

Analyses basées sur la Mobilité des espèces en solution

I_ Électrophorèse capillaire

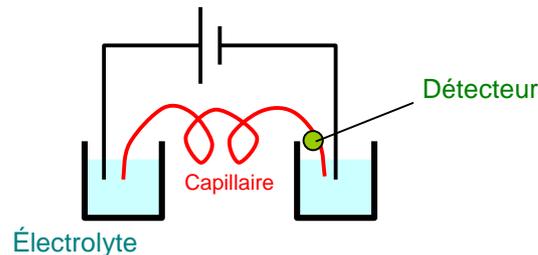
A. Description

1) Matériel

Un **capillaire en silice**, la plupart du temps gainé, d'une longueur L_T de 10 cm à 1 m et d'un diamètre allant de 25 à 75 μm , plonge dans deux solutions électrolytiques auxquelles on applique un courant électrique très fort, de 1 à 25 kV.

Il circule une intensité de 1 à 50 μA en courant continu. L'électrolyte subit donc une électrolyse, il doit être renouvelé. Les électrodes sont en platine pour éviter une dégradation de ceux-ci.

L'enceinte doit être dans une enceinte isolée, car les tensions élevées pourraient créer des arcs électriques, et à température constante car la mobilité dépend de la température.



On place le ou les échantillons sur un plateau tournant qui va successivement les échanger avec l'un des électrolytes. On introduit ensuite de manière contrôlée un volume constant et à vitesse constante dans le capillaire (à peu près 10 μL) par pression ou par gravité.

2) Détection

Un capteur en sortie du capillaire mesure les changements de mobilité, selon une méthode de détection adaptée :

_ par **absorbance** (aux UV), on repère les molécules aromatiques ; c'est la méthode la plus courante

_ par **fluorimétrie**, on excite la molécule puis on mesure l'émission ; cette méthode est plus spécifique et on peut l'utiliser sur des molécules marquées

_ par **conductimétrie**, on mesure la conductivité de la solution, sans même interférer avec celle-ci

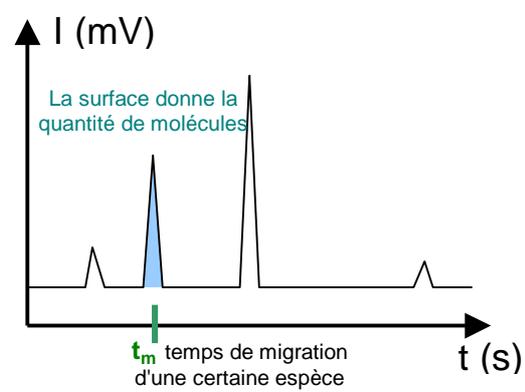
_ par **spectrométrie de masse**, on fait une mesure très précise et très spécifique, mais il faut prélever une petite quantité du liquide.

On récupère une intensité en fonction du temps de migration. À un certain temps de migration correspond le passage d'un type de molécule.

On étalonne avant le détecteur avec une solution de concentration connue.

► **Détection par UV d'une molécule non absorbante**

Il est possible de détecter une molécule non absorbante par détection de l'absorption de la solution. Mais comment ? On utilise en fait un solvant absorbant (souvent CrO_4^-), lorsqu'on détecte une baisse d'absorbance, cela signifie que la molécule est en train de passer (on mesure sa transmittance).



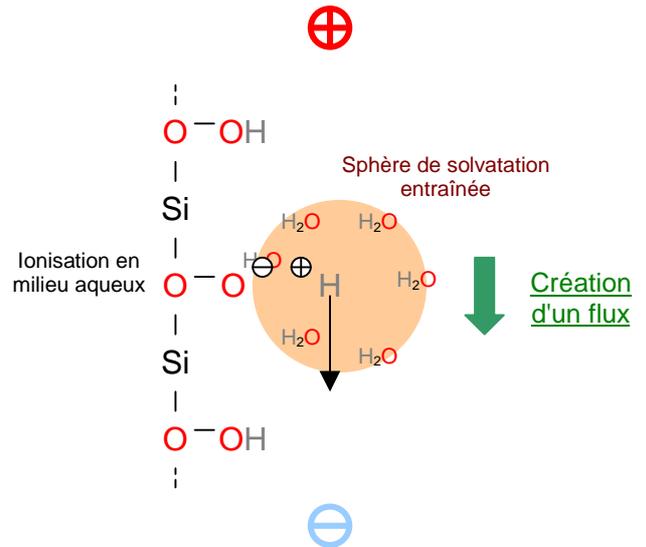
B. Flux électroosmotique

1) Description du phénomène

Une molécule neutre sera déplacée si on place un champ électrique dans le capillaire ; c'est dû au **flux électroosmotique**. En effet des molécules chargées apportées par la silice (H^+) sont déplacées selon le sens du courant.

Celles-ci entraînent avec elles une sphère de solvation qui a pour conséquence la création d'un flux entraînant toutes les molécules du milieu.

La molécule neutre est récupérée au bout du **temps électroosmotique t_{eo}** .



2) Comportement au niveau moléculaire

On observe en fait différents flux dans le tube. Une couche chargée reste adsorbée à la silice tandis qu'une couche en mouvement reste à une certaine distance des bords du tube ; c'est la **couche de Stern**.

On peut mesurer la vitesse de cette couche, qui vaut autour de $\xi \approx 20 \pm 5 \text{ mV}$.

Ainsi une molécule entraînée par ce flux aura une certaine **vitesse électroosmotique**.

$$v_{eo} = \frac{L'}{t_{eo}}$$

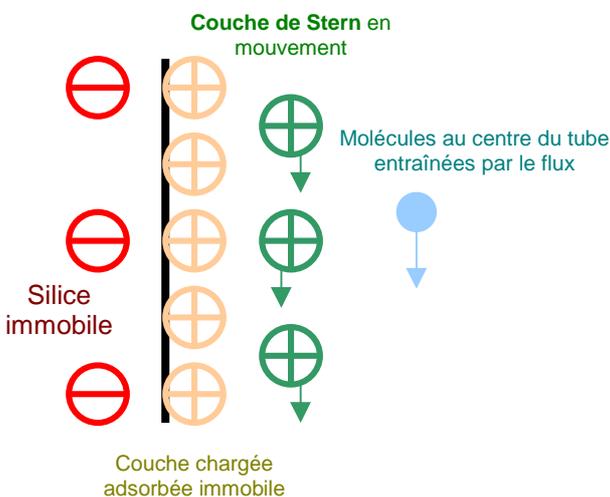
L' est la distance réellement parcourue, soit la distance entre le début du capillaire et le détecteur

On définit alors, à l'instar de la mobilité électrophorétique, une **mobilité électroosmotique μ_{eo}** , qui, pour une espèce donnée, lie sa vitesse de migration en fonction du courant appliqué.

$$\mu_{eo} = \frac{v_{eo}}{E} = \frac{L'}{t_{eo}} \times \frac{1}{E}$$

Sachant que le courant dépend de la différence de potentiel des électrodes et de la distance entre ceux-ci, le temps de migration de l'espèce dépendra de la tension.

$$E = \frac{U}{L_T} \Rightarrow \mu_{eo} = \frac{L' \times L_T}{t_{eo} \times U}$$



De plus la migration dépend aussi des conditions du milieu :

$$\mu_{eo} = 4\pi\epsilon_0 \times \frac{\epsilon_r \xi}{\eta}$$

$4\pi\epsilon_0$ permet de normer l'équation

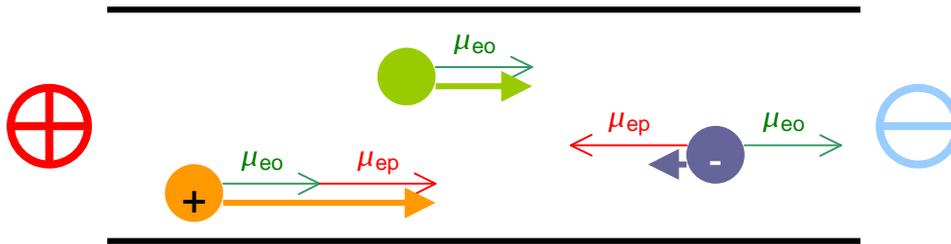
ϵ_r est la constante diélectrique du milieu

ξ est le potentiel accrochant la molécule

η est la viscosité de la solution

3) Mobilité effective (ou apparente)

Ainsi, selon que la molécule soit chargée, elle subira à la fois une mobilité électrophorétique μ_{ep} et électroosmotique μ_{eo} .



molécule neutre $\bar{\mu}_{app} = \bar{\mu}_{ep} + \bar{\mu}_{eo} = \bar{\mu}_{eo}$

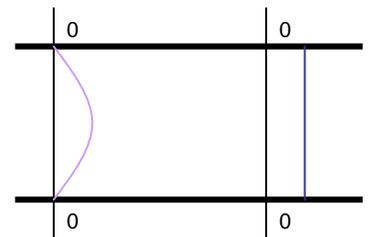
molécule chargée $\bar{\mu}_{app} = \bar{\mu}_{ep} + \bar{\mu}_{eo}$

Remarques : _ Le sens de déplacement de l'anion dépend de la force relative de sa mobilité électrophorétique et électroosmotique.

_ Le sens du flux électroosmotique peut être inversé en changeant la position des électrodes.

4) Profil de flux

Lors d'un *pompage mécanique*, le flux est maximal au centre du tube et nul sur les côtés. Inversement pour un *flux électroosmotique*, le flux est constant sur toute la largeur du tube car ce sont les ions des parois qui entraînent les molécules.



Mécanique Électroosmotique

II Analyse d'un acide faible

Les espèces présentes sont AH, A⁻ et H⁺. On pourrait penser que l'on récupère H⁺, A⁻ puis AH, cependant l'équilibre acido-basique est plus rapide que le flux électroosmotique. On récupère en fait AH et A⁻ en même temps à un temps intermédiaire entre le temps de migration de A⁻ et AH.

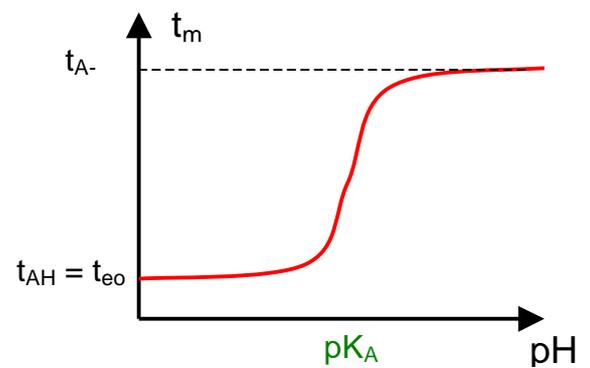
$$\begin{aligned} \mu_{app} &= x_{AH}\mu_{app}(AH) + x_{A^-}\mu_{app}(A^-) = x_{AH}\mu_{eo} + x_{A^-} \left(\overset{\text{sens négatif}}{\mu_{eo} - \mu_{ep}^{A^-}} \right) \\ &= \mu_{eo} \underbrace{(x_{AH} + x_{A^-})}_1 - \mu_{ep}^{A^-} x_{A^-} = \mu_{eo} - \mu_{ep}^{A^-} \frac{[A^-]}{[AH] + [A^-]} = \mu_{eo} - \mu_{ep}^{A^-} \frac{K_A}{[H^+] + K_A} \end{aligned}$$

Le temps de migration dépend de la mobilité :

$$t_m = \frac{L'}{v_m} = \frac{L'}{\mu_{app} \times E}$$

Ainsi quand le pH augmente ($[H^+]$ diminue), μ_{app} diminue et donc le temps de migration augmente, et inversement.

→ On mesure ainsi le pK_A du couple.

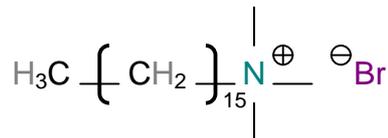


Remarque : la silice possède une **mémoire chimique**, ainsi il est très difficile de répéter les mêmes résultats. Il faut donc changer le capillaire à chaque manipulation.

III Modification et contrôle du flux électroosmotique

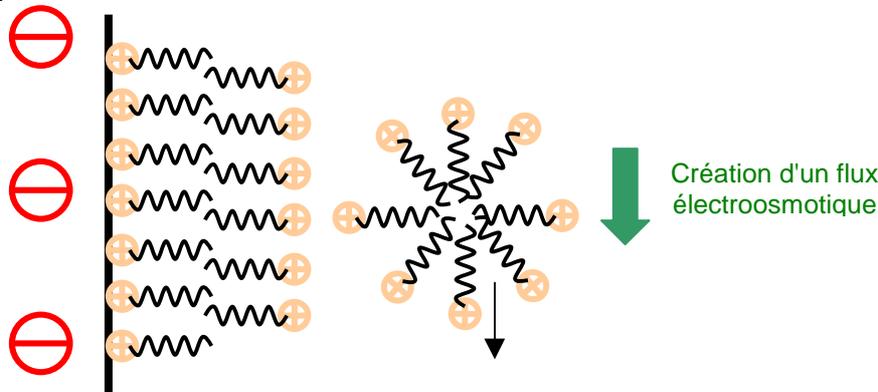
A. Tensioactifs avec micelles

La méthode la plus utilisée consiste à ajouter des **tensioactifs** qui s'adsorbent sur la silice par une interaction électrostatique. On rencontre le plus fréquemment le **CTAB**.



CTAB
 Cétyl Triméthyl Ammonium Bromide

Celui-ci forme alors une bicouche sur les parois de la silice, on a ainsi une surface de charge contrôlée. Le flux électrophorétique est créé par les micelles de tensioactifs.



Il y a cependant des équilibres non contrôlés qui peuvent se produire entre les molécules du milieu et les micelles :

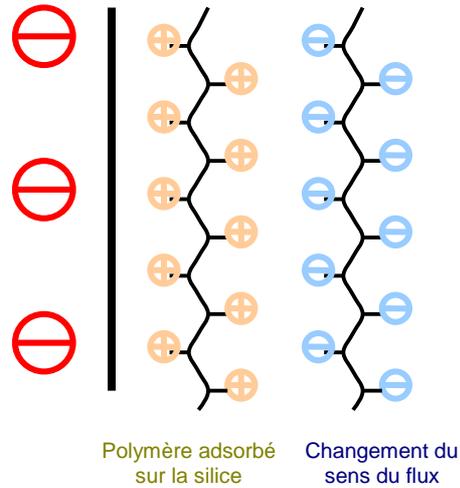
→ les anions peuvent s'adsorber sur les micelles. Cette adsorption est différente selon les anions, la possibilité de séparation augmente.

→ certaines molécules neutres peuvent être faiblement hydrophobes. Il existe alors des constantes de partage différentes en fonction des espèces, la possibilité de séparation augmente.

→ Même si le **pouvoir de séparation augmente**, la **prédictabilité diminue** car tous ces paramètres sont difficiles à prévoir.

B. Polymères chargés

Pour un flux mieux contrôlé, on adsorbe un **polymère** sur la silice (souvent un polyammonium). Aucune micelle de ne se forme et la surface possède une charge contrôlée.



Pour inverser le sens du flux électroosmotique sans changer les électrodes, on peut adsorber sur cette couche un deuxième polymère de charge opposée.

B. Electrochromatographie

On remplit le capillaire par de petites particules de 3 à 5 μm de diamètre, elles-mêmes en silice. Il se forme un flux électroosmotique sur les parois du tube, mais aussi sur les parois de la sphère et même à l'intérieur des sphères par de petits canaux.

On a donc un flux constant sur tout le tube, et une possibilité de séparation plus élevée (molécules piégées dans les canaux).

