. Beuvier, C. Bresson, A. Nonell, L. Vio, N. Henry, V. Pichon and F. Chartier, *RSC Adv.*, 2015, **5**, 92858.
- 3 A. I. Olives, V. González-Ruiz and M. A. Martín, *ACS Sustainable Chem. Eng.*, 2017, **5**, 5618.
- 4 F. T. Mattrey, A. A. Makarov, E. L. Regalado, F. Bernardoni, M. Figus, M. B. Hicks, J. Zheng, L. Wang, W. Schafer, V. Antonucci, S. E. Hamilton, K. Zawatzky and C. J. Welch, *TrAC, Trends Anal. Chem.*, 2017, **95**, 36.
- 5 N. Tanaka and D. V. McCalley, *Anal. Chem.*, 2016, **88**, 279.
- 6 S. Fekete, E. Olah and J. Fekete, *J. Chromatogr. A*, 2012, **1228**, 57.
- 7 E. M. Borges, M. A. Rostagno and M. A. A. Meireles, *RSC Adv.*, 2014, **4**, 22875.
- 8 K. M. Kalili, D. Cabooter, G. Desmet and A. de Villiers, *J. Chromatogr. A*, 2012, **1236**, 63.
- 9 V. R. J. Acquaro, F. M. Lancas and M. E. Queiroz, *J. Chromatogr. B: Anal. Technol. Biomed. Life Sci.*, 2017, **1048**, 1.
- 10 J. J. DeStefano, B. E. Boyes, S. A. Schuster, W. L. Miles and J. J. Kirkland, *J. Chromatogr. A*, 2014, **1368**, 163.
- 11 J. Koster, R. Shi, N. von Wiren and G. Weber, *J. Chromatogr. A*, 2011, **1218**, 4934.
- 12 L. Telgmann, M. Sperling and U. Karst, *Anal. Chim. Acta*, 2013, **764**, 1.
- 13 J. Künnemeyer, L. Terborg, S. Nowak, A. Scheffer, L. Telgmann, F. Tokmak, A. Günzel, G. Wiesmüller, S. Reichelt and U. Karst, *Anal. Chem.*, 2008, **80**, 8163.
- 14 C. S. Kesava Raju, A. Cossmer, H. Scharf, U. Panne and D. Lück, *J. Anal. At. Spectrom.*, 2010, **25**, 55.
- 15 M. Birka, C. A. Wehe, O. Hachmoller, M. Sperling and U. Karst, *J. Chromatogr. A*, 2016, **1440**, 105.
- 16 F. Xie, P. Colin and J. Van Bocxlaer, *Talanta*, 2017, **174**, 171.
- 17 A. Periat, B. Debrus, S. Rudaz and D. Guillaume, *J. Chromatogr. A*, 2013, **1282**, 72.
- 18 L. Nováková, L. Havlíková and H. Vlčková, *TrAC, Trends Anal. Chem.*, 2014, **63**, 55.
- 19 M. Birka, C. A. Wehe, L. Telgmann, M. Sperling and U. Karst, *J. Chromatogr. A*, 2013, **1308**, 125.
- 20 A. Fisher and D. Kara, *Anal. Chim. Acta*, 2016, **935**, 1.
- 21 M. K. Jha, A. Kumari, R. Panda, J. Rajesh Kumar, K. Yoo and J. Y. Lee, *Hydrometallurgy*, 2016, **161**, 77.
- 22 M. El Fallah and M. Martin, *Chromatographia*, 1987, **24**, 115.
- 23 J. P. Foley and J. G. Dorsey, *Anal. Chem.*, 1983, **55**, 730.
- 24 A. Leclercq, A. Nonell, J. L. Todolí Torro, C. Bresson, L. Vio, T. Vercouter and F. Chartier, *Anal. Chim. Acta*, 2015, **885**, 33.
- 25 A. Leclercq, A. Nonell, J. L. T. Torró, C. Bresson, L. Vio, T. Vercouter and F. Chartier, *Anal. Chim. Acta*, 2015, **885**, 57.
- 26 D. Guillaume, D. T.-T. Nguyen, S. Rudaz and J.-L. Veuthey, *Eur. J. Pharm. Biopharm.*, 2007, **66**, 475.
- 27 H. Song, E. Adams, G. Desmet and D. Cabooter, *J. Chromatogr. A*, 2014, **1369**, 83.
- 28 J. C. Heaton, X. Wang, W. E. Barber, S. M. Buckenmaier and D. V. McCalley, *J. Chromatogr. A*, 2014, **1328**, 7.
- 29 N. Wu and A. C. Bradley, *J. Chromatogr. A*, 2012, **1261**, 113.
- 30 F. Lestremay, D. Wu and R. Szűcs, *J. Chromatogr. A*, 2010, **1217**, 4925.
- 31 D. Spaggiari, S. Fekete, P. J. Eugster, J.-L. Veuthey, L. Geiser, S. Rudaz and D. Guillaume, *J. Chromatogr. A*, 2013, **1310**, 45.

- 32 M. Rodríguez-Aller, R. Gurny, J. L. Veuthey and D. Guillaume, *J. Chromatogr. A*, 2013, **1292**, 2.
- 33 R. Hayes, A. Ahmed, T. Edge and H. Zhang, *J. Chromatogr. A*, 2014, **1357**, 36.
- 34 V. González-Ruiz, A. I. Olives and M. A. Martín, *TrAC, Trends Anal. Chem.*, 2015, **64**, 17.
- 35 J. J. Kirkland, S. A. Schuster, W. L. Johnson and B. E. Boyes, *J. Pharm. Anal.*, 2013, **3**, 303.
- 36 M. D. Dolzan, D. A. Spudeit, Z. S. Breitbach, W. E. Barber, G. A. Micke and D. W. Armstrong, *J. Chromatogr. A*, 2014, **1365**, 124.
- 37 J. C. Heaton and D. V. McCalley, *J. Chromatogr. A*, 2014, **1371**, 106.
- 38 D. V. McCalley, *J. Chromatogr. A*, 2008, **1193**, 85.
- 39 B. Chauve, D. Guillaume, P. Cleon and J. L. Veuthey, *J. Sep. Sci.*, 2010, **33**, 752.
- 40 D. V. McCalley, in *UHPLC in Life Sciences*, ed. D. Guillaume and J. L. Veuthey, Royal Society of Chemistry, Cambridge, 1st edn, 2012, 6, p. 164.
- 41 T. Ishikawa, K. Sugimoto and K. Nagaishi, *Geochem. J.*, 2003, **37**, 671.
- 42 A. Datta, N. Sivaraman, T. G. Srinivasan and P. R. Vasudeva Rao, *Radiochim. Acta*, 2010, **98**, 277.
- 43 P. Janos, *Electrophoresis*, 2003, **24**, 1982.
- 44 L. Vio, G. Crétier, F. Chartier, V. Geertsen, A. Gourgiotis, H. Isnard, P. Morin and J.-L. Rocca, *J. Anal. At. Spectrom.*, 2012, **27**, 850.