

Electrophorèse Capillaire

Licence Métrologie Chimique et Nucléaire

Commissariat à l'énergie atomique et aux énergies alternatives - www.cea.fr

J. AUPIAIS
CEA, DAM, DIF
91297 Arpajon

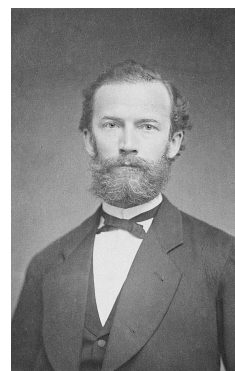
Année	Auteur	Contribution
1791	Faraday	Loi d'électrolyse
1856	Hittorf	Définition du nombre de transport t_+ , t_-
1897	Kohlrausch	Fonction de régulation, migration
1930	Tiselius	Electrophorèse – prix Nobel 1948
1967	Hjertén	Electrophorèse capillaire de zone
1981	Jorgenson	Electrophorèse capillaire (75 μm)
1989		Appareils commerciaux



Hjertén



Tiselius



Kohlrausch

$$m = \frac{Q}{F} \times \frac{M}{z}$$



Faraday

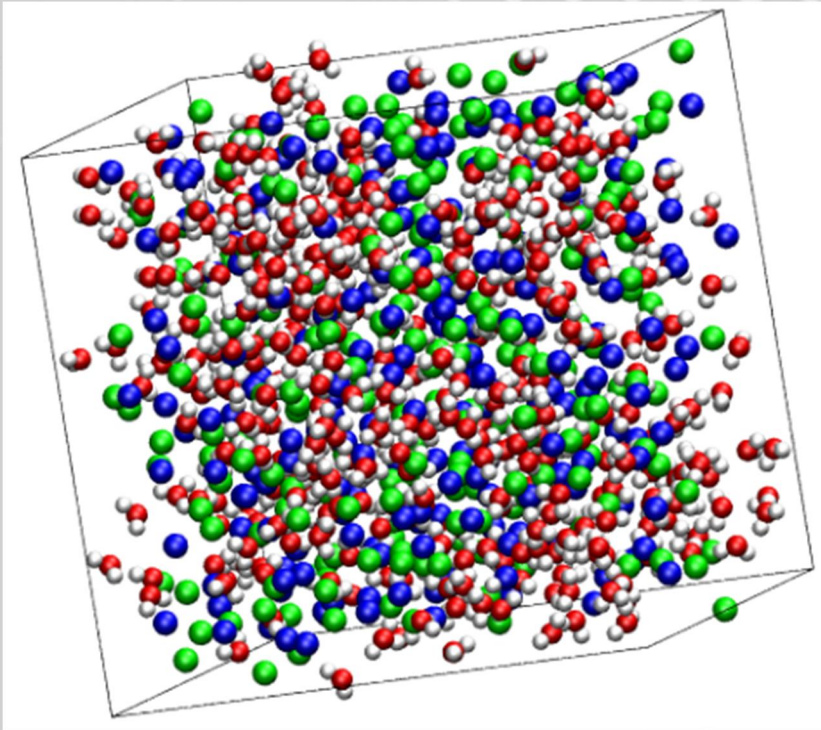
$$t_{+,-} = \frac{v_{+,-}}{v_+ + v_-}$$



Hittorf

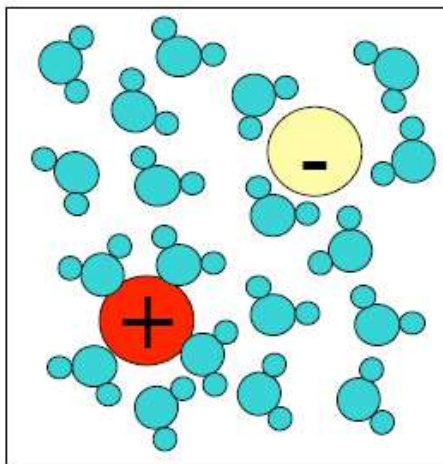
$$\omega(x) = \sum_i \frac{c_i(x) z_i}{|\mu_i|}$$

- Capillaire 20 – 100 μm diamètre interne
- Tension 0 -30 kV (jusqu'à 500 V/cm)
- Effet Joule limite la tension maximale
- Très grande efficacité ($N > 10^5 - 10^6$)
- Temps d'analyse court
- Détection *in situ* miniaturisée (DAD, LIF, Abs.) ou *ex situ* (MS)
- Faible quantité injectée (1 – 50 nL)
- Opère en phase aqueuse ou organique
- Très automatisé

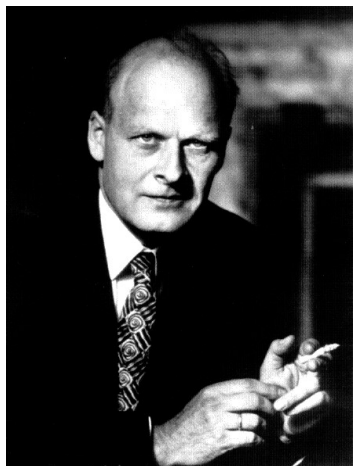


Solution aqueuse de CsCl 1 mol.L⁻¹, 27 molécules d'eau pour un ion.

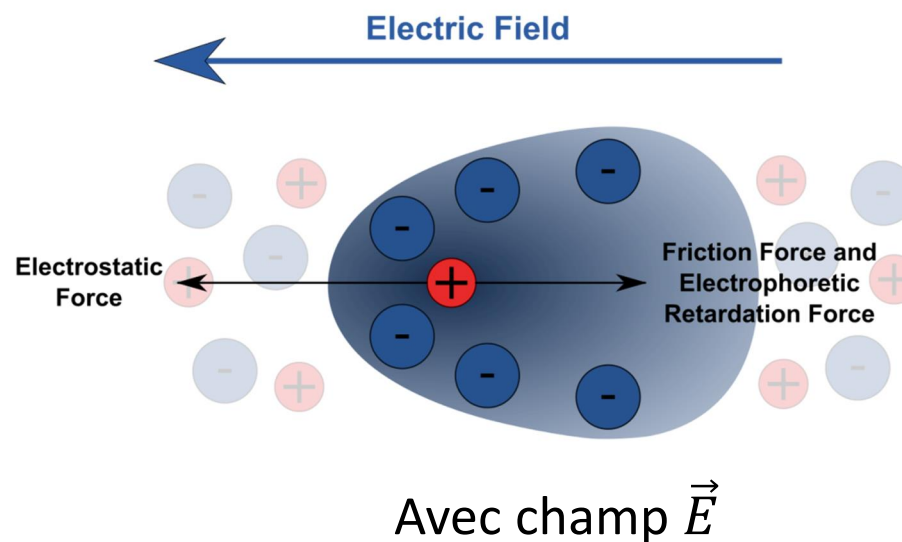
Aspects théoriques



Sans champ \vec{E}



Onsager



Avec champ \vec{E}

Les ions sont des particules chargées entourées d'une atmosphère ionique mais ils ont aussi un mouvement brownien

En appliquant une différence de potentiel V entre deux électrodes distantes de d , on crée un champ électrique:

$$E = \frac{V}{d} \text{ (V} \cdot \text{cm}^{-1}\text{)}$$

La force électrique qui s'exerce sur un ion de charge $z_i e$ soumis au champ E , sera donnée par :

$$\mathbf{F} = z_i \cdot e \cdot \mathbf{E}$$

Dans un liquide de viscosité η , la force de frottement est donnée par la **loi de Stokes**, où r est le rayon de l'ion hydraté.

$$\mathbf{F} = 6\pi \cdot \eta \cdot r \cdot \mathbf{v}$$

L'équilibre est rapidement atteint entre la force de frottement et l'accélération par le champ électrique tel que l'ion atteint instantanément une vitesse uniforme v_0 :

$$z_i \cdot e \cdot E = 6\pi \cdot \eta \cdot r \cdot v_0$$

$$\text{D'où : } v_0 = \frac{z_i \cdot e \cdot E}{6\pi \cdot \eta \cdot r_i}$$

Puisque la mobilité est définie comme : $\mu_i = \frac{v_0}{E}$

$$\mu_i = \frac{z_i \cdot e}{6\pi \cdot \eta \cdot r_i} \text{ (m}^2\text{V}^{-1}\text{s}^{-1}\text{)}$$

Dépendances multiples :

- *force ionique, viscosité, température, permittivité électrique.*

Domaine de validité pour les théories de transport des ions : $I < 0,1$ M, pas de formule explicite aux concentrations supérieures.

Traitement de Onsager & Fuoss (pour un nombre quelconque d'ions):

$$\mu(I) = \mu_0 \left(\frac{e^3}{12\pi} \sqrt{\frac{N_{AV}}{(\epsilon kT)^3}} \cdot z \cdot \mu_0 \sum_{n=0}^{\infty} C_n R^{(n)} + \frac{e^2}{6\pi\eta} \sqrt{\frac{N_{AV}}{\epsilon kT}} |z| \right) \frac{\sqrt{I}}{1 + \frac{Ba}{\sqrt{2}} \sqrt{I}}$$

Effet de Relaxation

(correction électrostatique)

= freinage électrostatique dû à l'atmosphère ionique

Effet Electrophorétique

(correction hydrodynamique)

= freinage hydrodynamique dû à la friction

Exemples – quelques valeurs de μ_0 pour les cations

H	Electrophoretic mobility (x 10 ⁹ m ² V ⁻¹ s ⁻¹) 25°C, I = 0 Cation																He					
362.51 ₈	Li	Be															B	C	N	O	F	Ne
40.10 ₂	46.2															Al	Si	P	S	Cl	Ar	
51.94 ₂	55.31 ₄															63.7 ₁₉						
K	Ca	Sc	Ti	V	Cr	Mn	Fe	Co	Ni	Cu	Zn	Ga	Ge	As	Se	Br	Kr					
76.22 ₆	61.66 ₂	67.1			69.8 ₁₅	54.83 ₄₃	55.6 ₅ 70.9	55.7 ₁₀	55.02 ₇₃	56.04 ₆₂	55.18 ₃₆											
Rb	Sr	Y	Zr	Nb	Mo	Tc	Ru	Rh	Pd	Ag	Cd	In	Sn	Sb	Te	I	Xe					
79.96 ₇	61.62 ₂	64.3								64.20 ₂	55.32 ₂₆	64.4										
Cs	Ba	Lu	Hf	Ta	W	Re	Os	Ir	Pt	Au	Hg	Tl	Pb	Bi	Po	At	Rn					
79.54 ₁₀	65.95 ₂	64.6 ₅									66 71.1 71.1	77.44 ₅	72.57 ₇₀	72.2	80.3	38.0 ₃						
Fr	Ra	Lr	Rf	Db	Sg	Bh	Hs	Mt	Ds	Rg	Cn	Nh	Fl	Mc	Lv	Ts	Og					
80	63.3 ₁₅	65.3																				

M
M ⁺
M ²⁺
M ³⁺
M ⁴⁺
M ⁵⁺
M ⁶⁺

- uncertainty
- ▴ < 0.10%
 - ▴ 0.10 - 1%
 - ▴ 1 - 2%
 - ▴ 2 - 5%
 - ▴ doubtful
 - ▴ tentative
 - ▴ no uncertainty

La	Ce	Pr	Nd	Pm	Sm	Eu	Gd	Tb	Dy	Ho	Er	Tm	Yb
68.72 ₂₉	68.5 ₁₅	68.8	68.93 ₇₈	68.8 ₇	67.38 ₆₄	67.4 ₁₆	66.1 ₁₅	65.6 ₁₄	65.2 ₇	64.8 ₅	65.0 ₅	65.6 ₁₄	64.2 ₂₇
Ac	Th	Pa	U	Np	Pu	Am	Cm	Bk	Cf	Es	Fm	Md	No
			59 ₂	54.4 ₁₇	74.5	68.3 ₁₀							
			68.6 70 ₁ 54.4	68.4 74.2	68.8 59.0 ₄ 55.4	55.9 52.4	67.8 ₂₇	67.8 ₃₁	65.1 ₃	65.8 ₃	60 ₃	62 ₃	65.3

$$v = \mu \times E \quad (m \cdot s^{-1})$$

$$\mu \text{ en } m^2 \cdot V^{-1} \cdot s^{-1}$$

$$E \text{ en } V \cdot m^{-1}$$

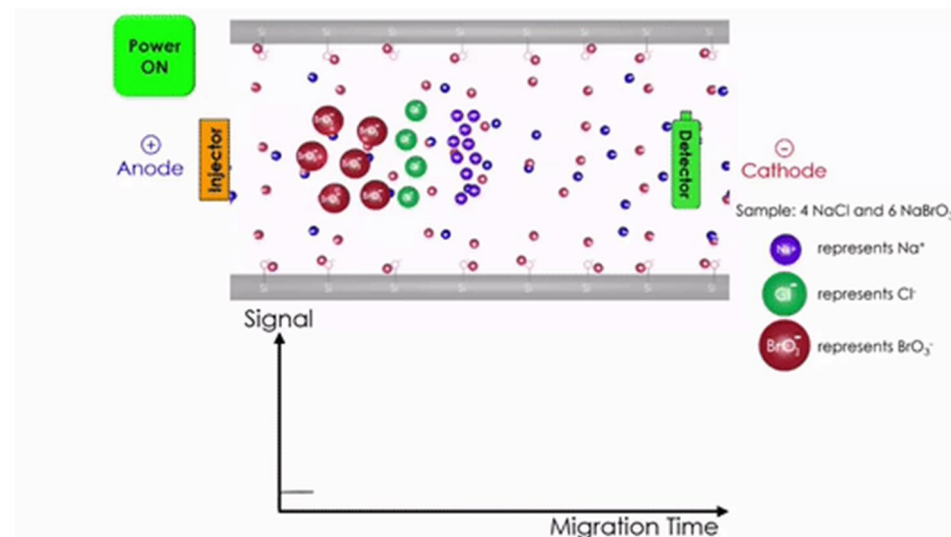
Exemple : $Na^+ \mu_0 = 51,94 \cdot 10^{-5} \text{ cm}^2 \cdot V^{-1} \cdot s^{-1}$
 $\Delta V = 25000 \text{ V}$
 $L = 60 \text{ cm}$

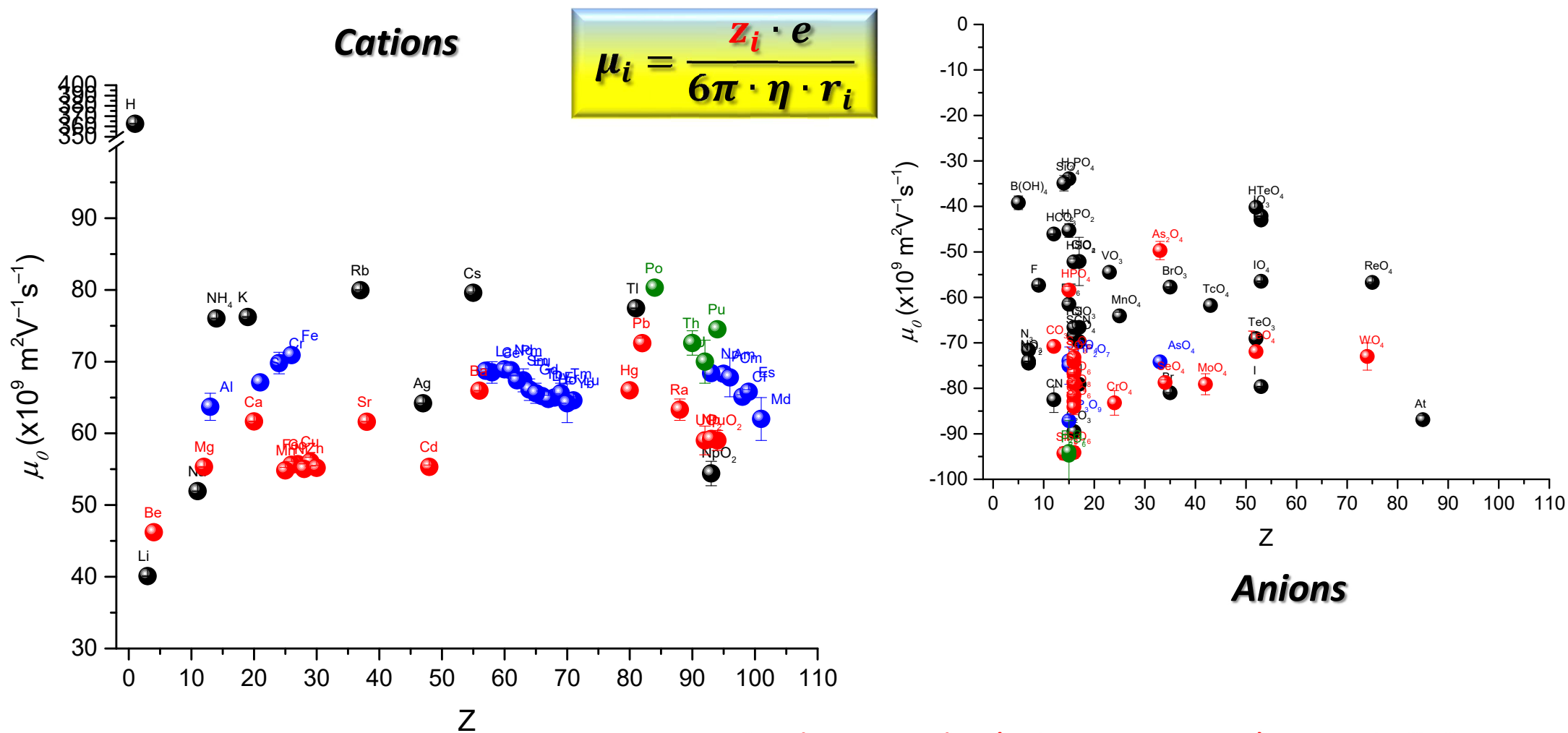
Vitesse de l'ion sodium ?

$$v = \quad m \cdot s^{-1}$$

Temps de migration pour parcourir la
 totalité du capillaire ?

$$t = \quad s$$





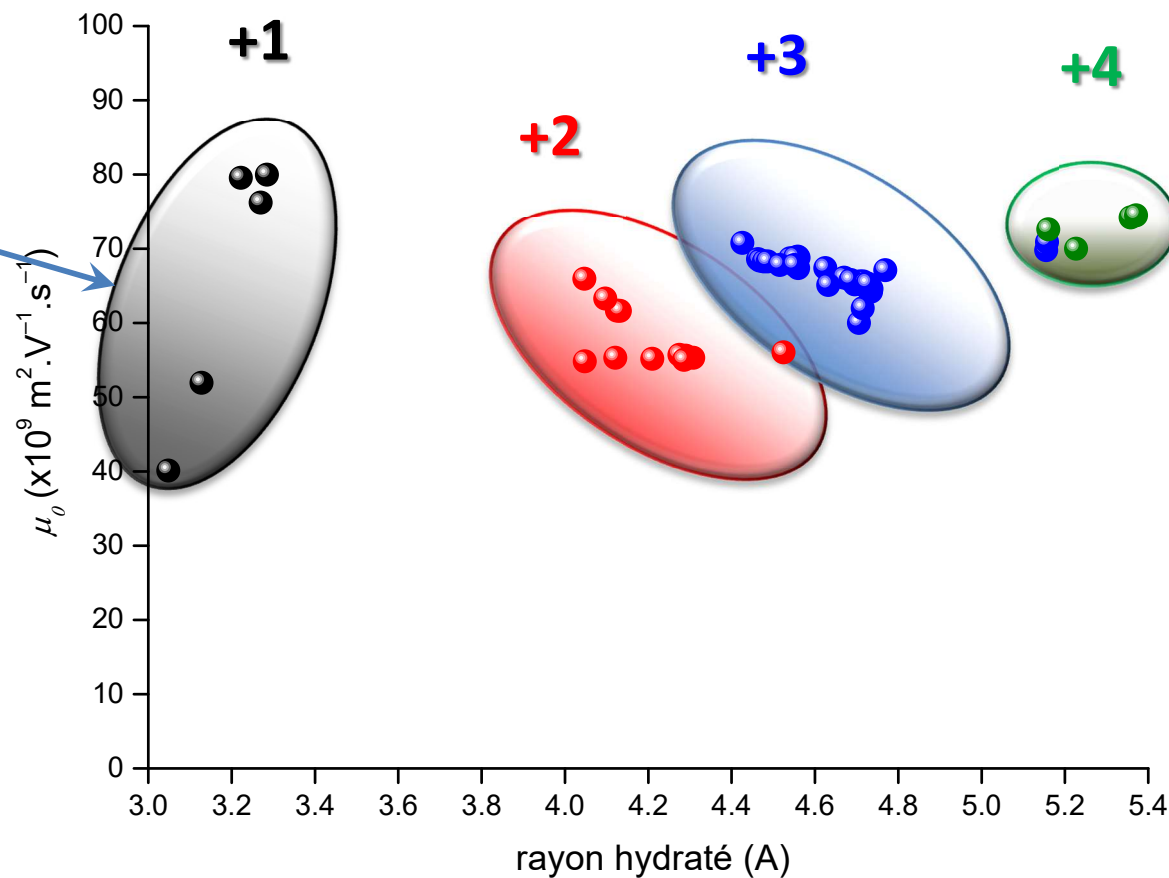
La charge seule n'est pas un paramètre majoritaire

$$\mu_i = \frac{z_i \cdot e}{6\pi \cdot \eta \cdot r_i}$$

Exception !

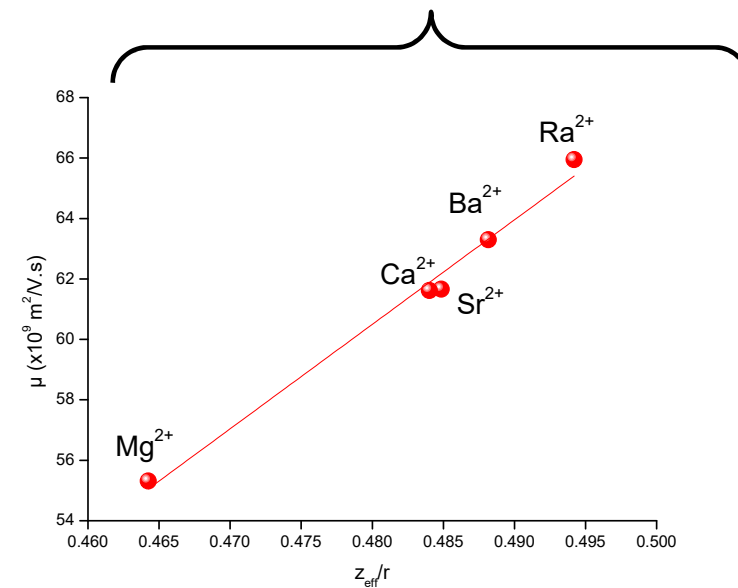
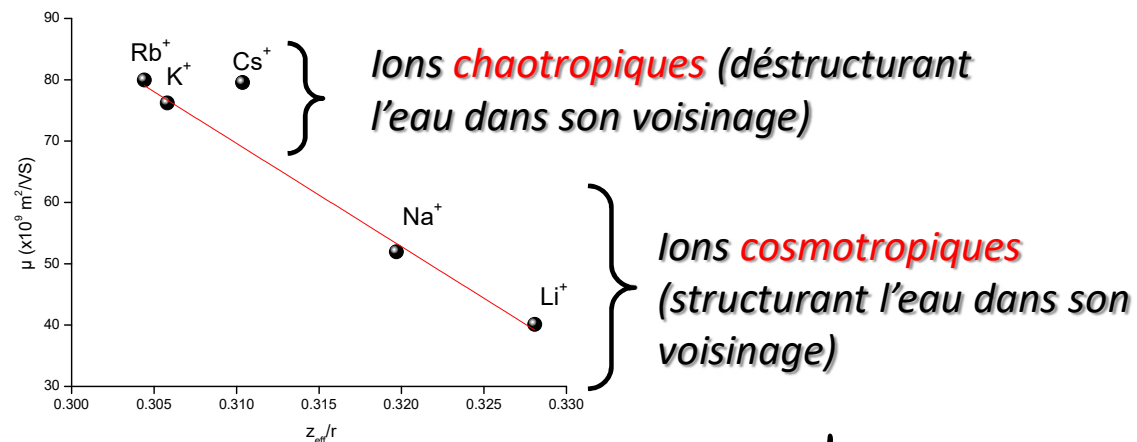
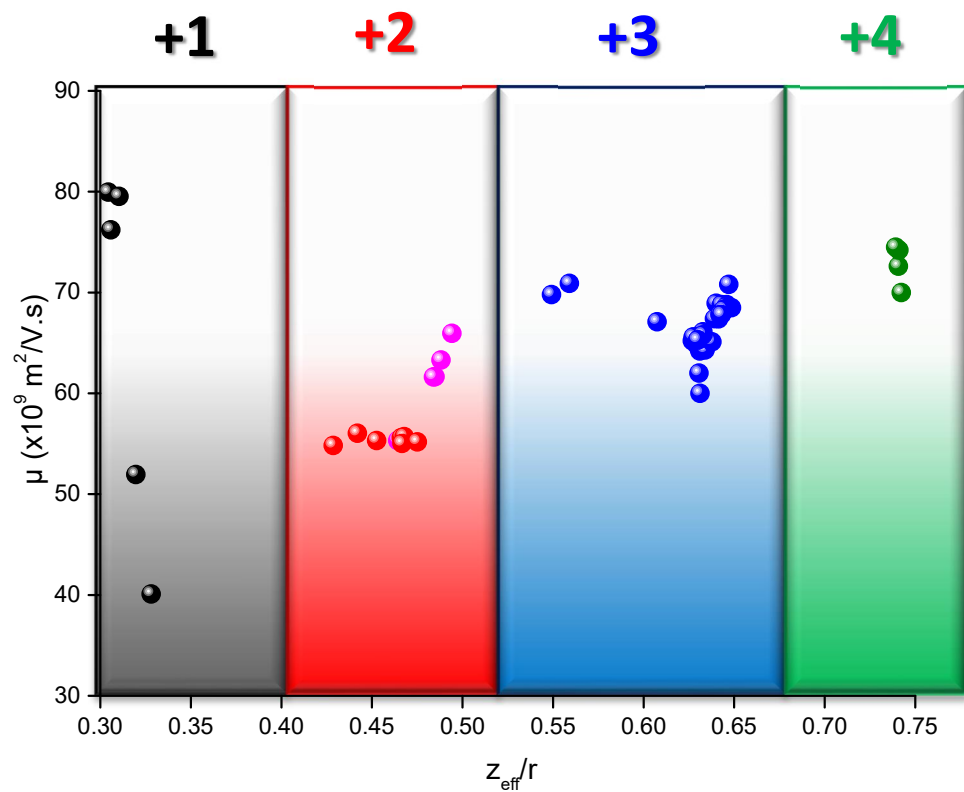
Règle :

- $\mu_i \searrow$ quand $r_i \nearrow$: assez vrai pour $z = +2$ et $+3$
- Faux pour $z = +1$ (effet inverse)



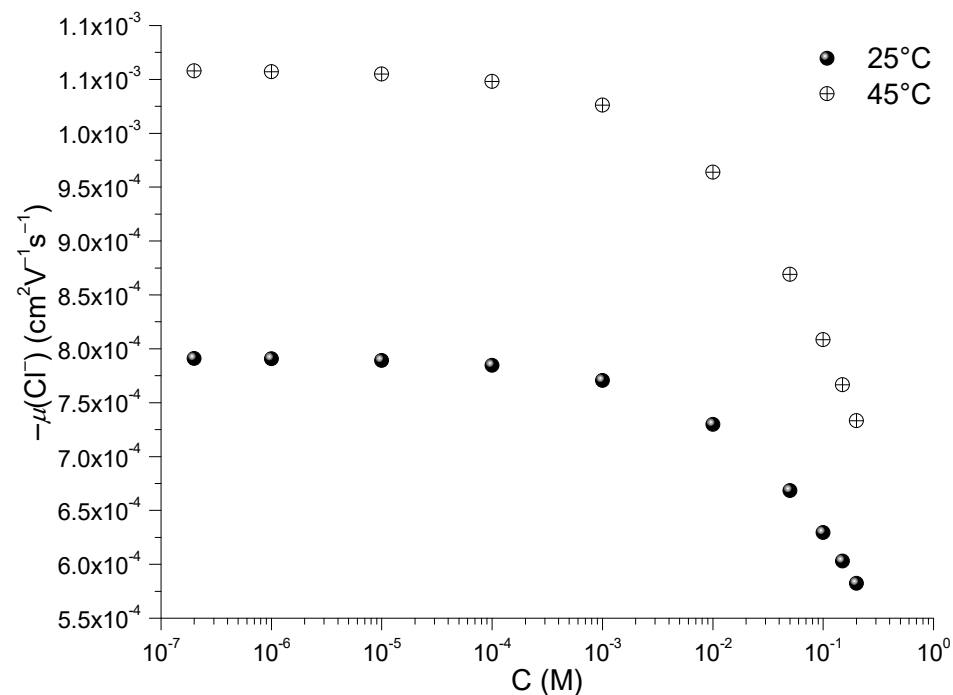
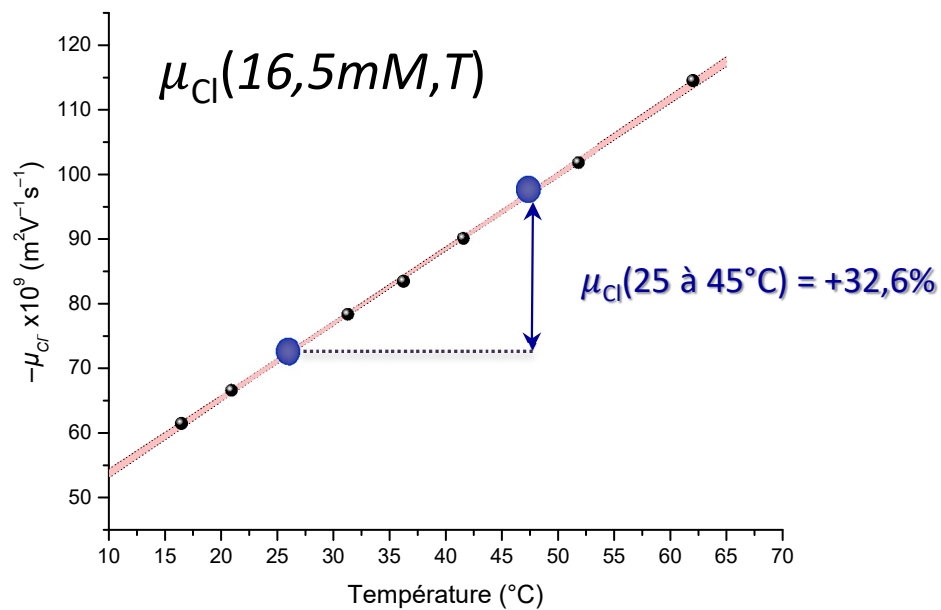
Plus un ion est gros, pour une charge donnée, plus il est lent.

$$\mu_i = \frac{z_{eff,i} \cdot e}{6\pi \cdot \eta \cdot r_i}$$



$$\mu(I, T) = \mu_0(T) - \left(\frac{e^3}{12\pi} \sqrt{\frac{\mathcal{N}_{AV}}{(\epsilon k T)^3}} \cdot z \cdot \mu_0(T) \sum_{n=0}^{\infty} C_n R^{(n)} + \frac{e^2}{6\pi\eta} \sqrt{\frac{\mathcal{N}_{AV}}{\epsilon k T}} \cdot |z| \right) \frac{\sqrt{I}}{1 + \frac{Ba}{\sqrt{2}} \sqrt{I}}$$

$\Delta\mu \approx 2 \% \text{ par } ^\circ\text{C}$



$$\mu_{Cl}(0, 25;45) = f(\text{NaCl})$$

La **permittivité**, plus précisément **permittivité diélectrique**, est une propriété physique qui décrit la réponse d'un milieu donné à un champ électrique appliqué.

Permittivité relative (par rapport au vide)

$$\varepsilon = \varepsilon_0 \times \varepsilon_r$$

ε : permittivité du matériau, de la solution

ε_0 : permittivité du vide

ε_r : permittivité relative

$$\varepsilon_0 = 8,854187 \times 10^{-12} \text{ F} \cdot \text{m}^{-1}$$

Permittivité relative du vide ?

Permittivité relative de l'eau = **78,54**

$$\mu(I, T) = \mu_0(T) - \left(\frac{e^3}{12\pi} \sqrt{\frac{\mathcal{N}_{AV}}{(\epsilon kT)^3}} \cdot z \cdot \mu_0(T) \sum_{n=0}^{\infty} C_n R^{(n)} + \frac{e^2}{6\pi\eta} \sqrt{\frac{\mathcal{N}_{AV}}{\epsilon kT}} \cdot |z| \right) \frac{\sqrt{I}}{1 + \frac{Ba}{\sqrt{2}} \sqrt{I}}$$

ϵ dépend de :

- La température
- La nature du sel
- La concentration

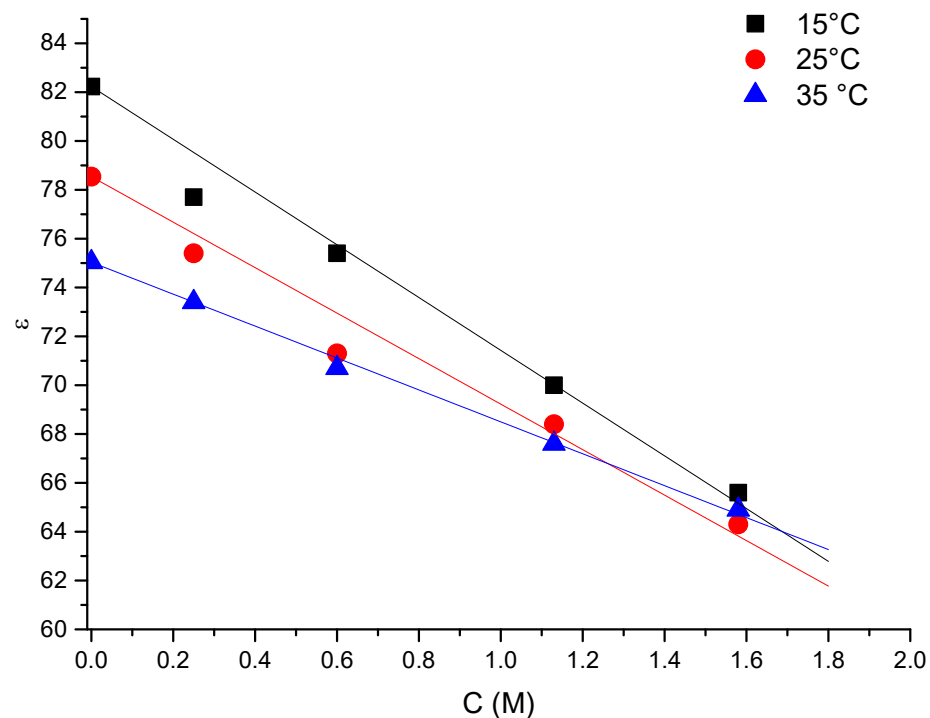
Les données sont rares !

Quelques expressions :

$$\epsilon = \epsilon_W - \delta C$$

$$\epsilon = \epsilon_W - \delta C + \gamma \sqrt[3]{C}$$

$$\frac{\epsilon - 1}{\epsilon + 2} = \frac{\epsilon_W - 1}{\epsilon_W + 2} + aC$$



$I < 0,2$ M, la décroissance est faible ($\approx 2,5\%$ à 25°C)

Sel	Equation	Référence
H ₂ O	$\varepsilon_W(t) = 78,54[1 - 4,579 \cdot 10^{-3}(t - 25) + 1,19 \cdot 10^{-5}(t - 25)^2 - 2,8 \cdot 10^{-9}(t - 25)^3]$	Lileev A. et al., <i>J. mol. Liq.</i> , 150 (2009) 4-8
NH ₄ ClO ₄	$\ln \frac{\varepsilon(t, C)}{\varepsilon_W(t)} = C[-0,1282363750 - 2,6298 \cdot 10^{-3}t + 1,04255 \cdot 10^{-4}t^2]$	Lileev A. et al., <i>J. mol. Liq.</i> , 150 (2009) 4-8
NaOH	$\varepsilon(25, C) = 78,33 - 19,928504C + 6,119554\sqrt[3]{C}$	Buchner R. et al., <i>J Phys Chem B</i> , 103 (1999) 11186-11190
NaClO ₄	$\varepsilon(25, C) = 78,33 - 14,517662C + 2,985822\sqrt[3]{C}$	Wachter W. et al., <i>J Phys Chem A</i> , 109 (2005) 8675-8683
Na ₂ SO ₄	$\varepsilon(25, C) = 78,33 - 41,020752C + 15,573503\sqrt[3]{C}$	Buchner R. et al., <i>J Phys Chem B</i> , 103 (1999) 11186-11190
KCl	$\begin{aligned} \varepsilon(26,6; 0,0037) &= 79,24 \pm 0,88 \\ \varepsilon(26,6; 0,014) &= 79,01 \pm 0,33 \end{aligned}$	Drake F.H., et al., <i>Phys. Rev.</i> , 35 (1930) 613-622
Tout sel 0 < C < 1 M	$\begin{aligned} \varepsilon &= 78,54 - \delta C \\ \delta &= \delta_+ + \delta_- \end{aligned}$	Marcus Y., <i>J. Solution Chem.</i> 42 (2013) 2354-2363

Cation	δ_+	Anion	δ_-
H_3O^+	16	OH^-	8
Li^+	8	F^-	4
Na^+	7	Cl^-	5
K^+	6	Br^-	6
Rb^+	6	I^-	7
Cs^+	5	NO_3^-	5
Ag^+	1	ClO_4^-	10
NH_4^+	4	BF_4^-	10
Mg^{2+}	24	HCO_2^-	4
Ca^{2+}	17	SO_4^{2-}	(7)
Sr^{2+}	14		
Ba^{2+}	10		
Cd^{2+}	20		
Y^{3+}	22		
La^{3+}	25		

$$\mu(I, T) = \mu_0(T) - \left(\frac{e^3}{12\pi} \sqrt{\frac{\mathcal{N}_{AV}}{(\epsilon kT)^3}} \cdot z \cdot \mu_0(T) \sum_{n=0}^{\infty} C_n R^{(n)} + \frac{e^2}{6\pi\eta} \sqrt{\frac{\mathcal{N}_{AV}}{\epsilon kT}} \cdot |z| \right) \frac{\sqrt{I}}{1 + \frac{Ba}{\sqrt{2}} \sqrt{I}}$$

η dépend de:

- La température
- La nature du sel
- La concentration

« Extended Jones-Dole equation »

$$\eta = \eta_0 (1 + a\sqrt{C} + bC + cC^2)$$

Autre modèle (T, C)

$$\ln \frac{\eta(T)}{\eta_{water}(T)} = aC + bC^2 + cC^3$$

$$a = a_0 + a_1T + a_2T^2$$

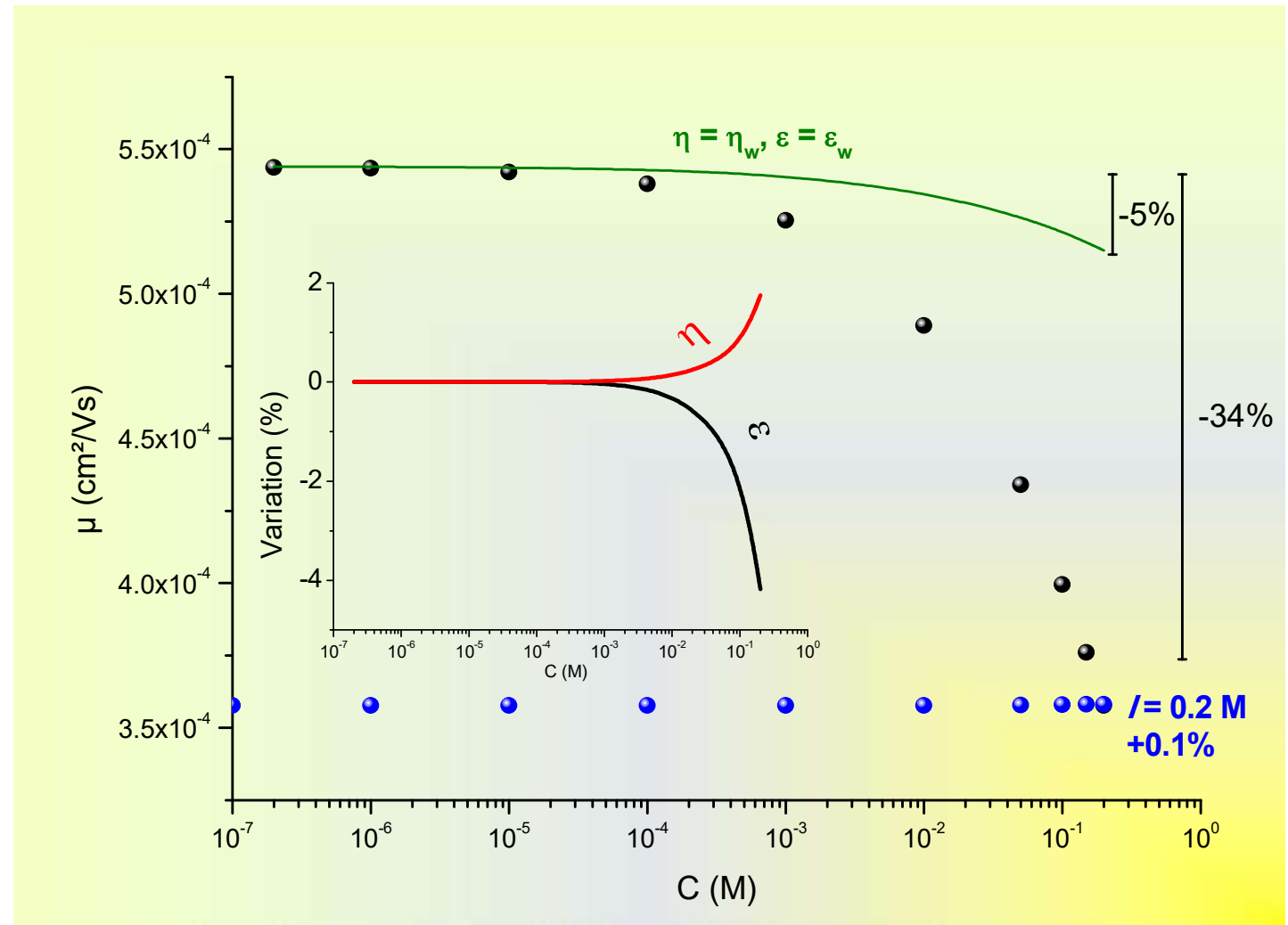
$$b = b_0 + \dots$$

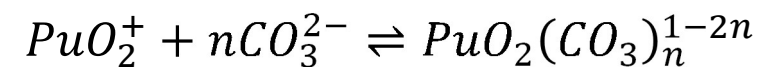
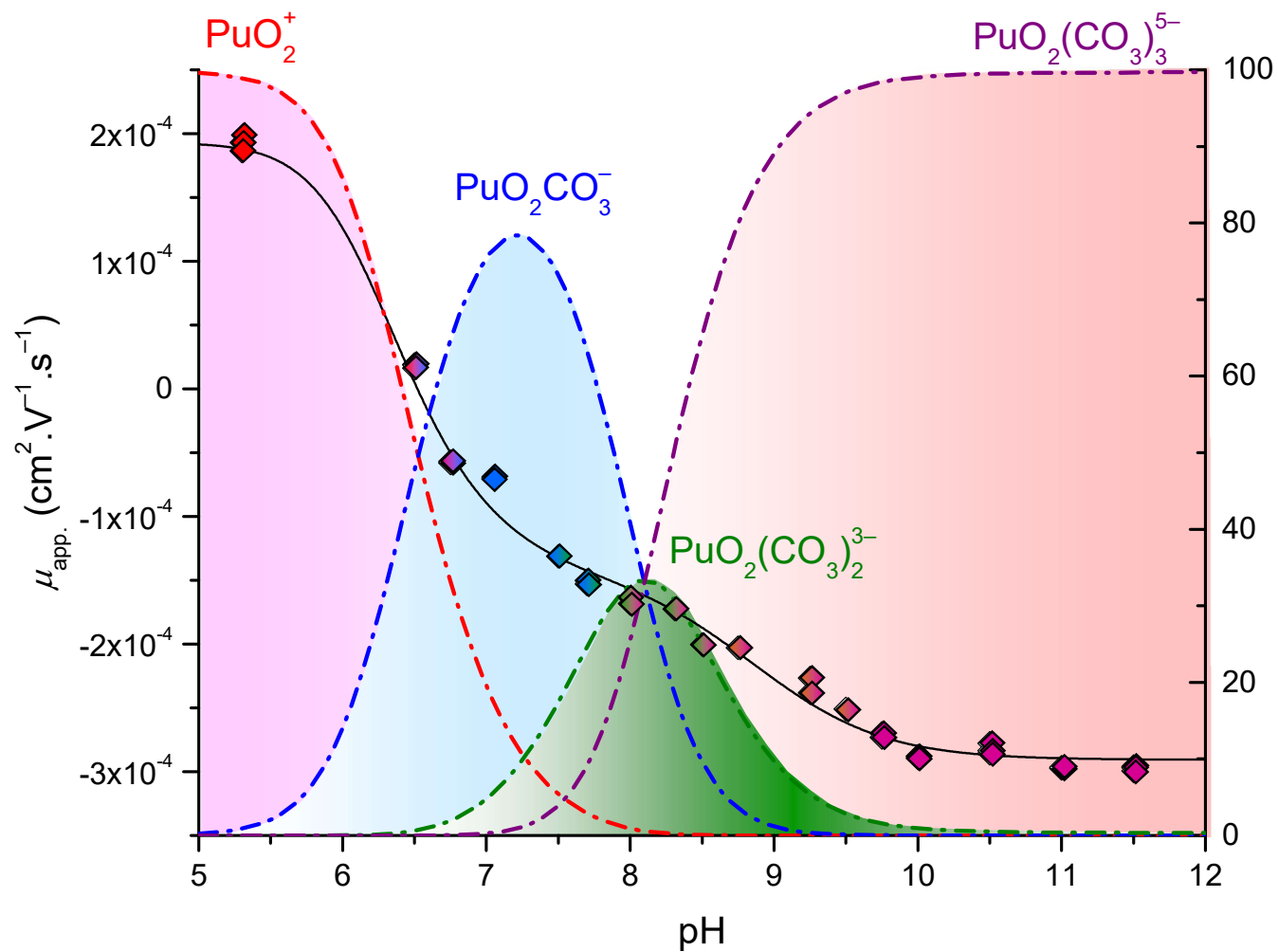
$$c = c_0 + \dots$$

Les données sont nombreuses !

Sel	Equation	Référence
H_2O $0 < t < 20$ $20 < t < 100$	$\log \eta_w = \frac{1301}{998,333 + 8,1855(t - 20) + 0,00585(t - 20)^2} - 1,30233$ $\log \frac{\eta_w}{\eta_{20}} = \frac{1,3272(20 - t) - 0,001053(t - 20)^2}{t + 105}$	<i>Hardy R.C., Cottingto R.L., J. Res. NBS 42 (1949) 573</i> <i>Swindells J.F., NBS, unpublished results</i>
NaClO_4	$\eta(25, C) = \eta_w [1 + 0,00702\sqrt{C} + 0,0151C + 0,029507C^2]$	<i>Nightingale E.R., J. Phys. Chem, 63(5) (1959) 742-743</i>
NaCl	$\eta(25, C) = \eta_w [1 + 0,007271\sqrt{C} + 0,076922C + 0,011167C^2]$ $\ln \frac{\eta(t, C)}{\eta_w(t)} = [(-0,21319213 + 1,3651589 \cdot 10^{-3}t - 1,2191756 \cdot 10^{-6}t^2) \times C + (0,069161945 - 2,7292263 \cdot 10^{-4}t - 2,085244810^{-7}t^2) \times C^2 + (-2,5988855 \cdot 10^{-3} - 7,7989227 \cdot 10^{-6}t) \times C^3]$	<i>Hai-Lang Z., Shi-Jun H., J. Chem. Eng. Data, 41 (1996) 516-520</i> <i>Mao S., et al., Int. J. Thermophys., 30 (2009) 1510-1523</i>
NaNO_3	$\eta(25, C) = \eta_w [1 + 0,0005880\sqrt{C} - 0,039245C + 0,022416C^2]$	<i>Janz G.J. et al., J. Phys. Chem., 74(6) (1970) 1285-1289</i>

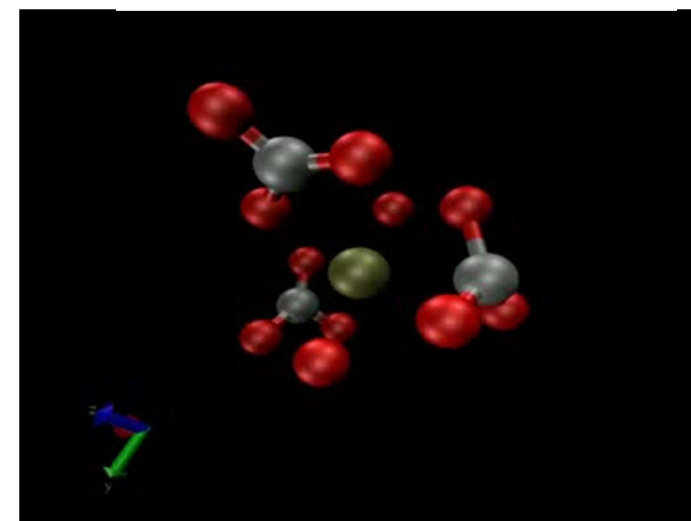
Variation de $\mu_{NpO_2^+}$ à
25 °C, en milieu NaCl
[10^{-7} – 0,2].



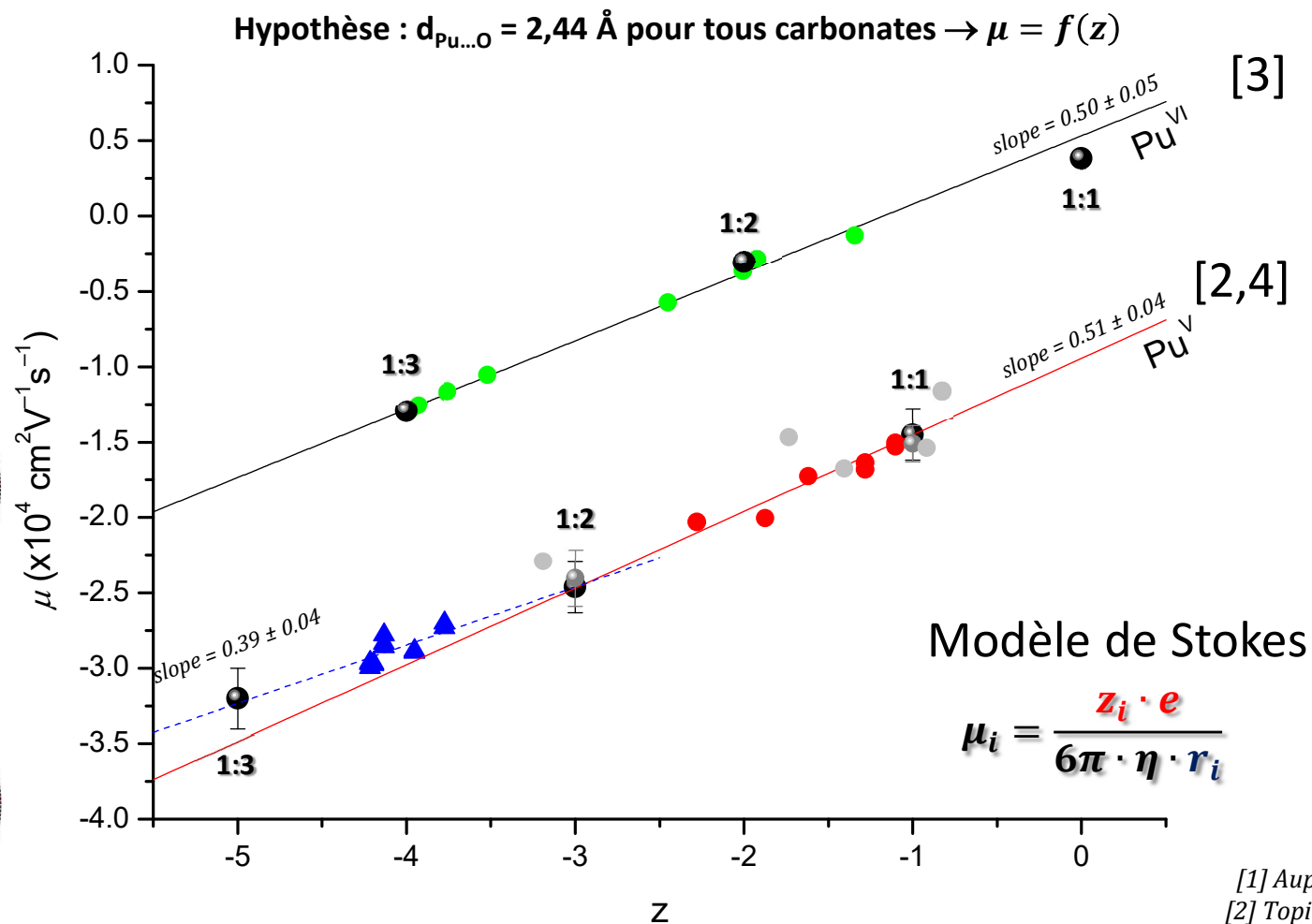
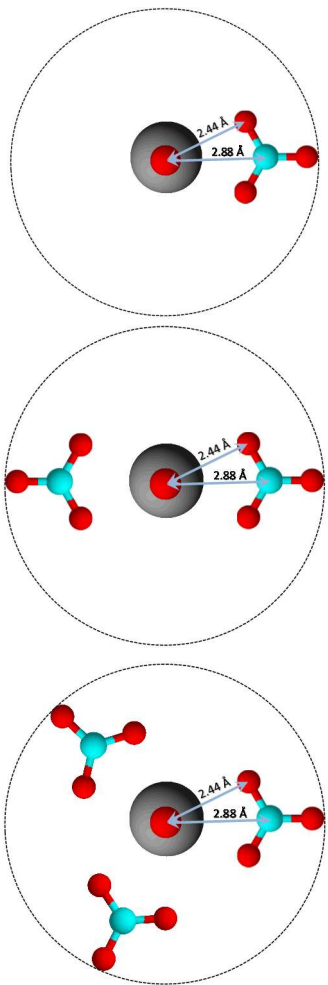


$$\mu_i = \sum_i \alpha_i \mu_i$$

On peut aussi s'intéresser à la variation de μ en fonction d'autres paramètres comme la charge moyenne du complexe.

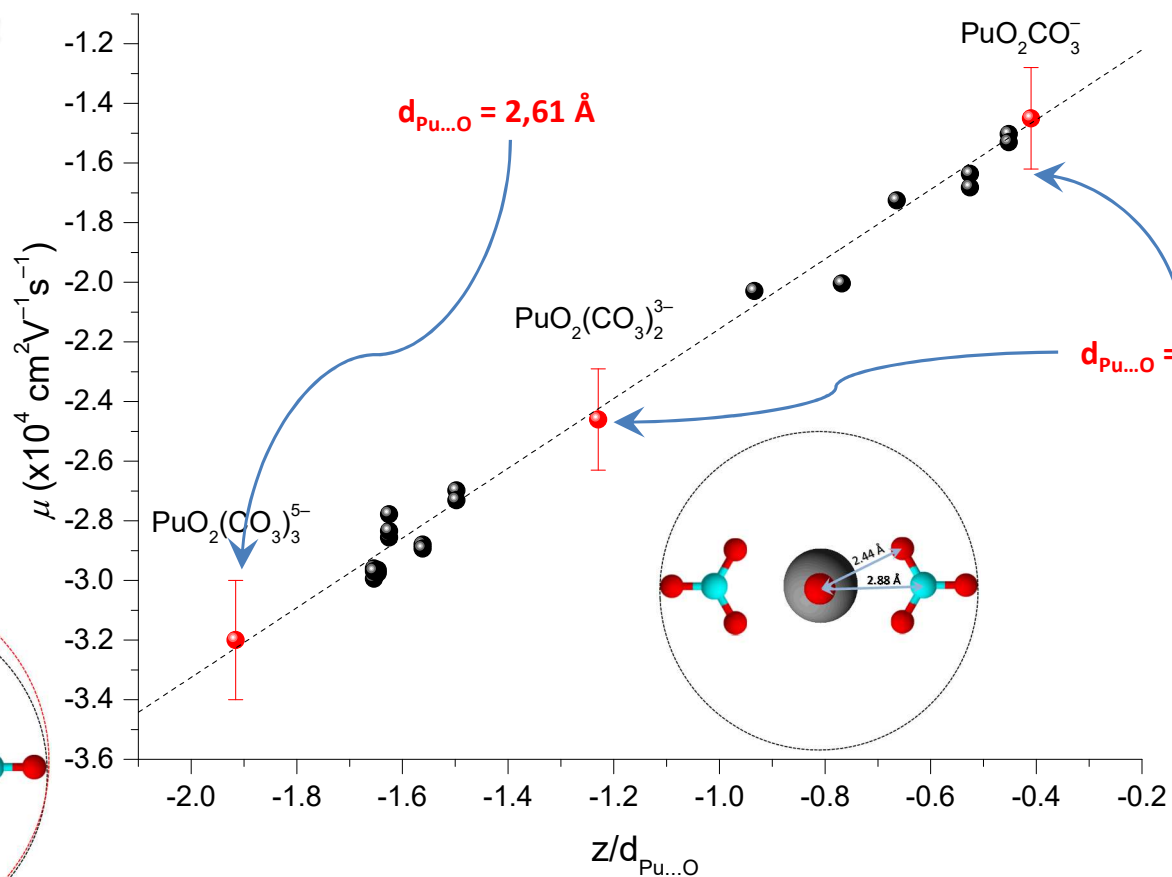


Dynamique moléculaire quantique (ex. en phase gazeuse)

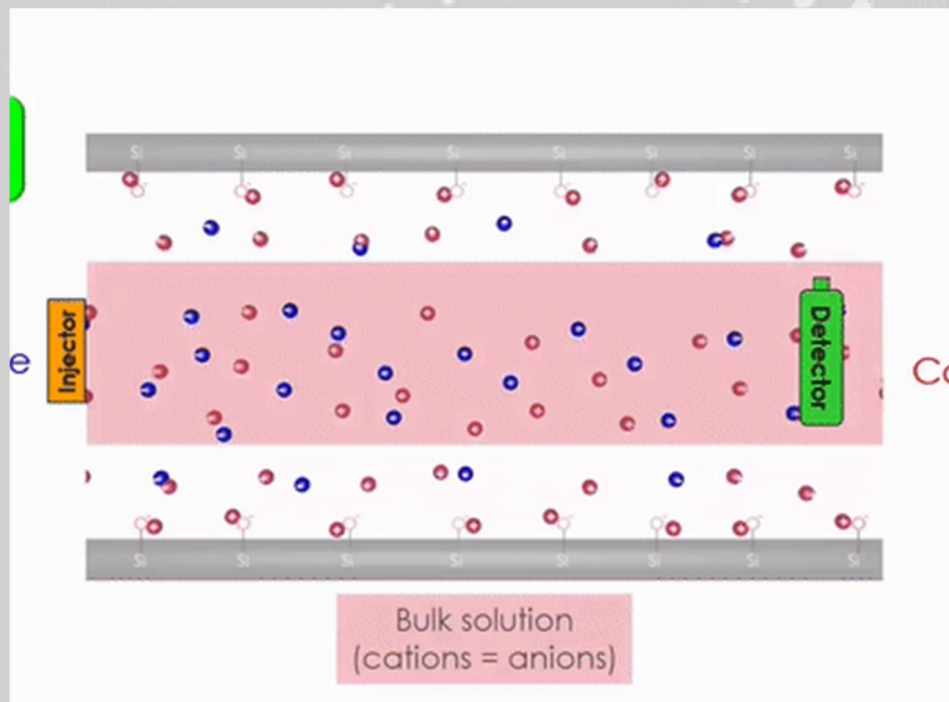


- [1] Aupiais J., Dalton Trans., 45 3759-3770 (2016)
 [2] Topin S., Electrophoresis. 30, 1747-1755 (2009)
 [3] Alexandre J.C., Radiochim. Acta. 106 (2018) 801-807
 [4] Aupiais J. et al Eur. J. Inorg. Chem. (2020) 216-225

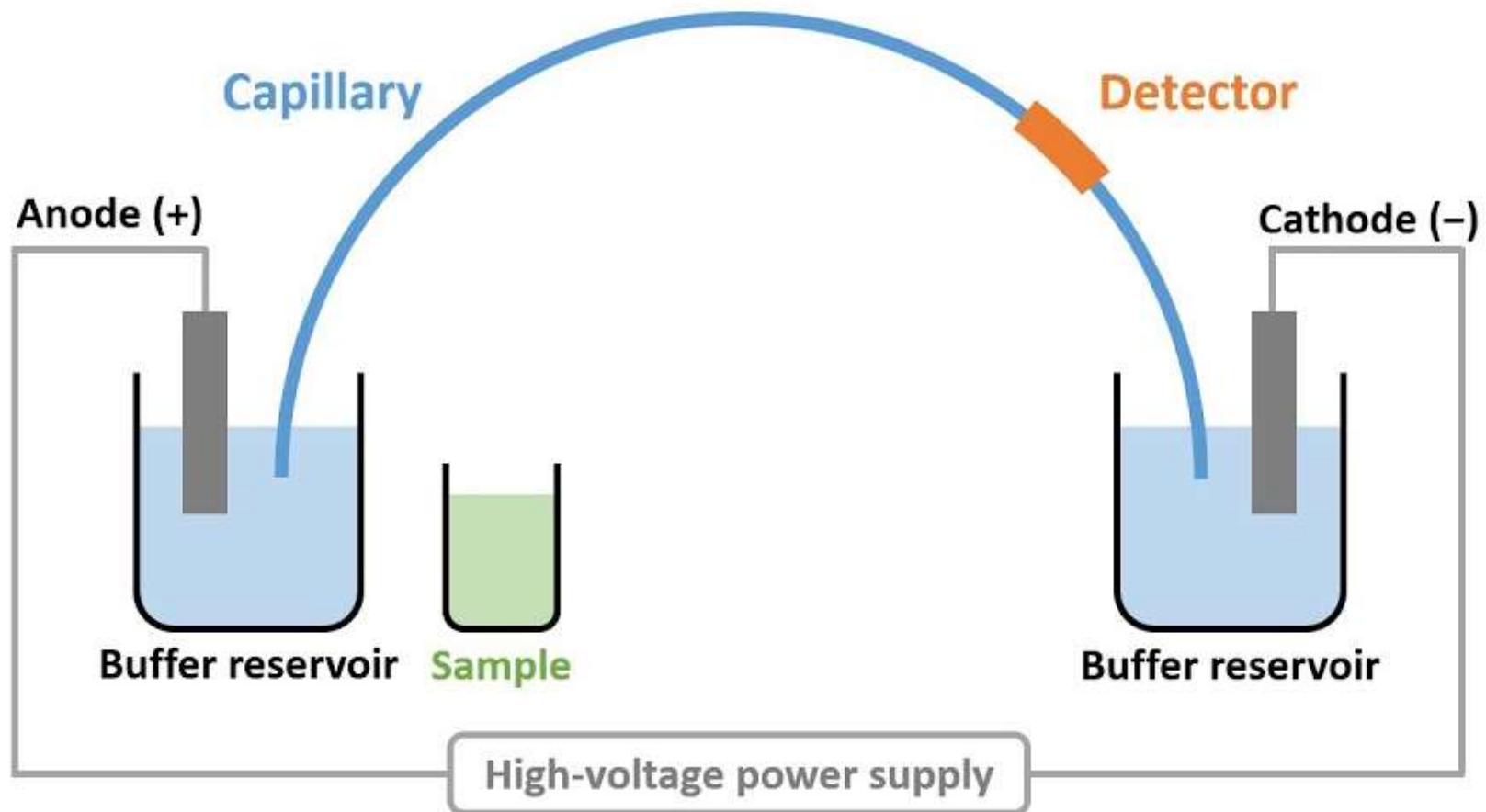
$$\mu_i = \frac{z_i \cdot e}{6\pi \cdot \eta \cdot r_i}$$

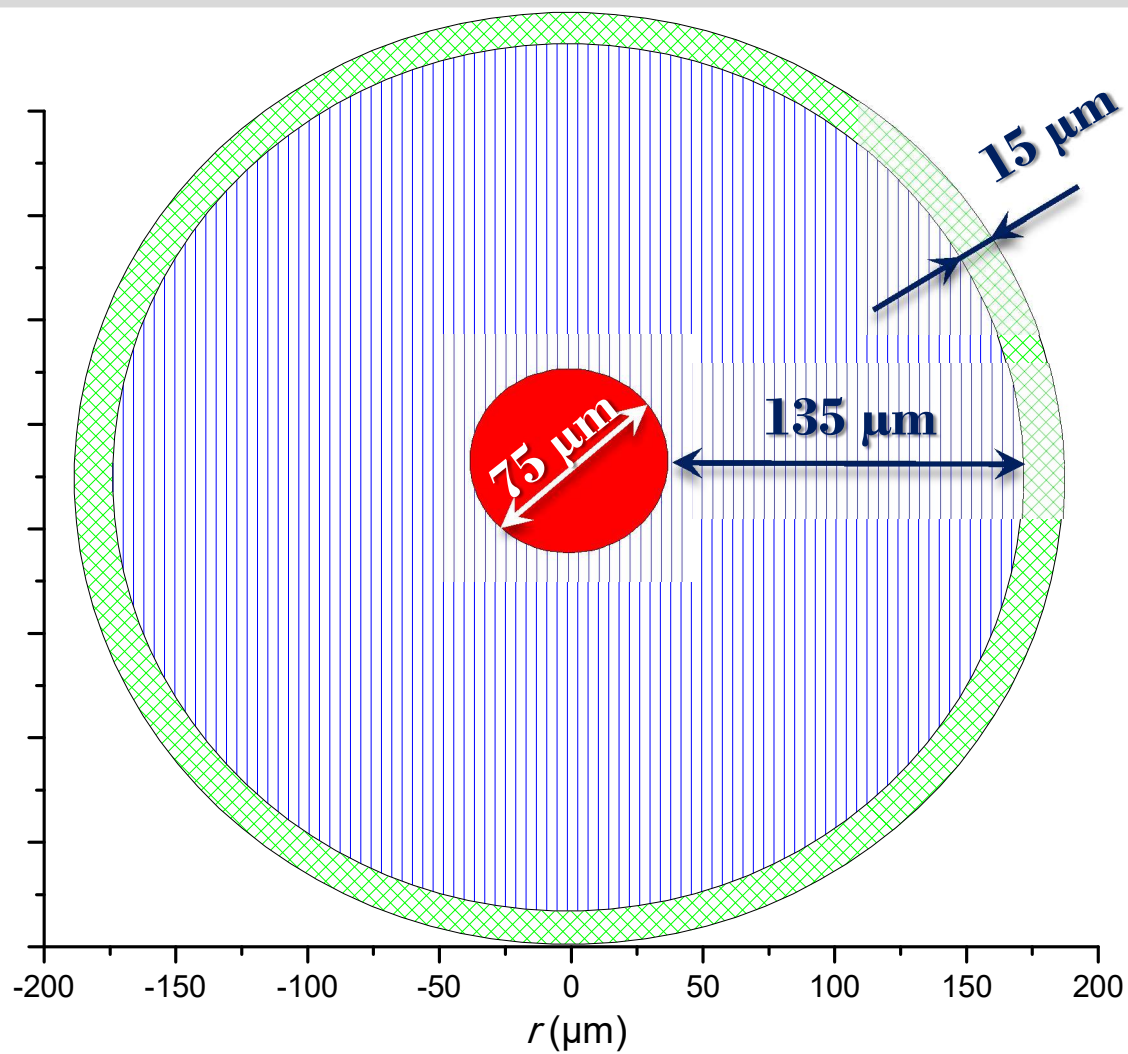


... ou s'intéresser à la variation de μ en fonction du rapport charge sur distance intramoléculeire d_{Pu-O} .



Electrophorèse capillaire - principes





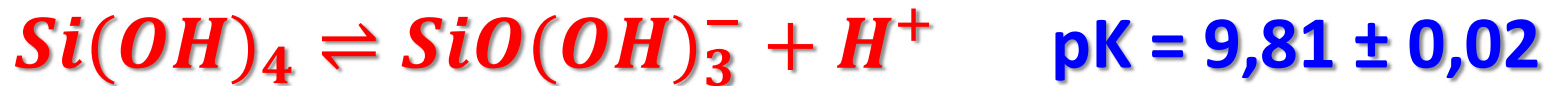
Caractéristiques générales

Diamètre externe = $360\ \mu\text{m}$

Diamètre interne = $20\text{--}100\ \mu\text{m}$

Polyimide = $15\ \mu\text{m}$

Longueur = $30\text{--}100\ \text{cm}$



En pratique, plage de valeurs plutôt qu'une valeur unique ! (interactions (d-p) π chaîne Si-O)

Nature : c'est un phénomène de transport des molécules de solvant dû à l'existence d'une double couche électrique à une interface solide-liquide.

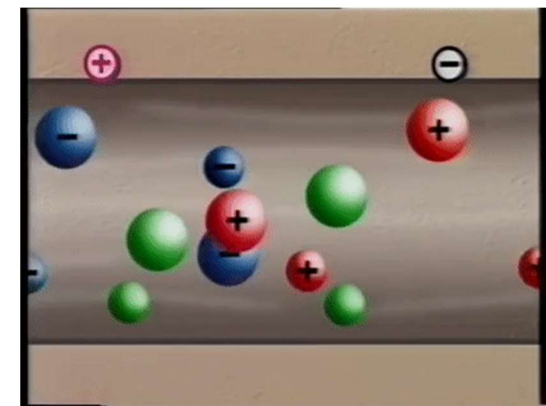
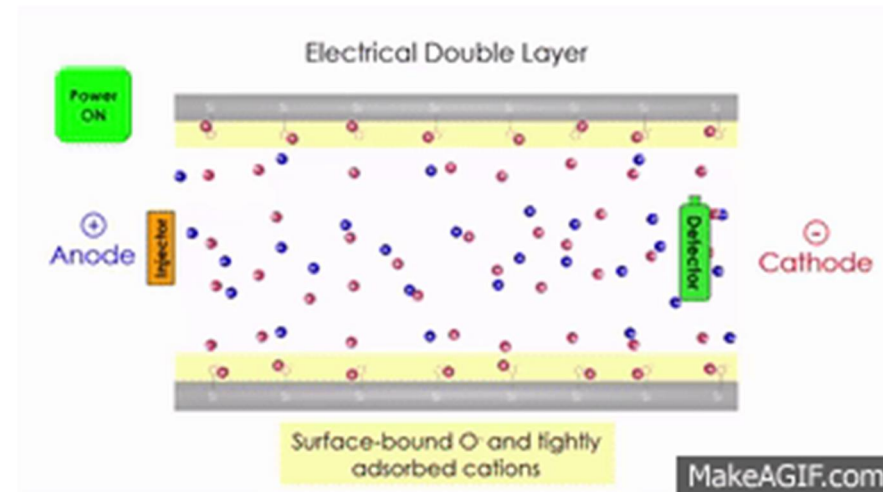
$$v_{eo} = - \frac{\epsilon_r \epsilon_0 \zeta}{\eta} E = \mu_{eo} E$$

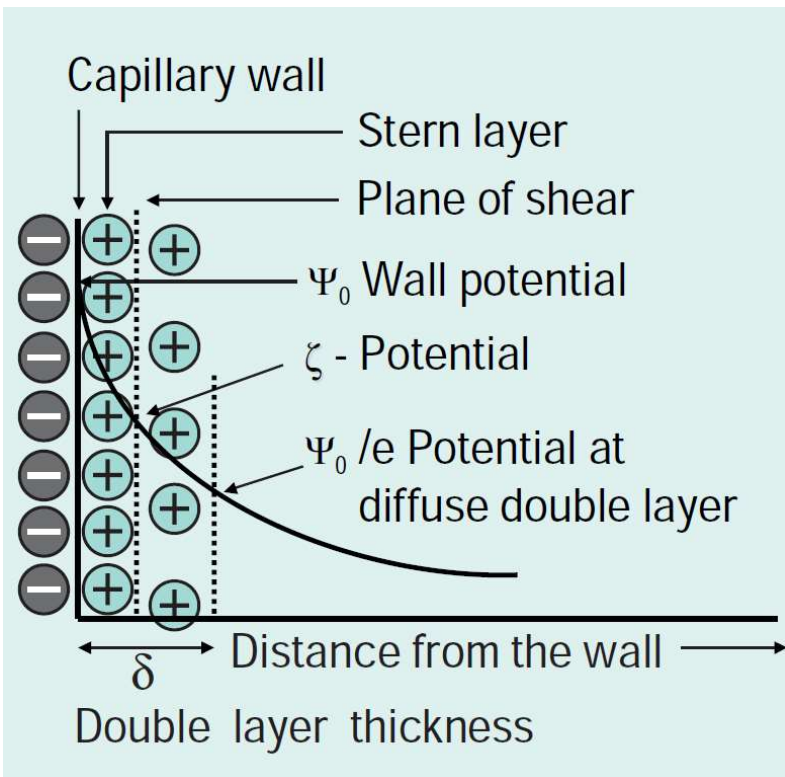
μ_{eo} : mobilité électroosmotique

ϵ_r et η : constante diélectrique et viscosité du solvant

ϵ_0 : permittivité du vide ($8,85 \cdot 10^{-12} \text{ C}^2 \text{ N}^{-1} \text{ m}^{-2}$)

ζ : potentiel zêta





$$v_{eo} = -\frac{\kappa^{-1} \sigma}{\eta} E$$

Définition potentiel ζ :

$$\zeta = \frac{\kappa^{-1} \sigma}{\epsilon_r \epsilon_0}$$

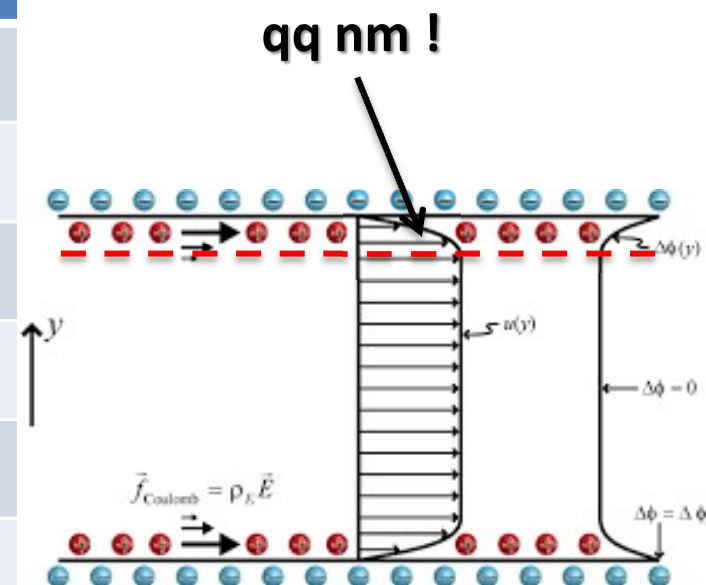
δ : épaisseur de la double couche,
 σ : densité de charges par unité de surface.

Double couche κ^{-1} :

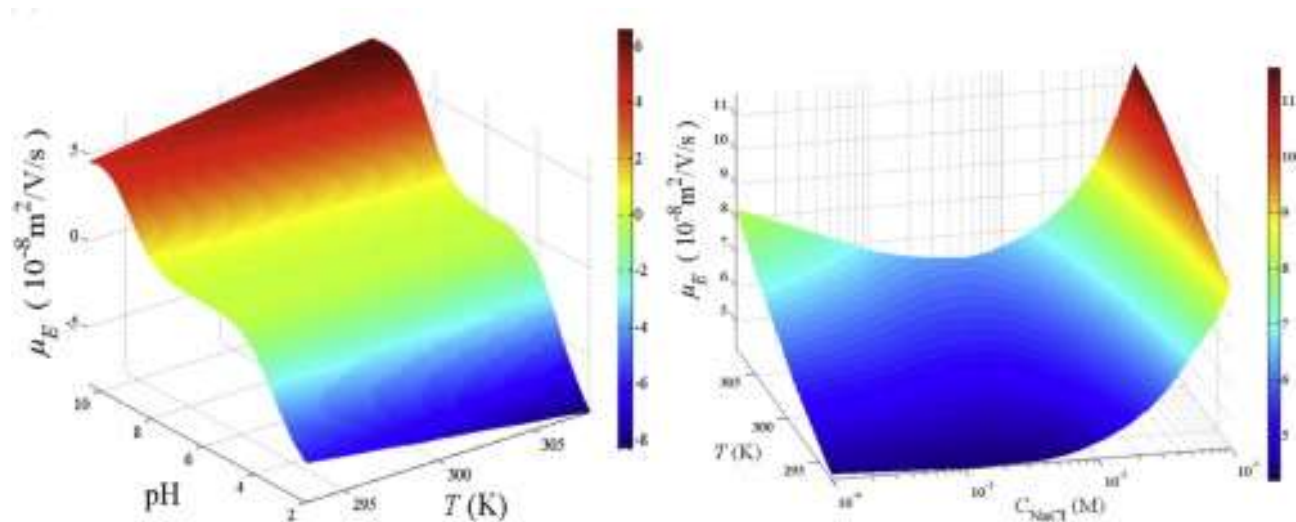
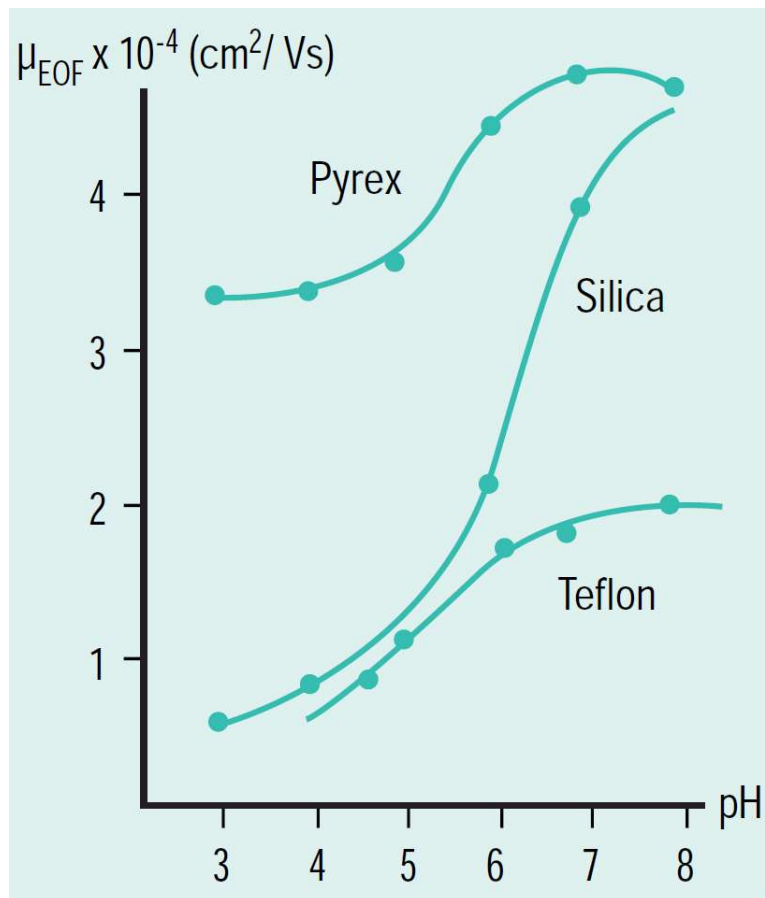
$$\kappa^{-1} = \sqrt{\frac{\epsilon_r \epsilon_0 RT}{2c_E z^2 F^2}}$$

R : constante des gaz parfaits,
 T : température absolue,
 z et c_E : charge et concentration de l'électrolyte.

C_E	Electrolyte symétrique		Electrolyte asymétrique	
	Z^+/Z^-	κ^{-1} (nm)	Z^+/Z^-	κ^{-1} (nm)
0,001	1:1	9,61	1:2, 2:1	5,56
	2:2	4,81	1:3, 3:1	3,93
	3:3	3,20	2:3, 3:2	2,49
0,01	1:1	3,04	1:2, 2:1	1,76
	2:2	1,52	1:3, 3:1	1,24
	3:3	1,01	2:3, 3:2	0,787
0,1	1:1	0,961	1:2, 2:1	0,556
	2:2	0,481	1:3, 3:1	0,393
	3:3	0,320	2:3, 3:2	0,249

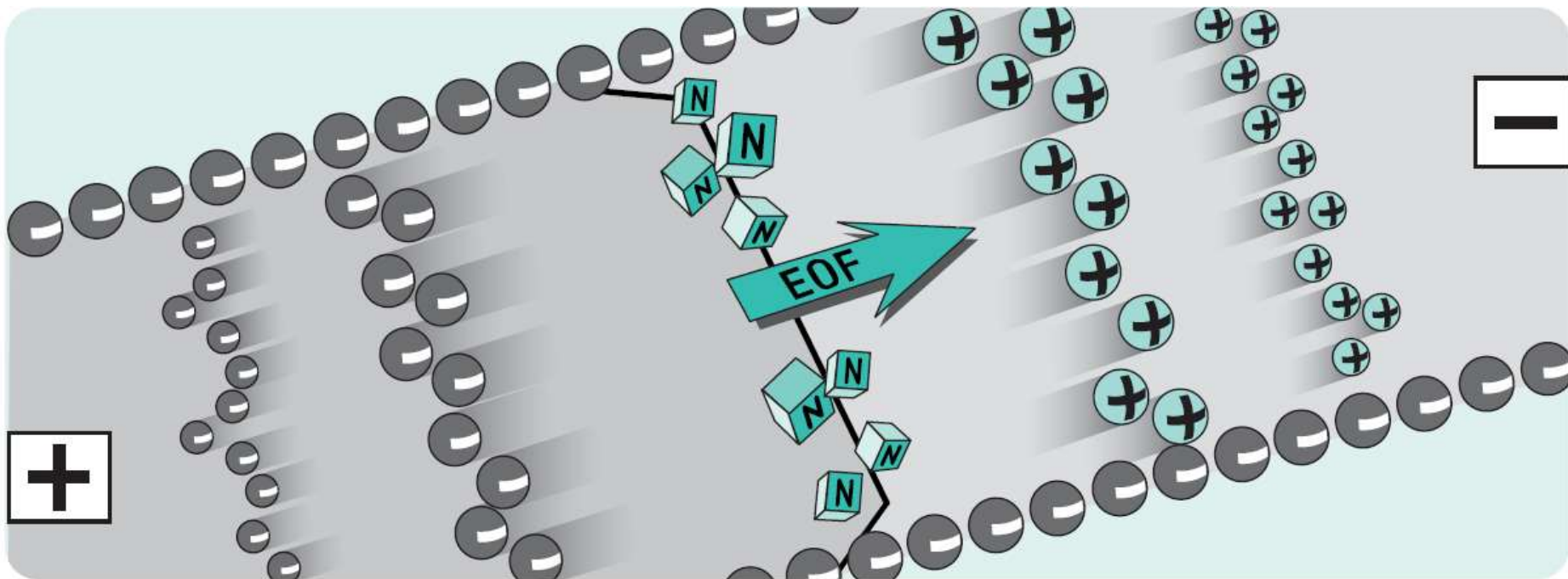


Profil de vitesse du flux électroosmotique indépendant du diamètre (jusqu'à 200-300 μM)

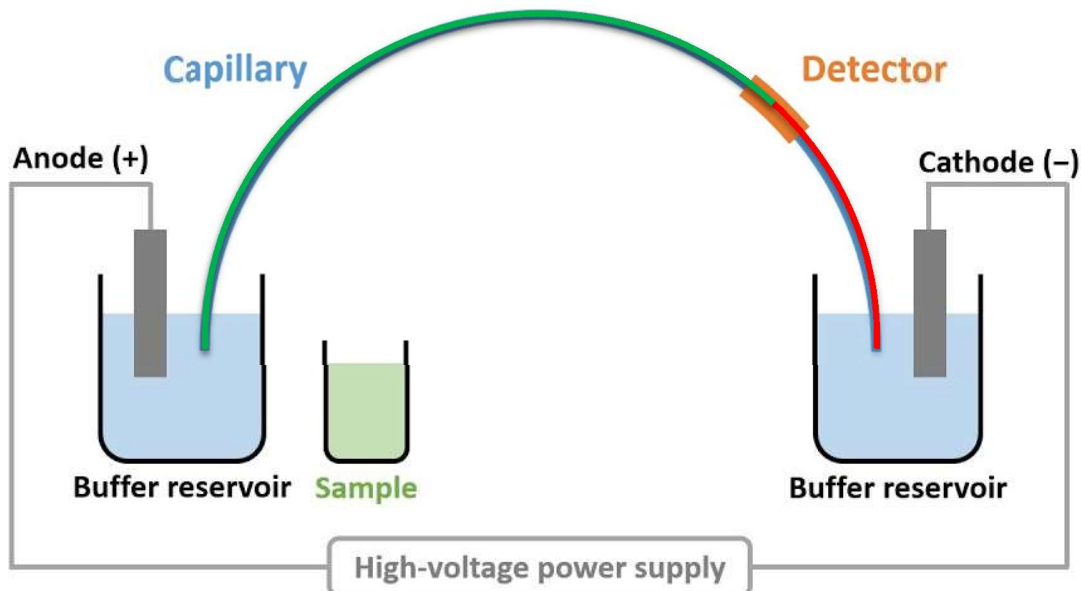


Tseng S. et al, Theoretical study of temperature influence on the electrophoresis of a pH-regulated polyelectrolyte, Analytica Chimica Acta, 847 (2014) 80-89.

Le flux eo met en mouvement toutes les espèces (neutres comprises), indépendamment de la charge dans une même direction.



Sans traitement de la surface interne du capillaire, le flux eo est toujours **dirigé vers la cathode**.

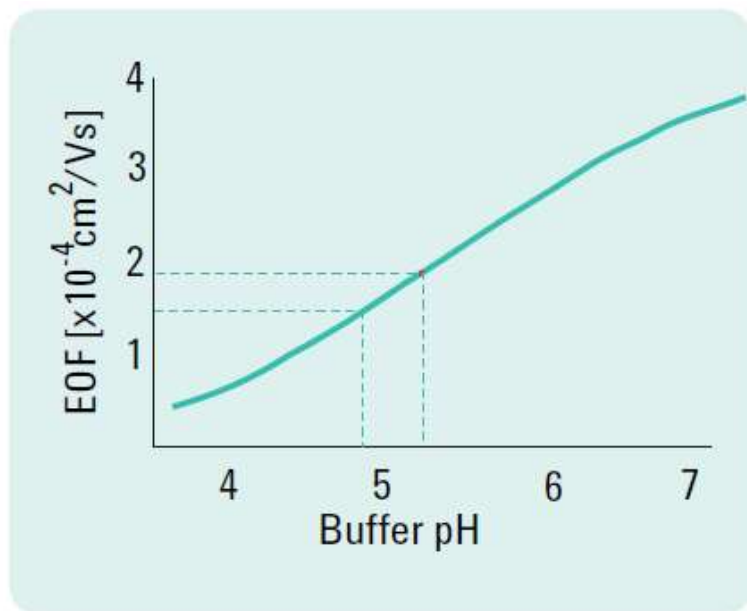


$$\mu_{ep} = \frac{L \cdot l}{V} \left(\frac{1}{t_i} - \frac{1}{t_{eo}} \right)$$

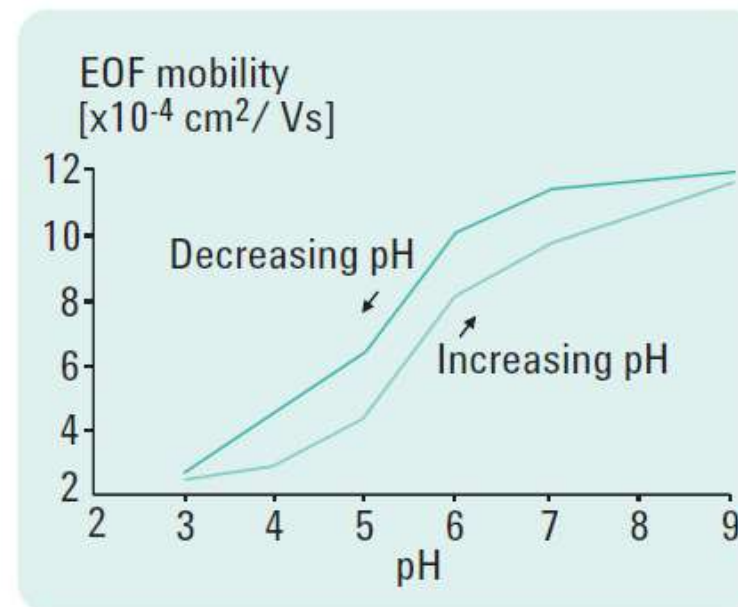
Longueur totale du capillaire dans lequel est appliqué une tension V : L
 Longueur jusqu'à la fenêtre du détecteur : l

$$t_i = \frac{l}{v_i} = \frac{l \times L}{(\mu_{eo} + \mu_i) \times V}$$

l : distance entre le point d'injection et le point de détection,
 L : longueur totale du capillaire,
 V : tension appliquée.



pH

Effet
mémoire

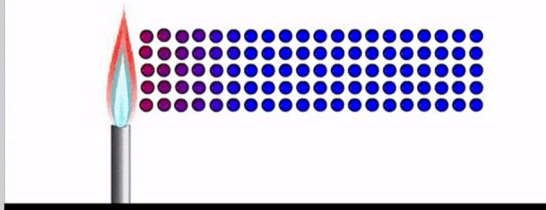
pH 5 \rightarrow 5,18 : $\mu_{e0} = +25\%$

- Electrolyte tampon obligatoire
- Si analyte possède un pKa, alors l'électrolyte doit tamponner à $\text{pKa} - 1 < \text{pH} < \text{pKa} + 1$

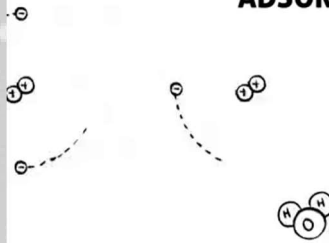
Ne pas utiliser le même capillaire pour des expériences à pH très acide et à pH très basique.

De préférence, utiliser un capillaire par méthode

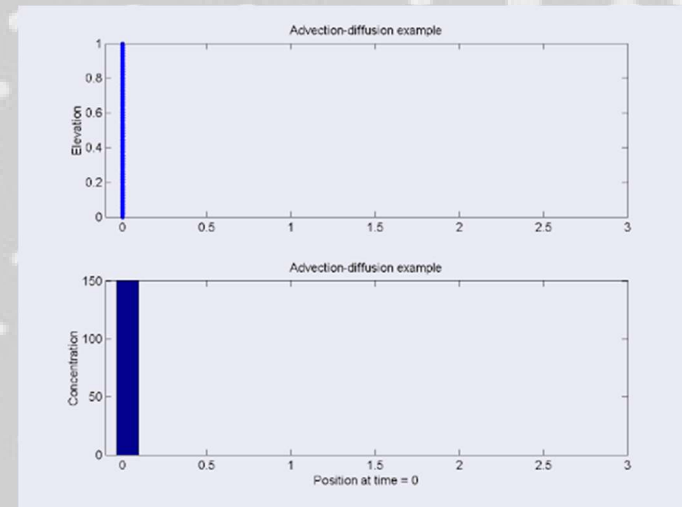
Conduction of Heat



ADSORPTION



Effets dispersifs



Efficacité :

Hauteur de plateaux théoriques :

$$H = \frac{\sigma_l^2}{l}$$

σ_l^2 : variance spatiale après un parcours l

Nombre de plateaux théoriques :

$$N = \frac{l}{H}$$

$$\begin{aligned} \sigma_l^2 = & \sigma_{\text{Diffusion}}^2 \\ & + \sigma_{\text{injection}}^2 \\ & + \sigma_{\text{Température}}^2 \\ & + \sigma_{\text{Adsorption}}^2 \\ & + \sigma_{\text{Détection}}^2 \\ & + \sigma_{\text{Electrodispersion}}^2 \\ & + \dots \end{aligned}$$

Particularité des capillaires : pas ou peu de diffusion radiale, ni de convection (longitudinale)

$$\begin{aligned} \sigma_i^2 &= \sigma_{\text{Diffusion}}^2 \\ &+ \sigma_{\text{injection}}^2 \\ &+ \sigma_{\text{Température}}^2 \\ &+ \sigma_{\text{Adsorption}}^2 \\ &+ \sigma_{\text{Détection}}^2 \\ &+ \sigma_{\text{Electrodispersion}}^2 \\ &+ \dots \end{aligned}$$

Rappel : $\sigma_D^2 = 2Dt$

Dans le cas de l'électrophorèse capillaire :

$$D = \frac{RT}{zF} \mu_{ep}$$

$$\sigma_D^2 = 2Dt = \frac{2D \times lL}{\mu_{app}V}$$

$$\sigma_D^2 = \frac{2D \times lL}{\mu_{app}V} = \frac{2Dl}{\mu_{app}E}$$

$$N = \frac{1}{H} = \frac{l}{\sigma_D^2}$$

$$N = \frac{\mu_{app}E}{2D}$$

	D (x 10 ⁻⁵ cm ² /s)
HCl	3.05
NaCl	1.48
Glycine	1.06
Citrate	0.66
Cytochrome C	0.11
Hemoglobin (human)	0.069
Tobacco mosaic virus	0.0046

Table 1.2
Diffusion coefficients of selected molecules (in water, 25 °C).

Conséquences :

- Application de champ électrique élevé (**E**)
- Les grosses molécules auront une grande résolution (**D** ou μ_{ep})

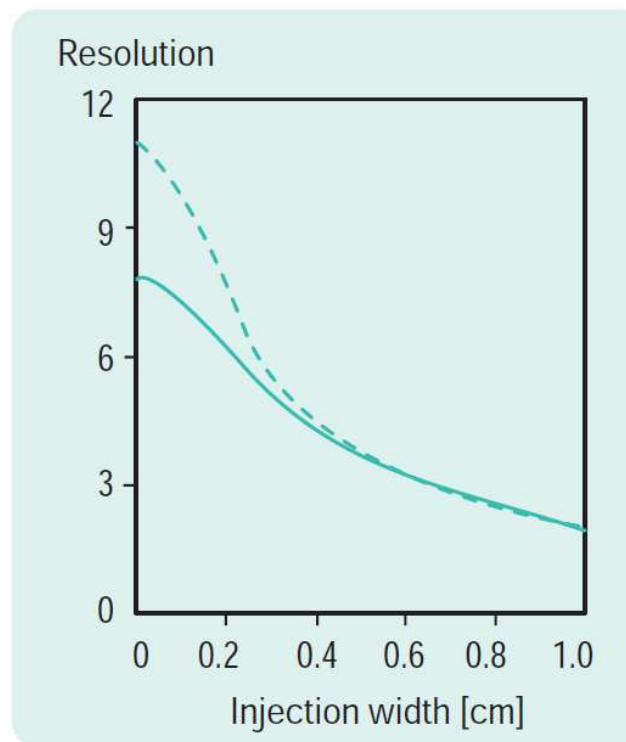
$$\sigma_{Inj}^2 = \frac{\omega_i^2}{12}$$

Injection length (mm)	N (D=10 ⁻⁵ cm ² /s)	N (D=10 ⁻⁶ cm ² /s)
1	238,000	1,400,000
2	164,000	385,000
10	81,000	112,000

$$\sigma_i^2 = \sigma_{Diffusion}^2 + \sigma_{injection}^2 + \sigma_{Température}^2 + \sigma_{Adsorption}^2 + \sigma_{Détection}^2 + \sigma_{Electrodispersion}^2 + \dots$$

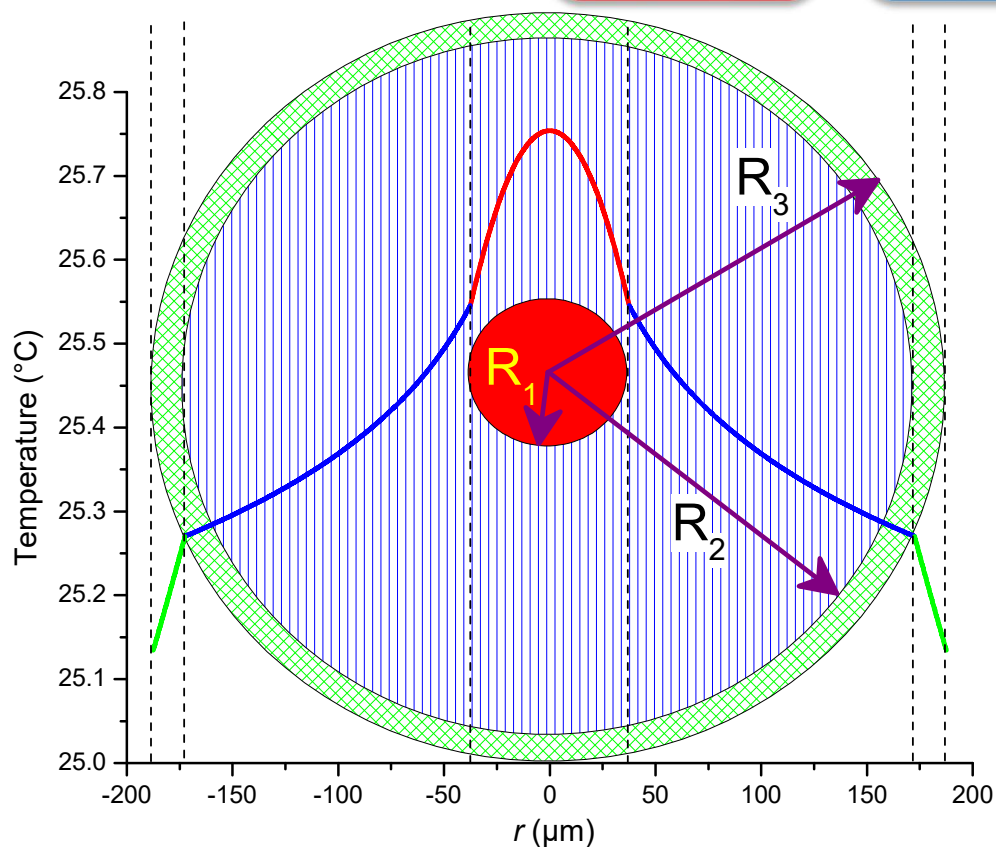
Idéalement, la longueur de l'injection (plug) devrait être inférieure à celle de la diffusion soit $\sqrt{2Dt}$.

En pratique, la largeur du plug d'injection doit être inférieure à 1-2 % de la longueur totale du capillaire



Calculation using:
 Upper curve = 20 kV,
 lower curve = 10 kV,
 $\mu_{e1} = 3.0 \times 10^{-4}$ cm²/Vs,
 $\mu_{e2} = 3.15$ cm²/Vs,
 $\mu_{EOF} = 3.0 \times 10^{-4}$ cm²/Vs,
 diffusion coefficients = 7×10^{-5} cm²/s.

$$T_0 - T_a = \frac{SeR_1^2}{2} \left(\frac{1}{2k_b} + \frac{1}{k_g} \ln \left(\frac{R_2}{R_1} \right) + \frac{1}{k_p} \ln \left(\frac{R_3}{R_2} \right) + \frac{1}{R_3 h} \right)$$



T_0 température interne capillaire
 T_a température externe au capillaire
 $Se = I^2/k_e$; I densité de courant,
 k_e conductivité électrique de l'électrolyte
 k_b conductivité thermique de l'eau*
 k_g conductivité thermique du verre
 k_p conductivité thermique du polyimide
 h coefficient de transfert de chaleur

Quelques exemples de conductivité thermique

Matériau	Conductivité thermique
QUARTZ	1,4 W m ⁻¹ K ⁻¹
VERRE	1,0 W m ⁻¹ K ⁻¹
BOROSILICATE	
POLYIMIDE	0,15 W m ⁻¹ K ⁻¹
EAU	0,6 W m ⁻¹ K ⁻¹
METHANOL	0,2 W m ⁻¹ K ⁻¹
AIR	0,025 W m ⁻¹ K ⁻¹

*Eau (T en °C):

$$k_b = 0,5605 + 1,998 \cdot 10^{-3}T - 7,765 \cdot 10^{-6}T^2$$

$$\sigma_i^2 = \sigma_{Diffusion}^2 + \sigma_{injection}^2 + \sigma_{Température}^2 + \sigma_{Adsorption}^2 + \sigma_{Détection}^2 + \sigma_{Electrodispersion}^2 + \dots$$

Méthode d'Evenhuis

$$\Delta T = \frac{G_T - G_0}{\gamma G_0}$$

Avec :

$G_T = \frac{I}{V}$: conductance de la solution subissant un effet

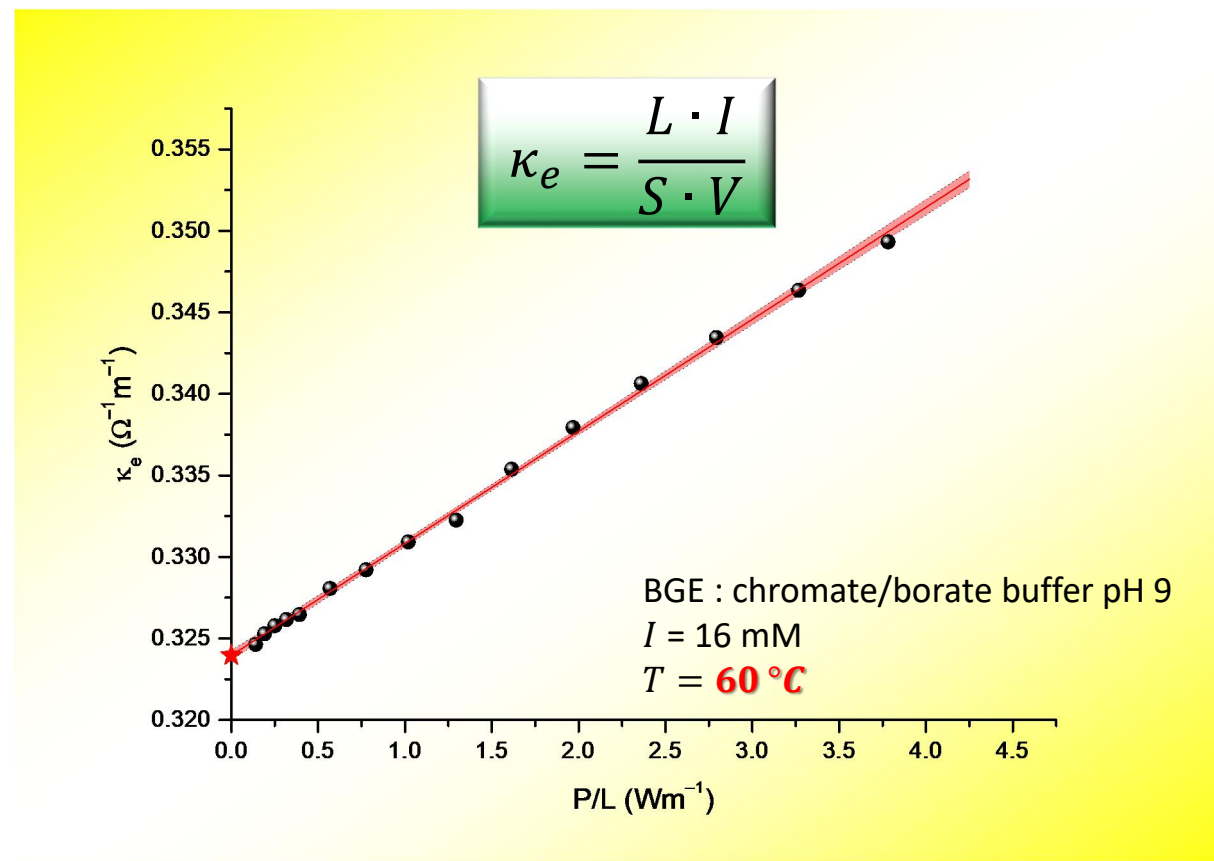
Joule,

G_0 : conductance de cette même solution sans effet

Joule,

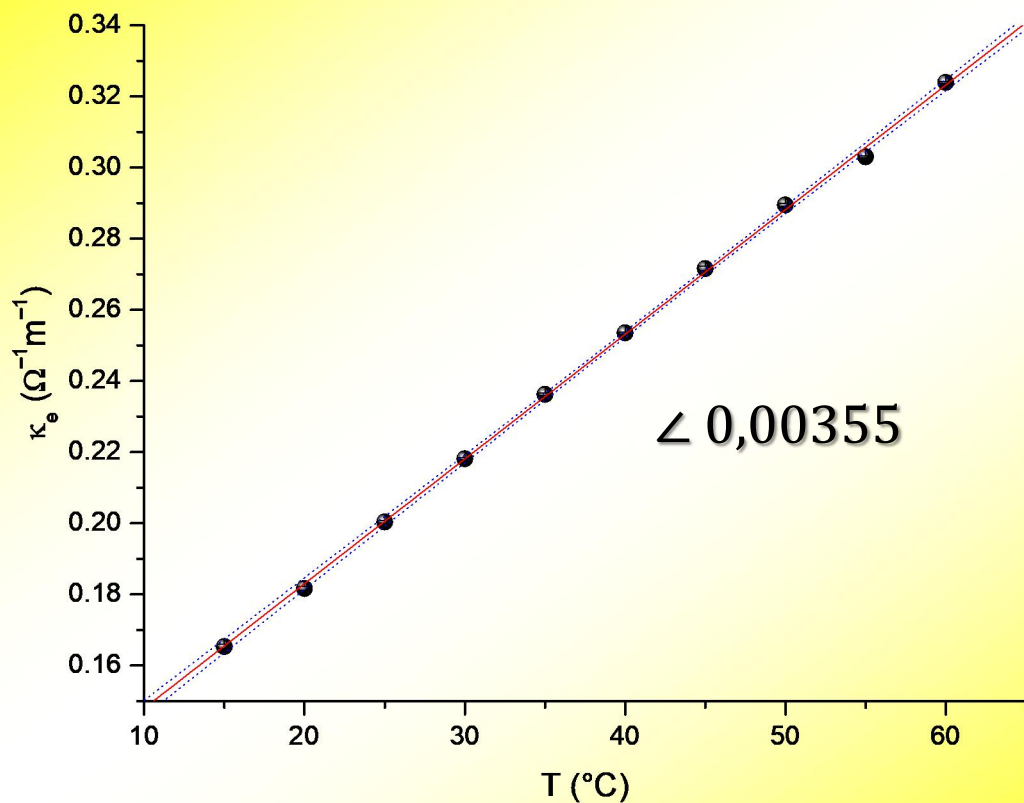
ΔT : différence de température entre l'intérieur du capillaire et du système de refroidissement,

γ : coefficient thermique de la conductivité électrique qui peut être déterminé expérimentalement à partir de la conductivité électrique κ_e de l'électrolyte extrapolée à une puissance nulle.



La conductivité électrique s'exprime en Siemens par mètre : $S \cdot m^{-1} = \Omega^{-1} \cdot m^{-1}$.

Evenhuis, C.J., Guijt, R.M., Macka, M., Marriott, P.J., Haddad, P.R.: Internal electrolyte temperatures for polymer and fused-silica capillaries used in capillary electrophoresis. *Electrophoresis* **26**, 4333–4344 (2005)



$$\gamma = \frac{1}{\kappa_e} \frac{\partial \kappa_e}{\partial T}$$

Exemple :

@ 25 °C $\kappa_e = 0,20036 \Omega^{-1}m^{-1}$

$$\gamma =$$

@ 50 °C $\kappa_e = 0,28949 \Omega^{-1}m^{-1}$

$$\gamma =$$



γ n'est pas une constante !



Diapo #95

$$T_0 - T_a = \frac{SeR_1^2}{2} \left(\frac{1}{2k_b} + \frac{1}{k_g} \ln\left(\frac{R_2}{R_1}\right) + \frac{1}{k_p} \ln\left(\frac{R_3}{R_2}\right) + \frac{1}{R_3 h} \right)$$

Quelques exemples :

air (25°C) v = 2 m/s

263^[1]

11-114, 240^[2]

Agilent HP^{3D} CE v = 10 m/s

312^[2]

liquide

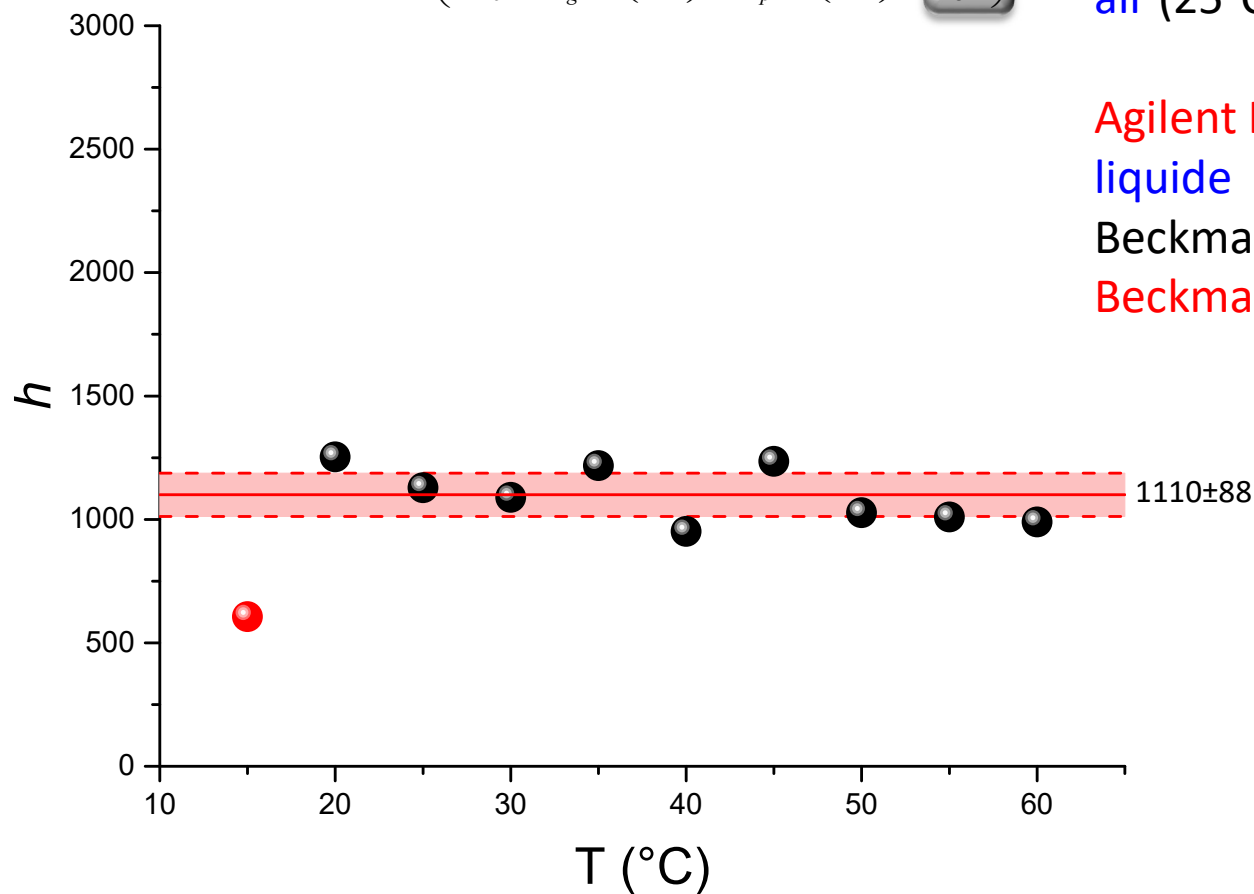
jusqu'à 10000

Beckman PACE/MDQ (25°C)

940^[3]

Beckman PACE/MDQ (15-60°C)

1110 ± 88^[4]



[1] Grossman, P. D.; Colburn, J. C. *Capillary Electrophoresis - Theory and Practice*; Academic Press, Inc.: San Diego, 1992.

[2] Evenhuis, C. J.; Guijt, R. M.; Macka, M.; Marriott, P. J.; Haddad, P. R. *Anal. Chem.* **2006**, *78*, 2684-2693.

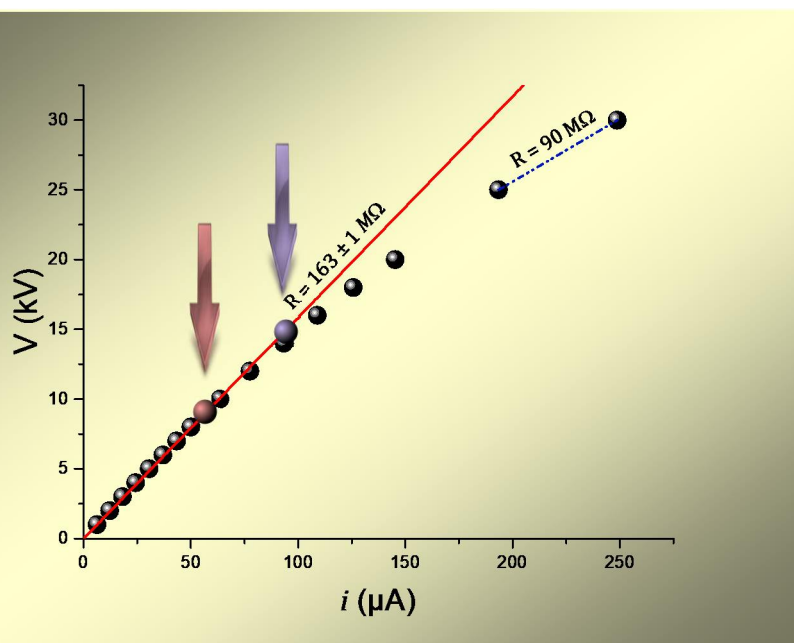
[3] Peterson, N. J.; Nikolajsen, R. P. H.; Mogensen, K. B.; Kutter, J. P. *Electrophoresis* **2004**, *25*, 253-269

[4] Aupiais, J., *J. Solution Chem.* **2011**, *40*, 1629-1644.

Exemple: capillaire $50 \mu\text{m} \times 360 \mu\text{m}$, NaNO_3 0,1 M, « coolant » : $T = 55 \text{ }^\circ\text{C}$

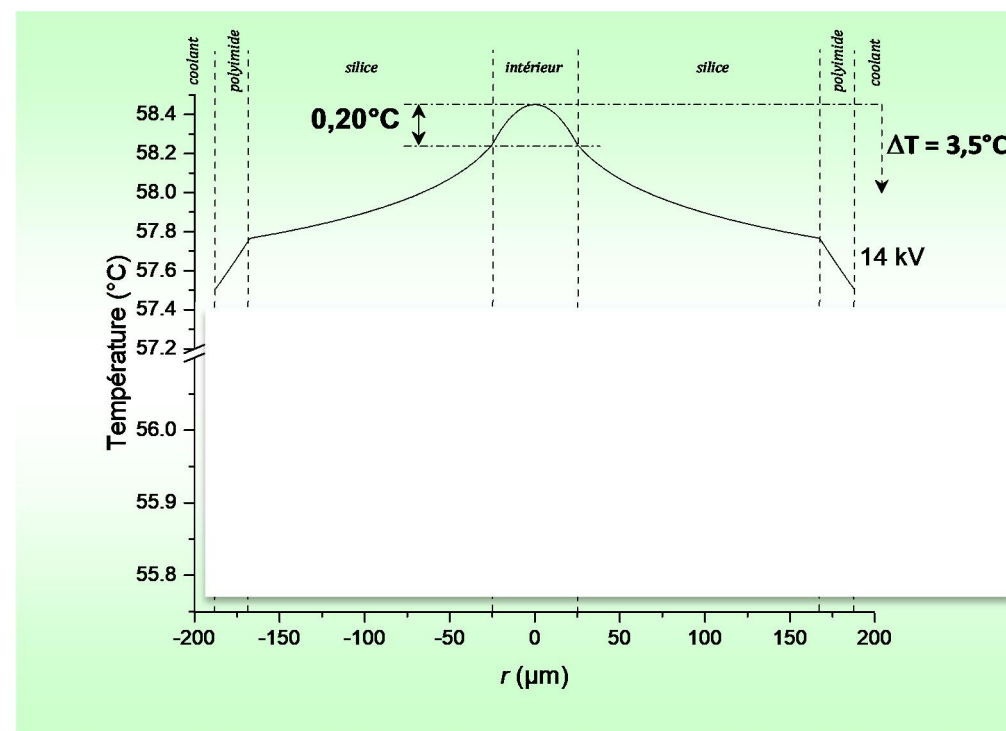
Vérification de la loi d'Ohm

$$V = Ri$$

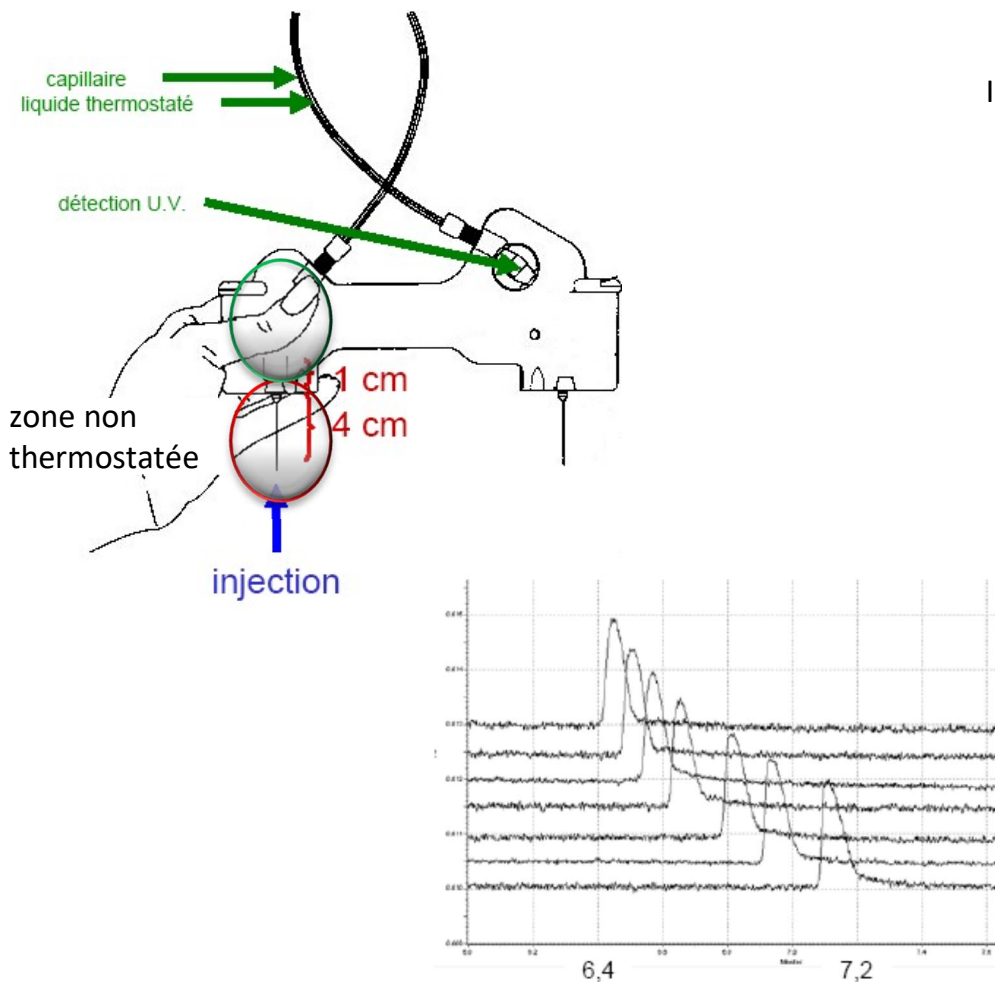


$V = 15 \text{ kV}$, tension optimale en terme de temps de séparation (effet Joule contrôlé par le système de refroidissement).

Calcul de ΔT

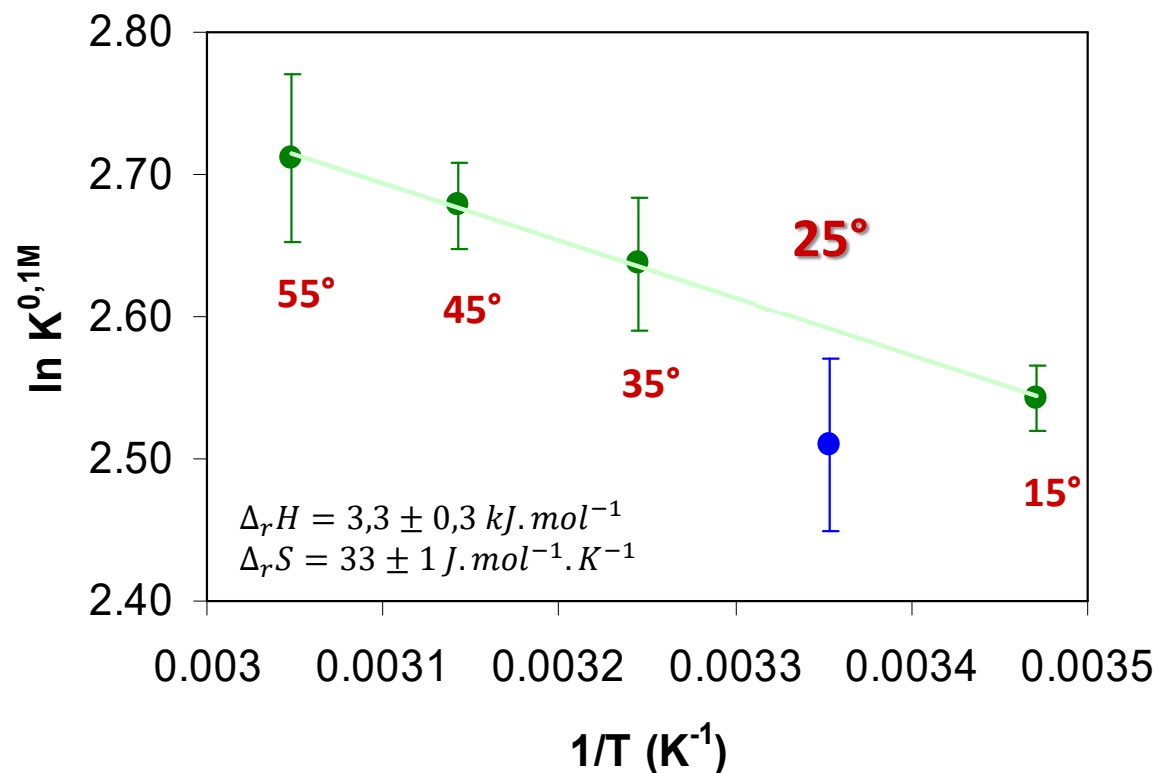


$V = 8 \text{ kV}$, tension optimale en terme de contrôle de l'élévation de température ($\Delta T \leq 1 \text{ }^\circ\text{C}$).



Complexation de Ca^{2+} par SeO_4^{2-}

$I = 0,1 \text{ M}$, $\text{pH} = 3,5$, $U = 8 \text{ kV}$, $T = (15 \pm 0,2)^\circ\text{C}$, $(35 \pm 0,3)^\circ\text{C}$, $(45 \pm 0,3)^\circ\text{C}$, $(55 \pm 0,3)^\circ\text{C}$



Loi de van't Hoff :
$$\ln K = -\frac{\Delta_r H}{RT} + \frac{\Delta_r S}{R}$$

$$\sigma_{Ads}^2 = \frac{k' v_{eof} l}{(1 + k')^2} \left(\frac{r^2 k'}{4D} + \frac{2}{K_d} \right)$$

$$\begin{aligned} \sigma_i^2 &= \sigma_{Diffusion}^2 \\ &+ \sigma_{injection}^2 \\ &+ \sigma_{Température}^2 \\ &+ \sigma_{Adsorption}^2 \\ &+ \sigma_{Détection}^2 \\ &+ \sigma_{Electrodispersion}^2 \\ &+ \dots \end{aligned}$$

k' = capacity factor

v_{EOF} = electroosmotic flow velocity

D = solute diffusion coefficient

l = capillary effective length

K_d = first order desorption rate constant

r = capillary inner radius

$$k' = \frac{t_r - t_0}{t_0}$$

t_r = elution time
of a retained solute

t_0 = elution time
of an unretained solute

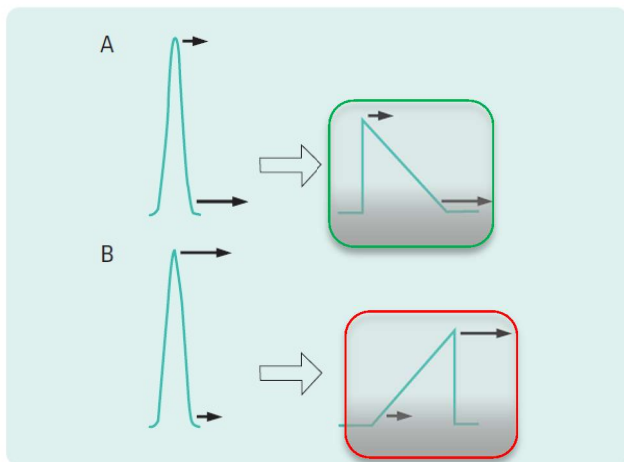


$$\sigma_i^2 = \sigma_{\text{Diffusion}}^2 + \sigma_{\text{injection}}^2 + \sigma_{\text{Température}}^2 + \sigma_{\text{Adsorption}}^2 + \sigma_{\text{Détection}}^2 + \sigma_{\text{Electrodispersion}}^2 + \dots$$

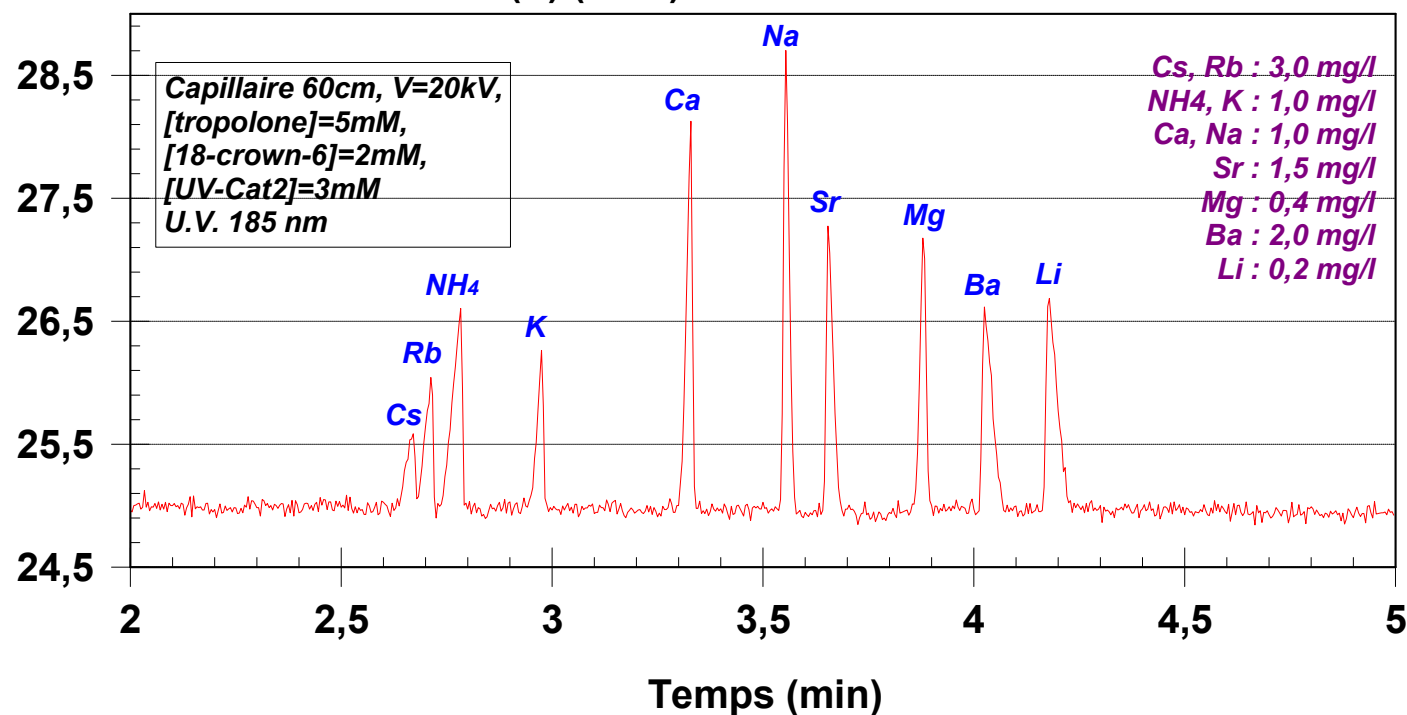
- ⇒ Perturbation locale du champ électrique par le passage d'une zone solutée
- ⇒ Dispersion de la vitesse de migration
- ⇒ Profil dissymétrique du pic

$$i = A \cdot \kappa_e(x) \cdot E(x)$$

where A = cross section of the capillary $[(\pi d_c^2)/4]$
 $\kappa_e(x)$ = local electrical conductivity
 $E(x)$ = local electric field strength



Unité d'absorbance (V) (1E-3)



L'électrodispersion (mais aussi le stacking et la détection photométrique) peut être prédite théoriquement en solutionnant les équations de déplacement aux limites. Friedrich Kohlrausch trouva une solution élégante en 1897. Elle est désormais appelée « fonction de régulation de Kohlrausch » (KRF).

$$\omega(x) = \sum_i \frac{|z_i| c_i(x)}{\mu_i}$$

A retenir : $\omega(x)$ est dépendant de la distance mais indépendant du temps.

Conductance

$$\kappa^S = \kappa^{BGE} + \sum_j b_j C_j^Z$$

$$b_j = F \mu_A (\mu_j - \mu_B) \left(1 - \frac{1}{\mu_j} \right)$$

BGE : Cation A + Anion B

Echantillon : ions j

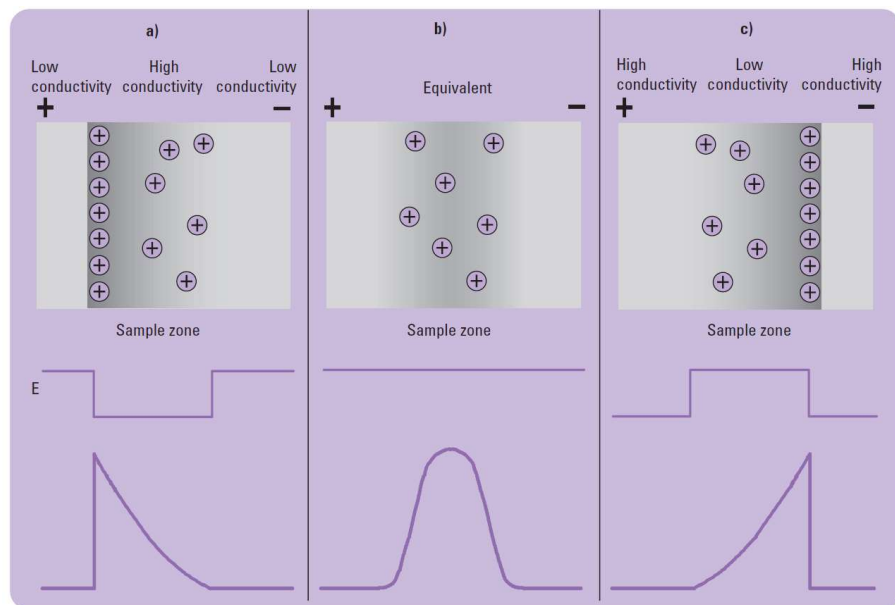
μ_j : mobilité réduite

Champ électrique

$$E^S = \frac{E^{BGE}}{1 - \sum_j a_j C_j^Z}$$

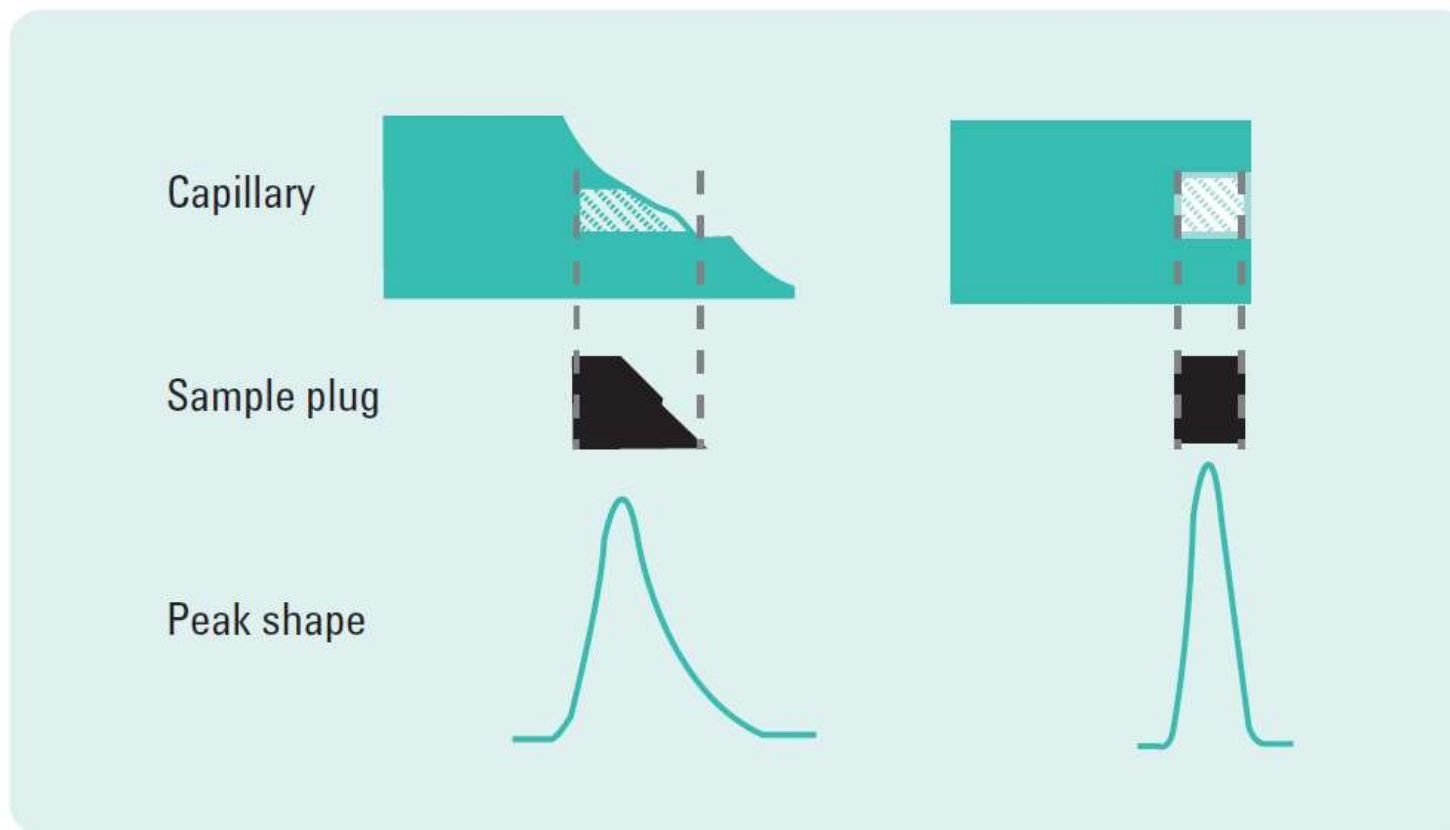
$$a_j = \frac{k_j}{C_j^S} (1 - \mu_j)$$

$$\text{et } k_j = \frac{1}{\mu_j} \times \frac{\mu_j - \mu_B}{1 - \mu_B}$$

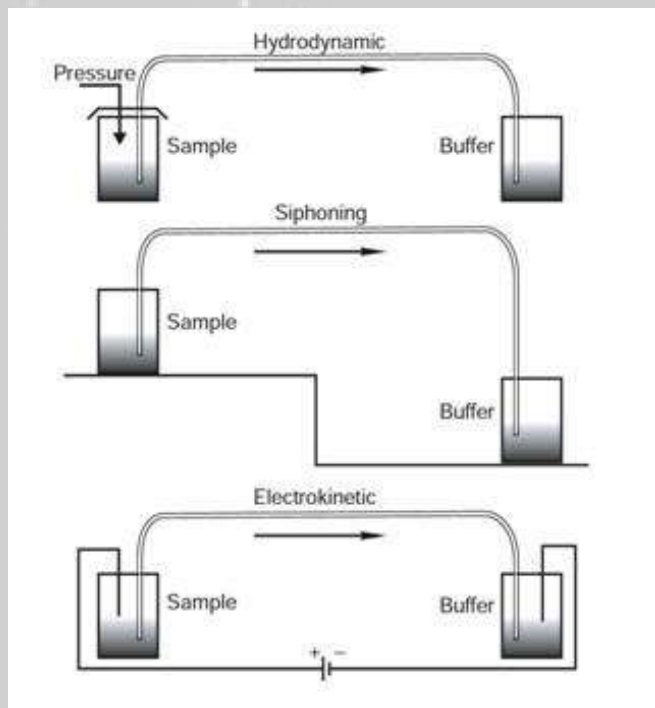


- si $\mu_j > 1$ alors $E^S < E^{BGE}$ **traîne à l'arrière du pic**
- si $\mu_j = 1$ alors $E^S = E^{BGE}$ **pic symétrique**
- si $\mu_j < 1$ alors $E^S > E^{BGE}$ **traîne à l'avant du pic**

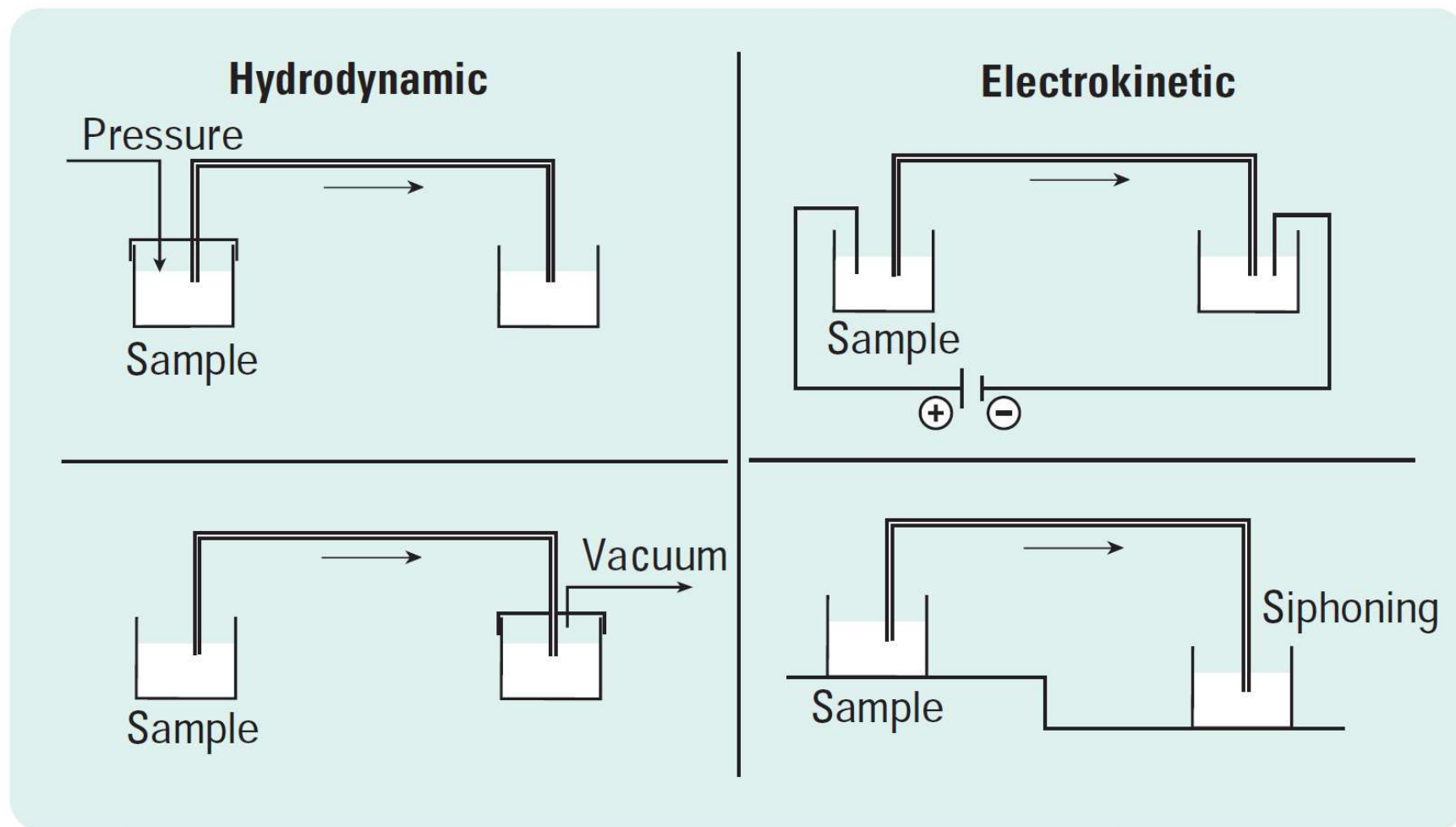
$$\begin{aligned} \sigma_i^2 &= \sigma_{\text{Diffusion}}^2 \\ &+ \sigma_{\text{injection}}^2 \\ &+ \sigma_{\text{Température}}^2 \\ &+ \sigma_{\text{Adsorption}}^2 \\ &+ \sigma_{\text{Détection}}^2 \\ &+ \sigma_{\text{Electrodispersion}}^2 \\ &+ \text{autres} \end{aligned}$$

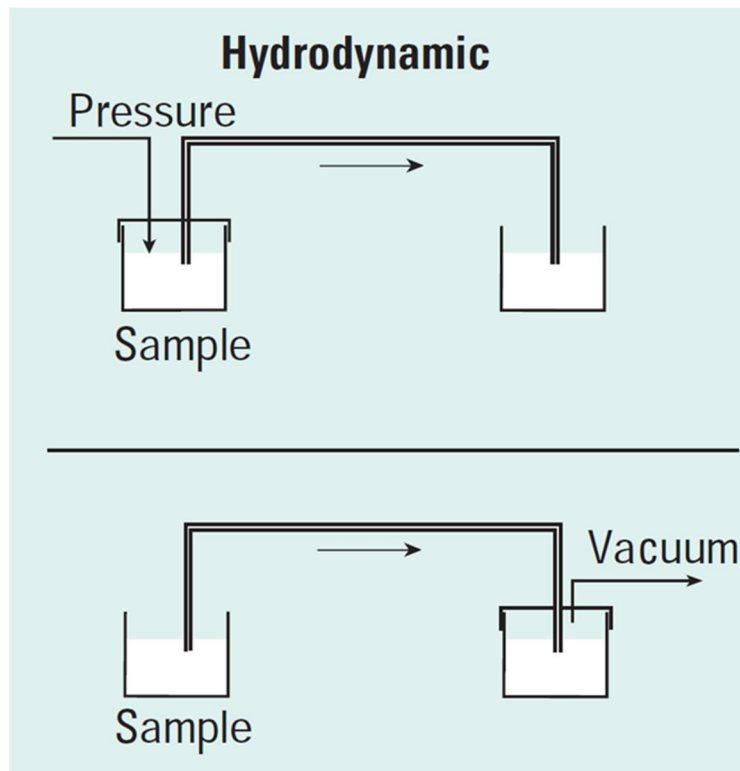


à la coupe



Les modes d'injection



**Injection par ΔP**

$$V_{inj} = \frac{\Delta P d^4 \pi t_{inj}}{128 \eta L}$$

ΔP : différence de pression appliquée

d : diamètre interne du capillaire

t_{inj} : temps d'injection

η : viscosité de l'électrolyte

L : longueur totale du capillaire

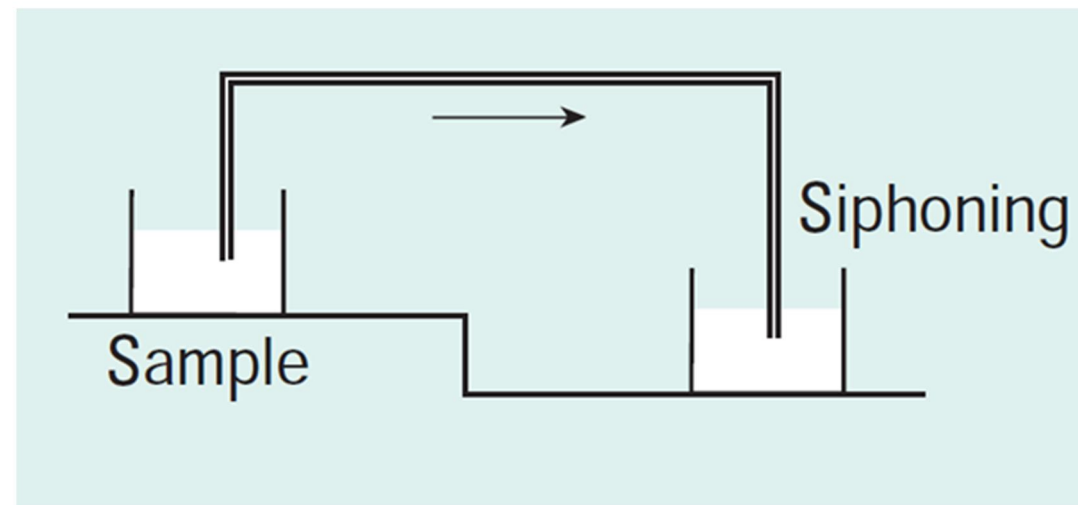
Injection par Δh

ρ : densité de l'électrolyte

g : 9,807 m/s²

Δh : hauteur entre les réservoirs

$$\Delta P = \rho g \Delta h$$



Il suffit de d'exprimer ΔP en fonction de Δh

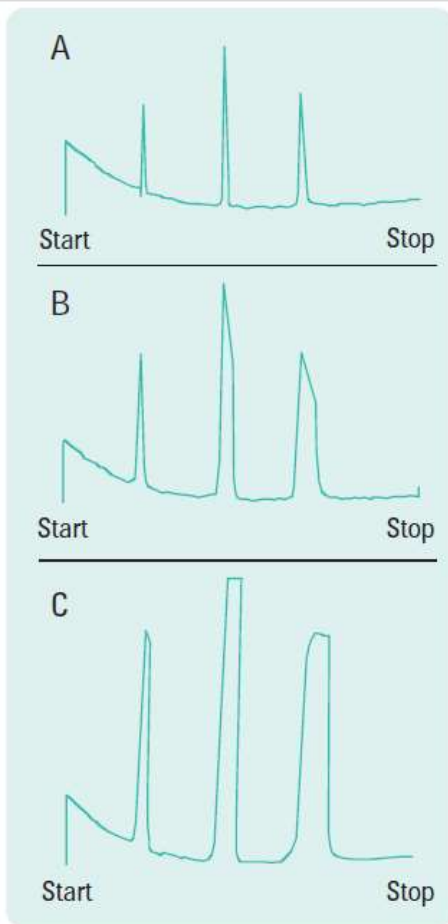


Figure 3.1
Effect of sample overloading on
peak shape. Starting zone widths:
A = 0.6 cm, B = 2.0 cm, C = 3.0 cm.

- Répétabilité inférieure à 3 %
- Volume injecté – qq nL (< 1-2 % volume total)
- Diamètre minimum (méthode Δh) = 30 μm
- Méthode ΔP moins bonne que Δh
- Composition injectée identique à la composition initiale de l'échantillon

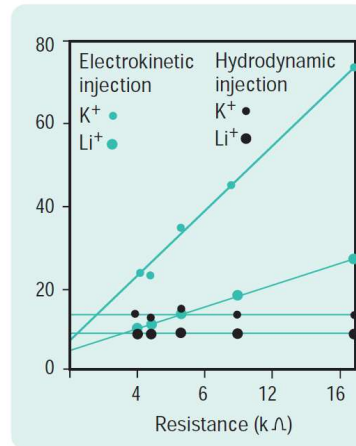
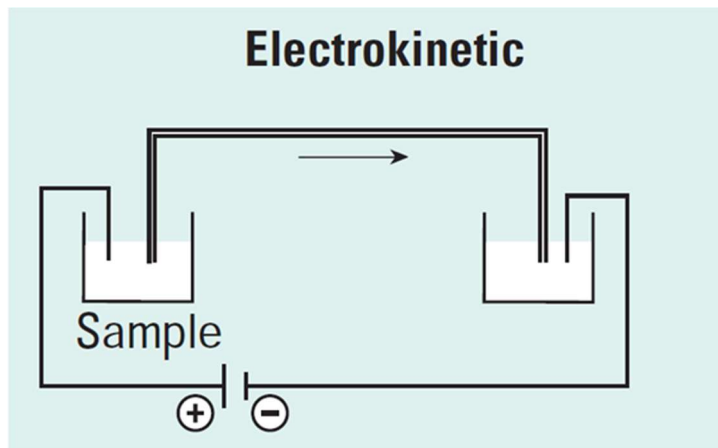


Figure 3.3
Quantity of sample loaded as a function of sample resistance for hydrodynamic and electrokinetic injection.³²

$$Q = \frac{(\mu_i + \mu_{eof}) V r^2 \pi C t_{inj}}{L}$$

μ_i : mobilité de l'ion i

μ_{eof} : mobilité électroosmotique

t_{inj} : temps d'injection

V : tension

C : concentration de l'ion i

r : rayon interne du capillaire



Tension d'injection : 3-5 fois moindre que la tension d'analyse

Temps d'injection : 10-30 s

la composition injectée est différente de la composition initiale de l'échantillon

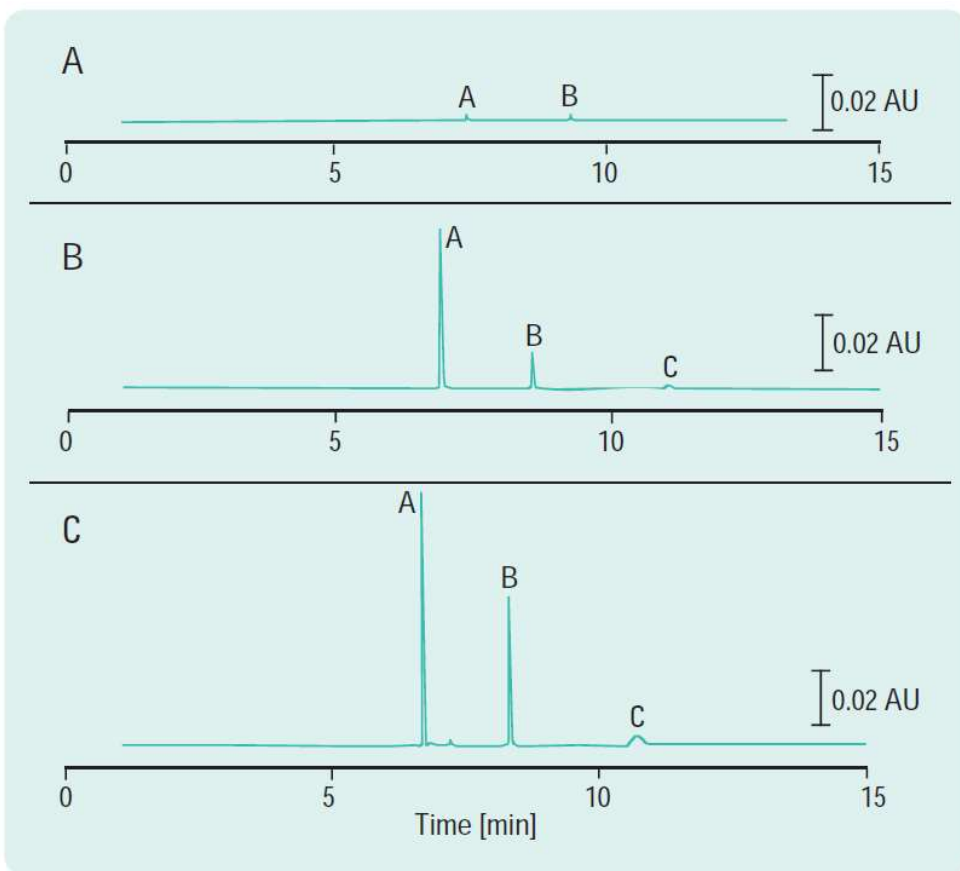
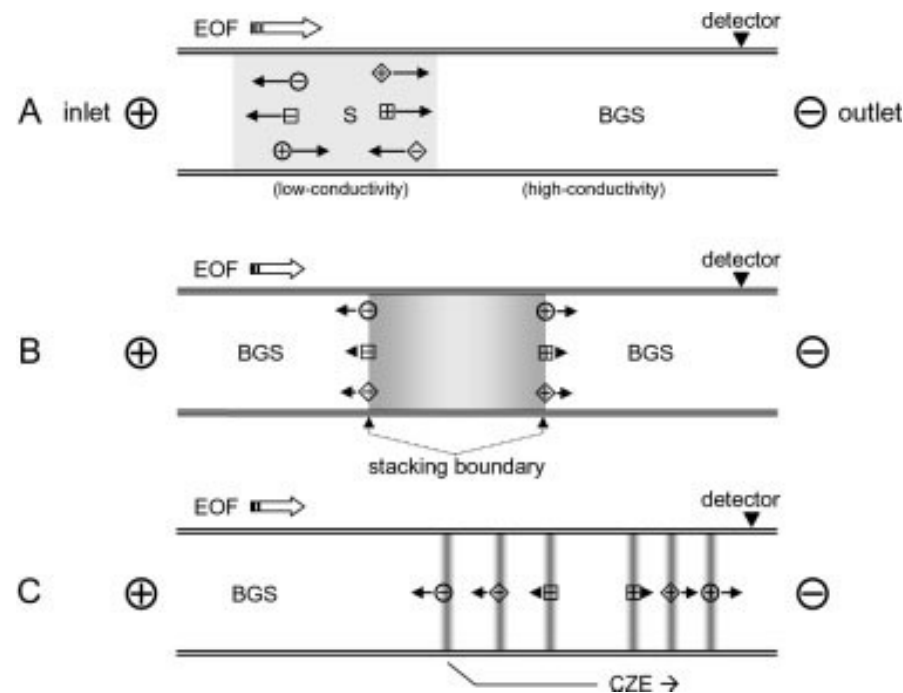
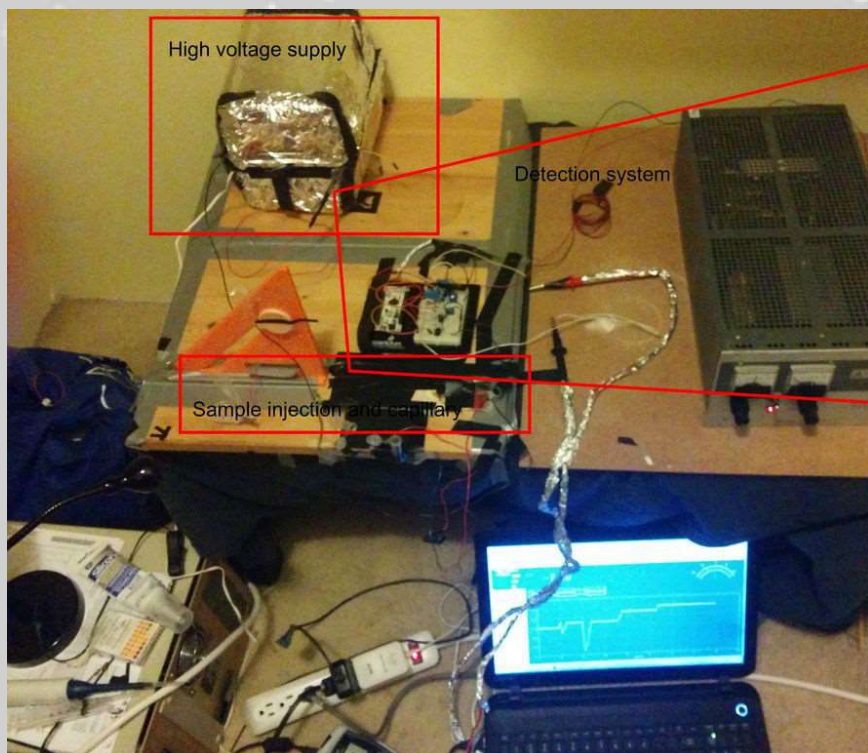


Figure 3.4
Field amplified sample injection.³³ A) sample dissolved in buffer; B) sample dissolved in water; C) short plug of water injected before sample in B.



La zone contenant l'analyte doit avoir une concentration plus faible. Lors de l'application du champ électrique, ce dernier est localement plus important dans la zone contenant l'analyte (donc $\vec{v} \nearrow$)



Systèmes de détection

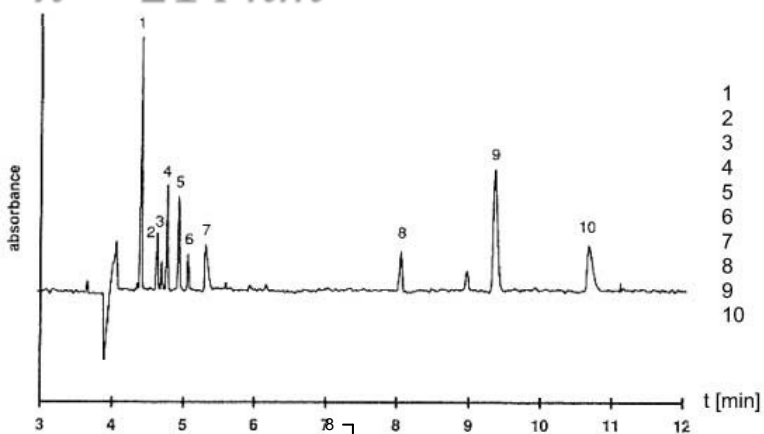
- **Absorptiométrie**
 - Longueur d'onde fixe, barrette de diodes, absorption directe (chromophore), inverse
- **Fluorimétrie**
 - Fluorescence inverse (luminophore), directe
- **Conductométrie**
 - Ampérométrie, potentiométrie, conductivité
- **Electrochimie**
- **Les techniques couplées**
 - ICPMS, ICPOES, RIMS

Principe : détecter l'analyte au moyen de photons de longueur d'onde calibrée utilisant les phénomènes d'absorption (mode direct) ou de transfert d'un chromophore par l'analyte (mode indirect).

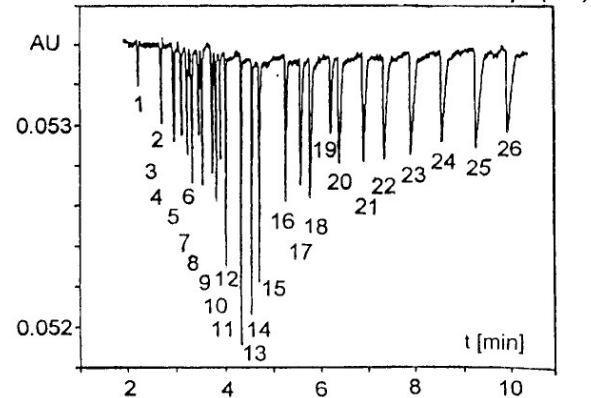
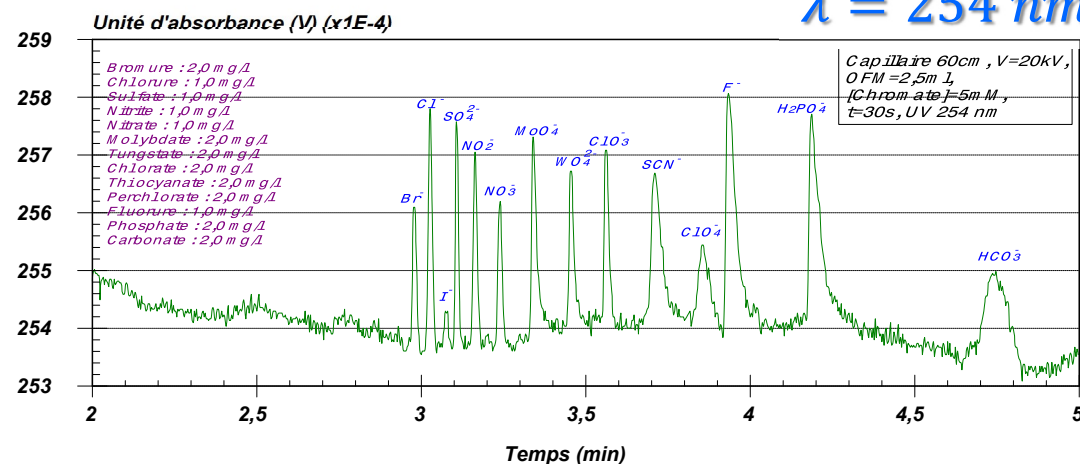
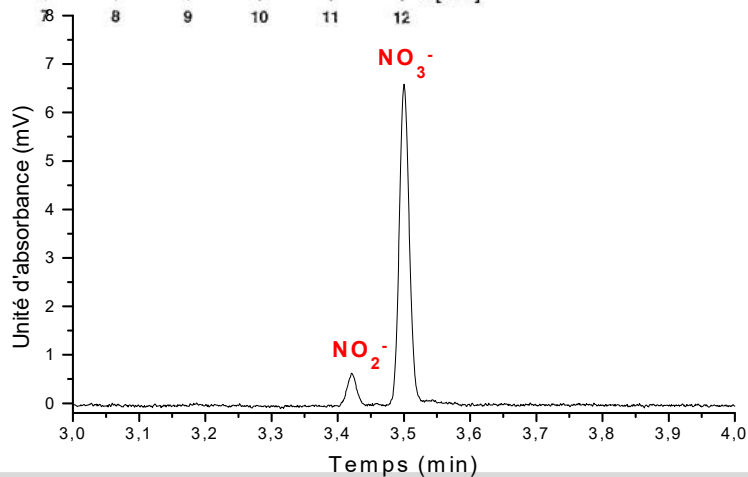
$\lambda = 214 \text{ nm}$

Mode direct = sélectivité Mode indirect = universalité

$\lambda = 254 \text{ nm}$

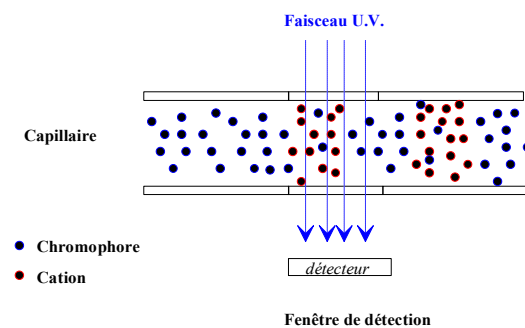
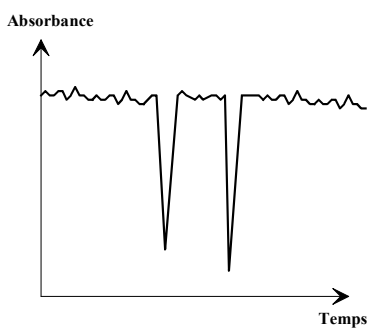
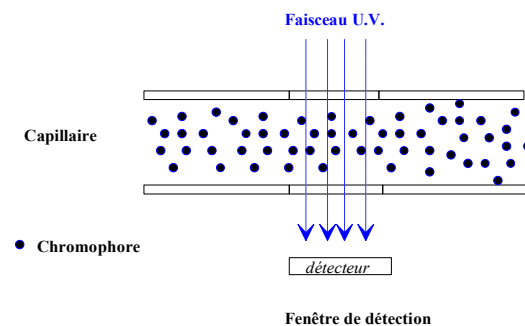
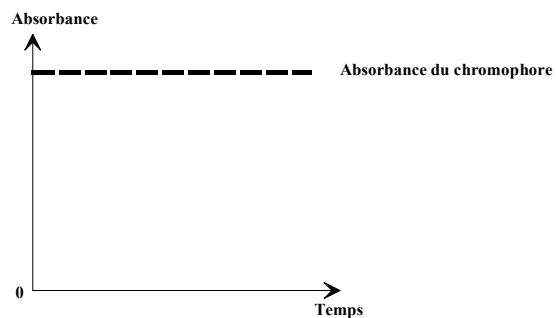


- 1 $\text{Fe}(\text{CN})_6^{4-}$
- 2 $\text{Co}(\text{CN})_6^{3-}$
- 3 $\text{Fe}(\text{CN})_6^{3-}$
- 4 $\text{Ni}(\text{CN})_4^{2-}$
- 5 $\text{Pd}(\text{CN})_4^{2-}$
- 6 $\text{Pt}(\text{CN})_4^{2-}$
- 7 $\text{Cu}(\text{CN})_4^{3-}$
- 8 $\text{Cr}(\text{CN})_6^{3-}$
- 9 $\text{Au}(\text{CN})_2^-$
- 10 $\text{Ag}(\text{CN})_2^-$



- | | |
|---------------------|---------------------|
| 1 K^+ | 14 Pr^{3+} |
| 2 Ba^{2+} | 15 Nd^{3+} |
| 3 Ca^{2+} | 16 Sm^{3+} |
| 4 Na^+ | 17 Eu^{3+} |
| 5 Mg^{2+} | 18 Gd^{3+} |
| 6 Mn^{2+} | 19 Cu^{2+} |
| 7 Fe^{2+} | 20 Tb^{3+} |
| 8 Co^{2+} | 21 Dy^{3+} |
| 9 Ni^{2+} | 22 Ho^{3+} |
| 10 Zn^{2+} | 23 Er^{3+} |
| 11 Li^+ | 24 Tm^{3+} |
| 12 La^{3+} | 25 Yb^{3+} |
| 13 Ce^{3+} | 26 Lu^{3+} |

$\lambda = 214 \text{ nm}$

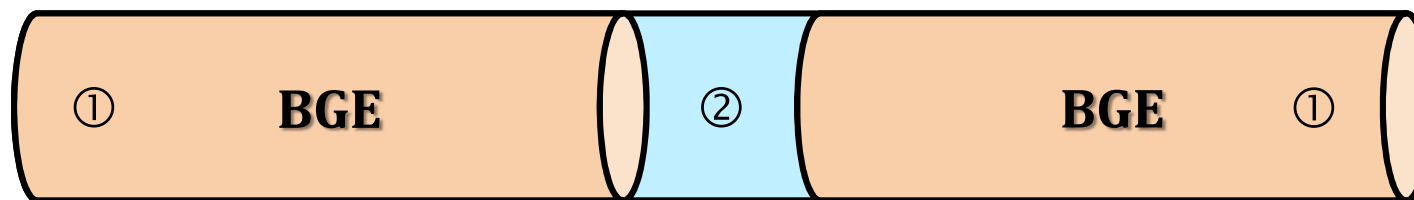


Rapport de déplacement R (appelé également Transfer Ratio ou « TR »)

$$TR = - \frac{\Delta C_{BGE}}{C_i}$$

ΔC_{BGE} : Changement de concentration de BGE dans la zone contenant l'analyte
 C_i : concentration de l'analyte

Fonction de régulation de Kohlrausch et rapport de déplacement



Anion : A
Cation : C

Anion : B
Cation : C

Anion : A
Cation : C

Zone ① $\omega_1 = \frac{c_A z_A}{\mu_A} + \frac{c_C z_C}{\mu_C}$

Zone ② $\omega_2 = \frac{c'_A z_A}{\mu_A} + \frac{c_B z_B}{\mu_B} + \frac{c'_C z_C}{\mu_C}$

Electroneutralité $c_A z_A = c_C z_C$

Electroneutralité $c'_A z_A + c_B z_B = c'_C z_C$

$$\omega_2 = \frac{c'_A z_A}{\mu_A} + \frac{c_B z_B}{\mu_B} + \frac{c'_A z_A}{\mu_C} + \frac{c_B z_B}{\mu_C}$$

$$\omega_1 = c_A z_A \left[\frac{1}{\mu_A} + \frac{1}{\mu_C} \right] = \frac{c_A z_A}{\mu_A \mu_C} (\mu_A + \mu_C)$$

$$\omega_2 = c'_A z_A \left[\frac{1}{\mu_A} + \frac{1}{\mu_C} \right] + c_B z_B \left[\frac{1}{\mu_B} + \frac{1}{\mu_C} \right]$$

$$\omega_1 = \omega_2$$

$$\frac{c_A z_A}{\mu_A \mu_C} (\mu_A + \mu_C) = c'_A z_A \left[\frac{1}{\mu_A} + \frac{1}{\mu_C} \right] + c_B z_B \left[\frac{1}{\mu_B} + \frac{1}{\mu_C} \right]$$

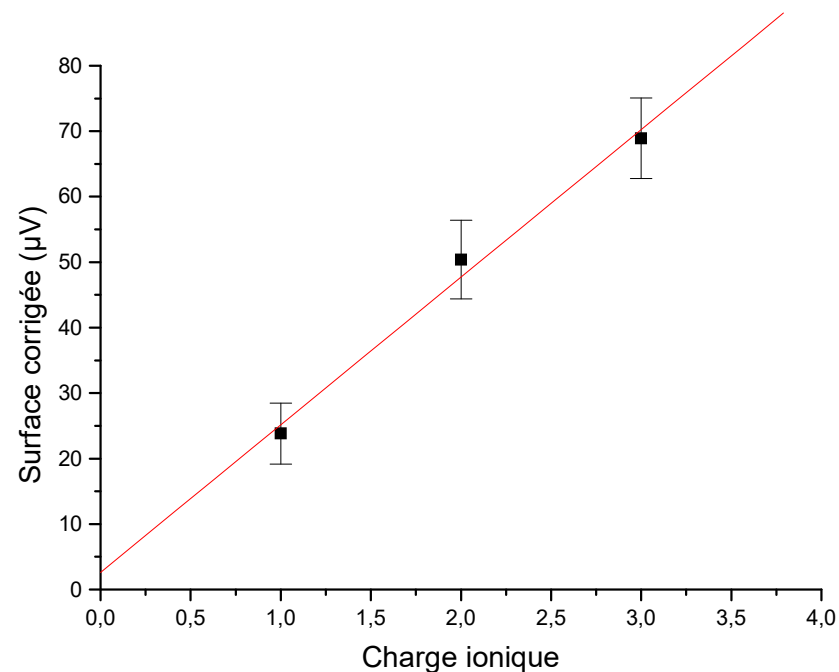
$$\text{Posons } \Delta c_A = c_A - c'_A$$

$$\frac{\Delta c_A}{c_B} = \frac{z_B \left(\frac{1}{\mu_B} + \frac{1}{\mu_C} \right)}{z_A \left(\frac{1}{\mu_A} + \frac{1}{\mu_C} \right)}$$

$$\frac{\Delta c_A}{c_B} = \frac{z_B \mu_A (\mu_B + \mu_C)}{z_A \mu_B (\mu_A + \mu_C)} = TR$$

Pour augmenter le rapport signal/bruit :

- **Eviter la complexation (charge ionique la plus élevée possible) car $TR \searrow$ avec la charge ionique moyenne.**
- **Augmenter TR : \Rightarrow les mobilités du chromophore et de l'analyte doivent être les plus proches possibles.**
- **Travailler avec un chromophore à ϵ_c élevé**



$$\Delta A = (TR \times \varepsilon_c - \varepsilon_i) b c_i$$

ΔA : variation d'absorbance lors du passage de l'analyte i

TR : rapport de déplacement

ε_c : coefficient d'extinction molaire du chromophore/BGE

ε_i : coefficient d'extinction molaire de l'analyte i

b : trajet optique

c_i : concentration de l'analyte

Limite de détection en absorptiométrie EC :

$$C_{det} = \frac{c_c}{TR \times D_R}$$

C_{det} : concentration minimale détectable

TR : rapport de déplacement

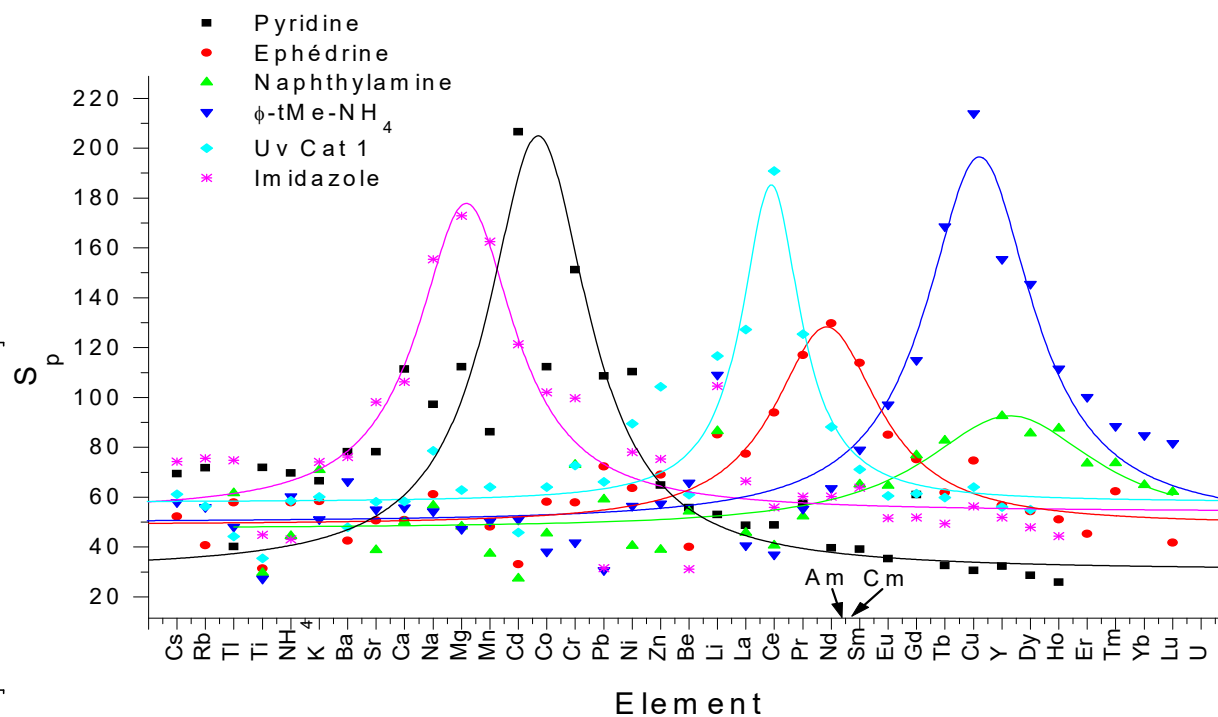
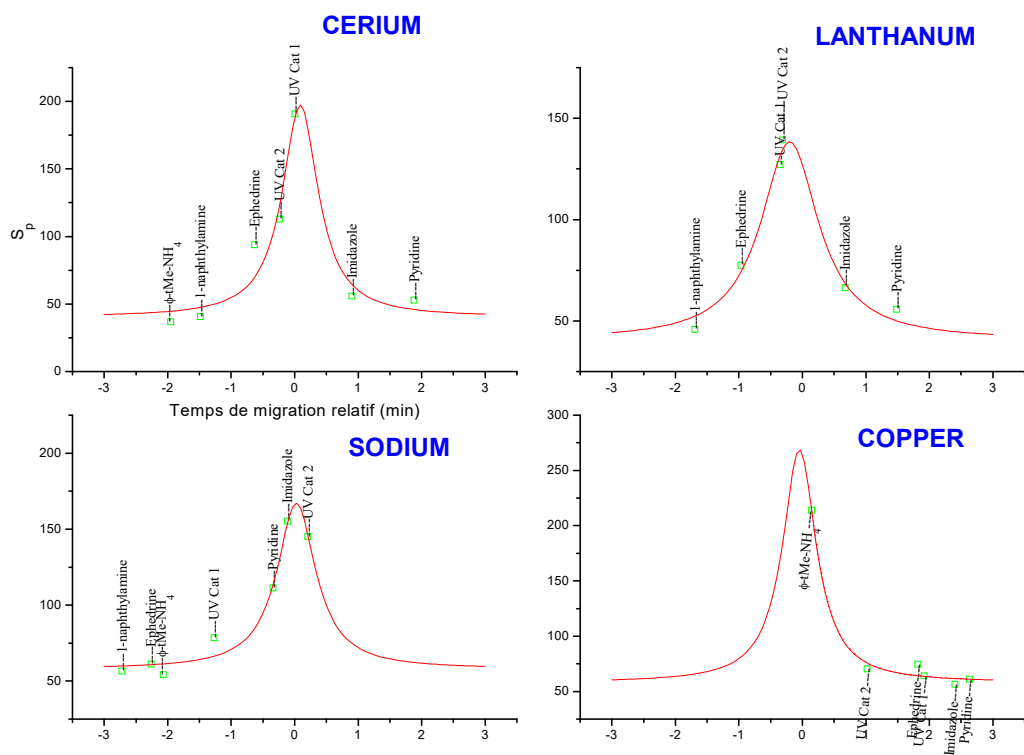
D_R : facteur de réserve défini par $D_R = \frac{A_c (= \varepsilon_c b c_c)}{\text{fluctuation ligne de base}}$

En pratique, pour un $DR = 10^4$,

$c_c = 10^{-2} \text{ M}, TR = 1,$

$C_{det} \approx 10^{-6} \text{ M}$

Idéalement, les mobilités du chromophore et de l'analyte doivent être les plus proches possibles.



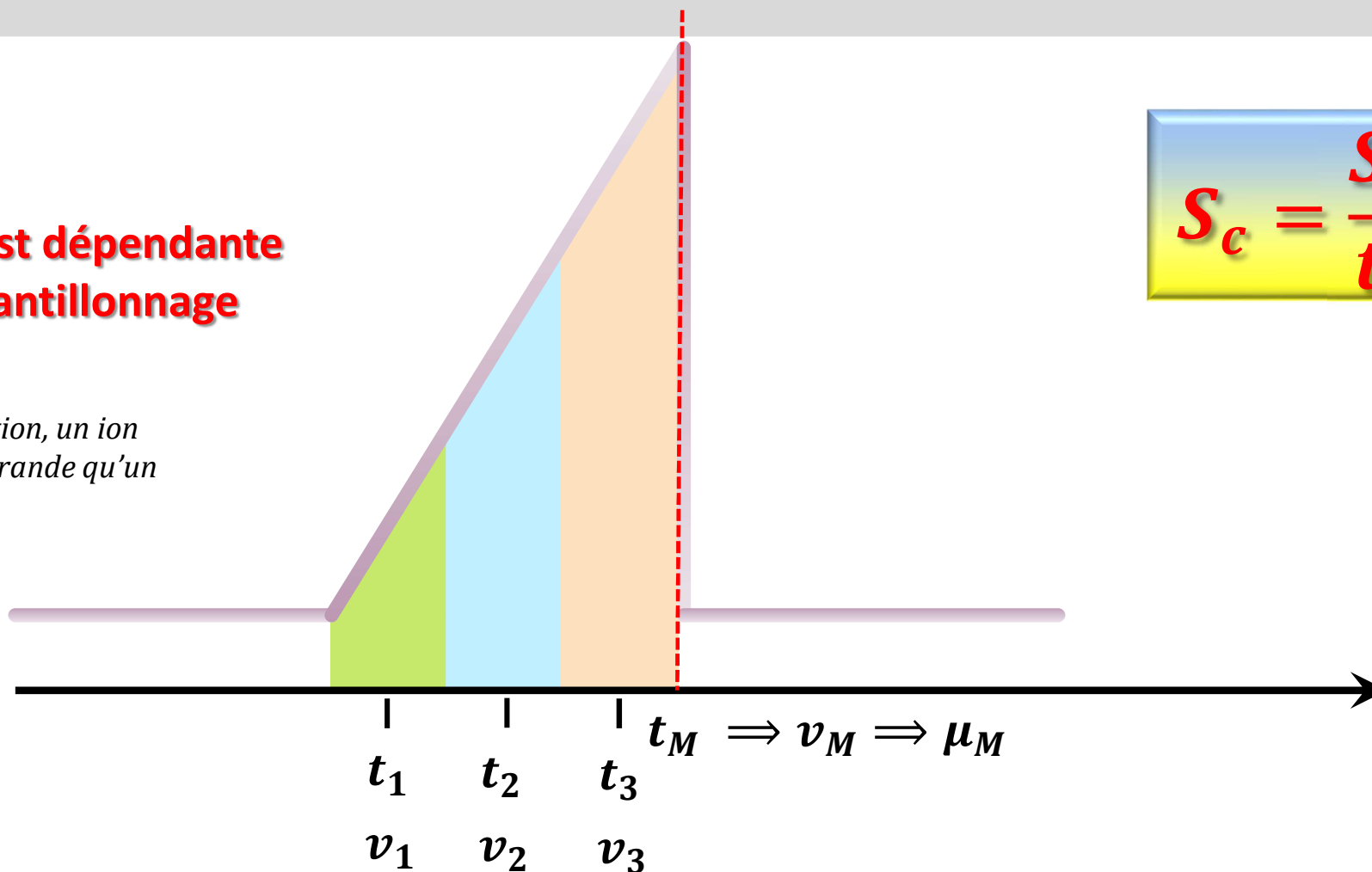
Aupiais, J., Optimization of cation detection by capillary zone electrophoresis with indirect UV absorbance. *Chromatographia* **1997**, 44 (5/6), 303-312.

$$S_p = \frac{H \times t}{S}$$

$$t_i = \frac{l}{v_i} = \frac{lL}{(\mu_{eo} + \mu_i)V}$$

La surface du pic est dépendante de la vitesse à échantillonnage constant !

(pour une même concentration, un ion lent aura une surface plus grande qu'un ion rapide)



$$S_c = \frac{S}{t}$$

Fréquence échantillonnage signal = 2 – 32 Hz

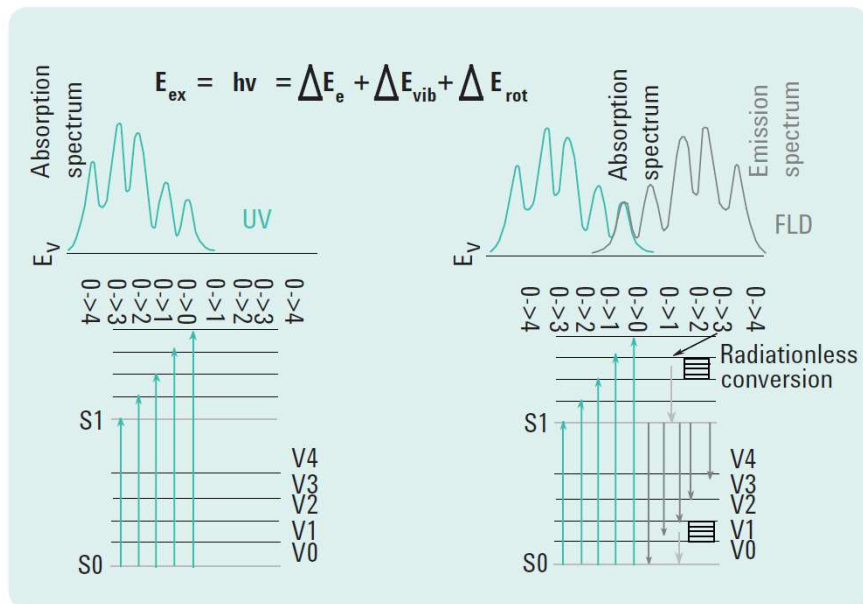


Figure 3.30
UV absorption spectrum of a molecule in solution and its emitted fluorescence spectrum (V0 through V4 are vibrational energy levels of the electronic ground state (S0), or of the next higher singlet electron energy level: S1).

$$S \approx k I_0 V_{cell} \Phi_i \epsilon_i C_i$$

k : efficacité de collection lumière
 I_0 : intensité d'excitation
 V_{cell} : volume illuminée dans la cellule
 Φ_i = rendement quantique de fluorescence
 ϵ_i : coefficient d'absorption molaire
 C_i : concentration de l'analyte i

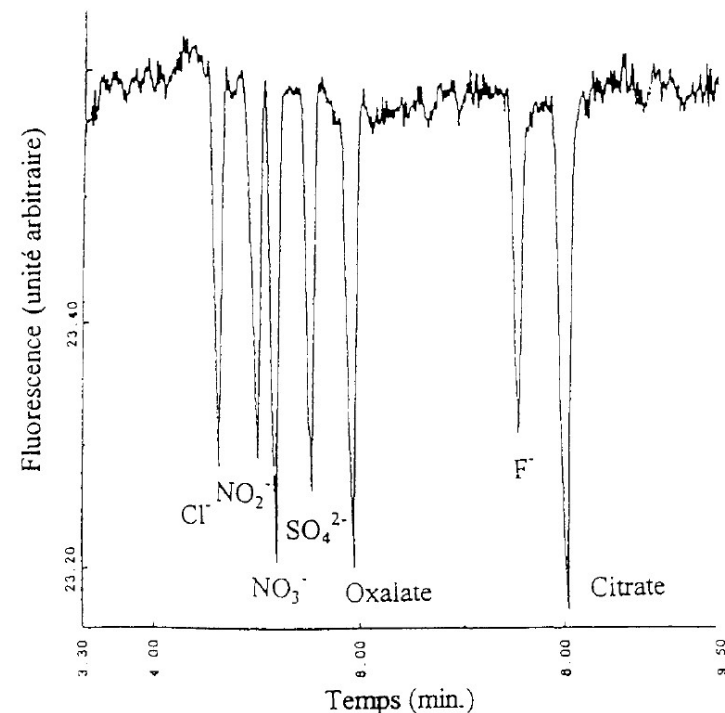


Figure 9. Analyse par électrophorèse capillaire d'un mélange d'anions inorganiques contenant également les ions oxalate et citrate avec une détection fluorimétrique indirecte [23]. Conditions opératoires : capillaire de silice fondue (57 cm × 50 μm, longueur utile 50 cm) ; tampon : H₃BO₃ 100 mM, Na₂B₄O₇ 20 mM, fluorescéine 80 μM, TTAB 10 μM ; température : 25 °C ; tension appliquée : -20 kV ; injection hydrodynamique : 4 s ; détection fluorimétrique $\lambda_{exc} = 488$ nm, $\lambda_{em} = 520$ nm.

conductivité

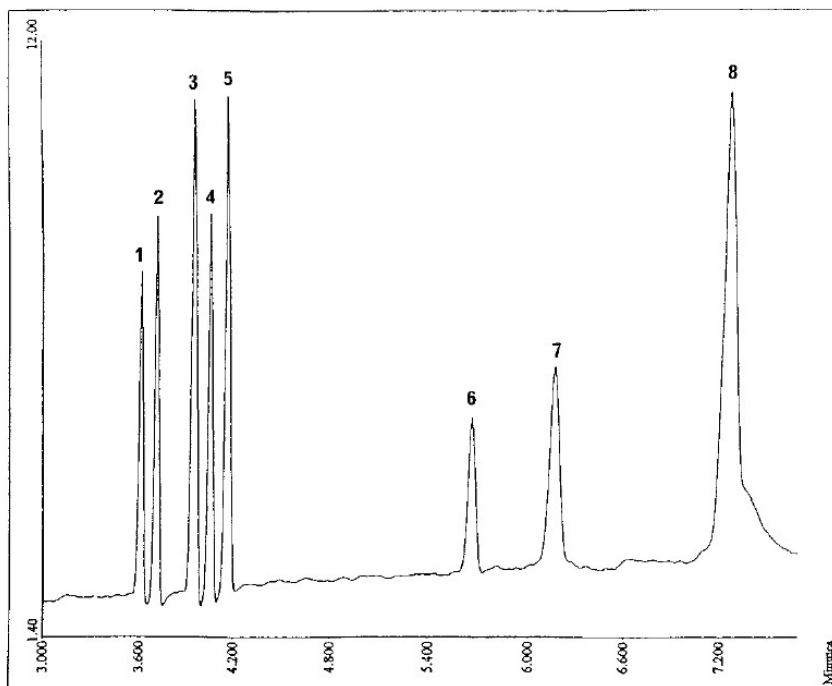


Figure 10. Analyse par électrophorèse capillaire d'un mélange d'anions inorganiques avec une détection conductométrique [17]. Conditions opératoires : capillaire de silice fondue (60 cm \times 50 μ m) ; tampon : CHES 50 mM, LiOH 10 mM, 0,03 % Triton X-100 ; conditionnement : CTAB 1 mM (0,4 min) ; tension appliquée : -25 kV ; courant : 10 μ A ; injection : 8 nL ; anions : 1. bromure ; 2. chlorure ; 3. nitrite ; 4. sulfate ; 5. nitrate ; 6. fluorure ; 7. phosphate ; 8. carbonate.

Ampérométrie

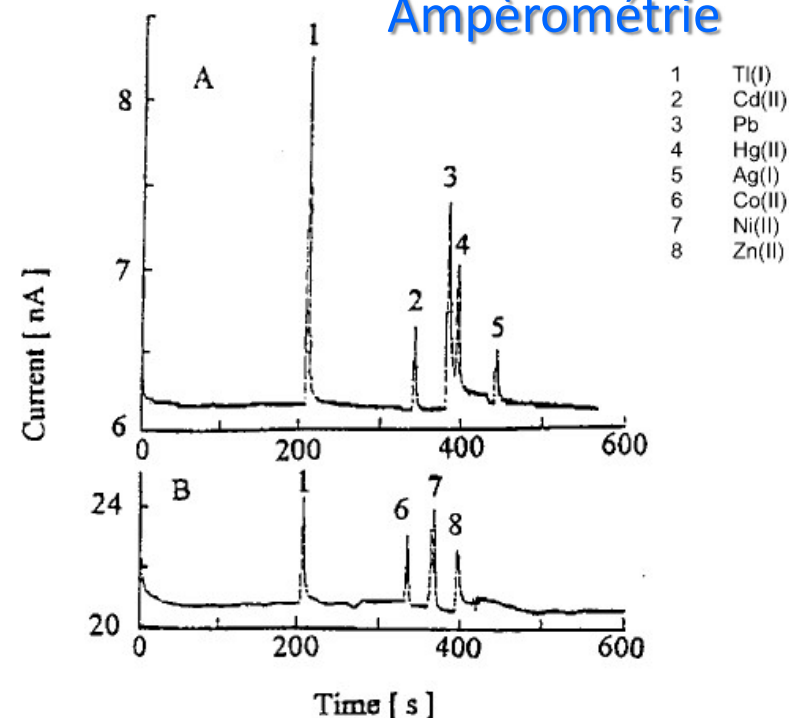


Fig.5 Separation of metal ions with cathodic detection at a 25- μ m Au electrode (relative to SCE). (A) Pulse conditions, -700 mV for 96 ms, with data collected over the last 48 ms, and 0 mV for 96 ms; analyte concentration 200 μ mol L⁻¹. (B) Pulse conditions, -1100 mV for 96 ms and 0 mV for 96 ms. Separation conditions: electromigration injection, 5 kV for 10 s; U = 20 kV; capillary 60 cm \times 25 μ m; buffer, 35 mmol L⁻¹ creatinine, 8 mmol L⁻¹ HIBA pH 4.8. Reproduced from Ref. [74], with permission

Difficulté : l'interfaçage !

$$\mu_{eo} = 3,4 \cdot 10^{-8} \text{ (m}^2\text{V}^{-1}\text{s}^{-1}\text{)}$$

On prendra $d = 50 \text{ }\mu\text{m}$, $V = 20 \text{ kV}$, longueur totale du capillaire = 60 cm

$$v_{eo} = \mu_{eo} E = \quad \text{m/s}$$

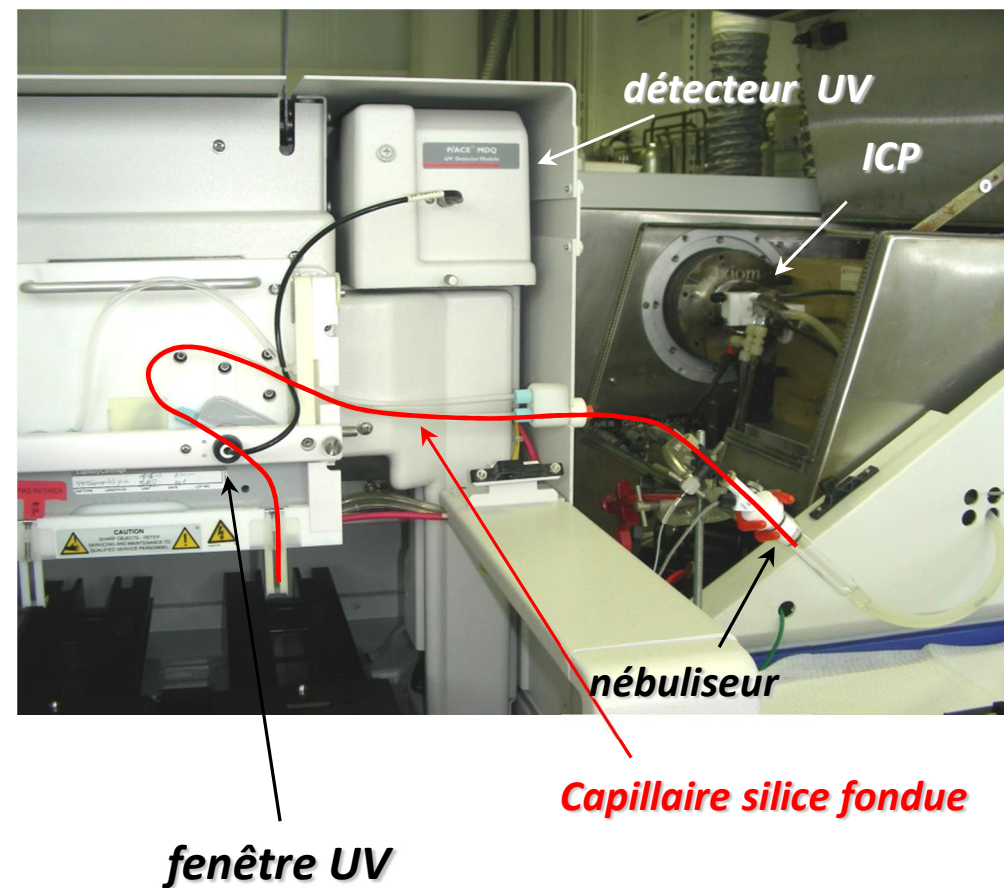
Calcul du volume d'un cylindre ($t = 1 \text{ s}$)

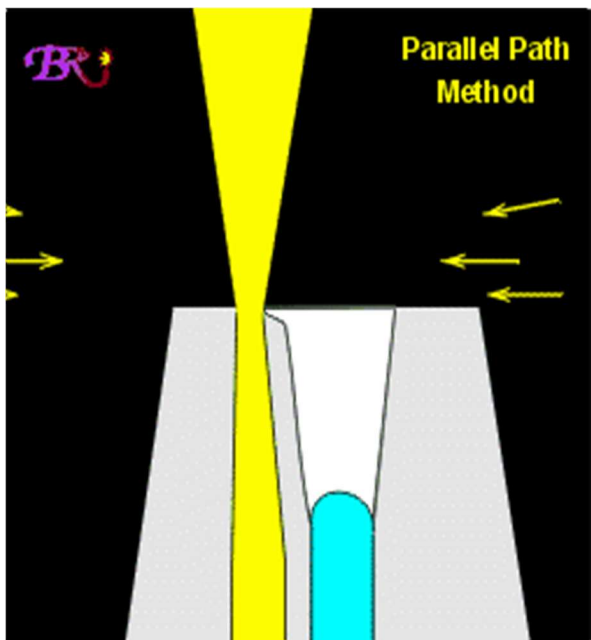
$$V_{cyl} = \pi r^2 \times x$$

$$V_{cyl} = \quad \text{m}^3/\text{s}$$

$$D =$$

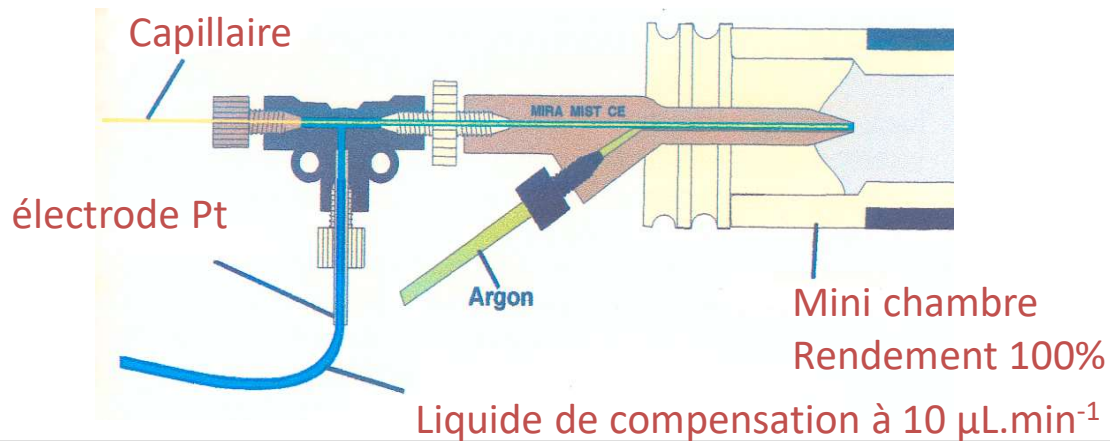
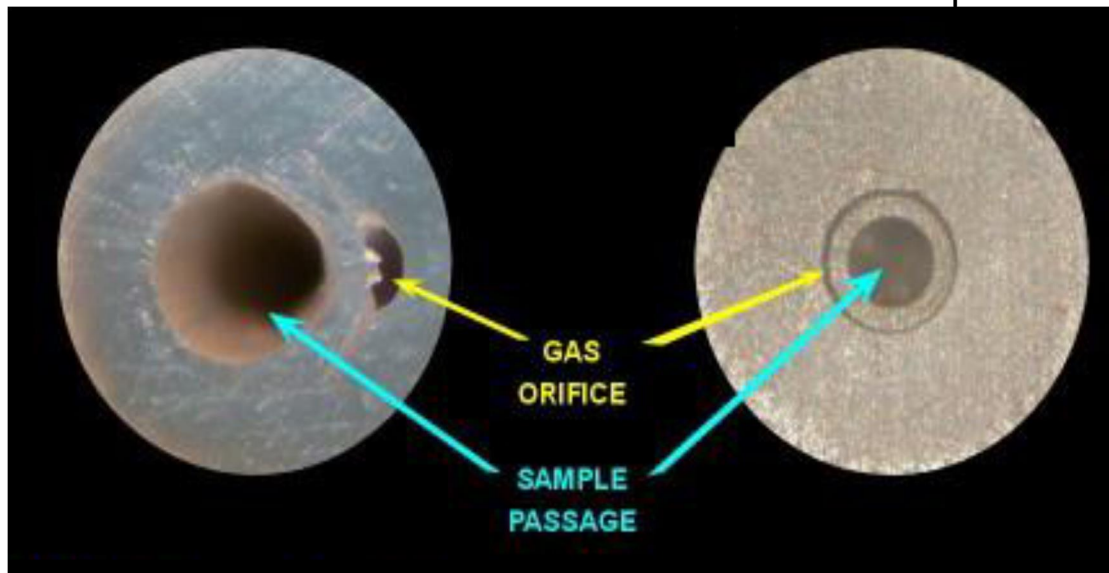
$$D = \quad \mu\text{L}/\text{min}$$

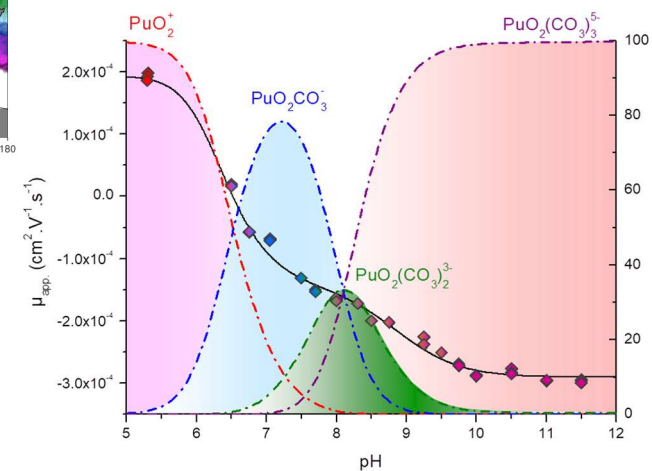
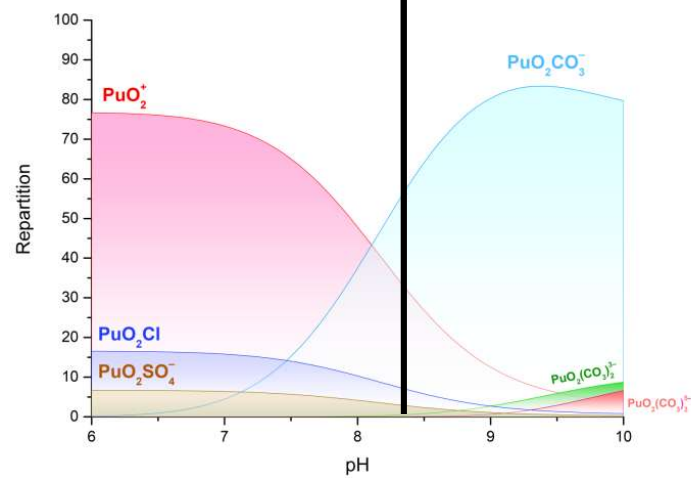
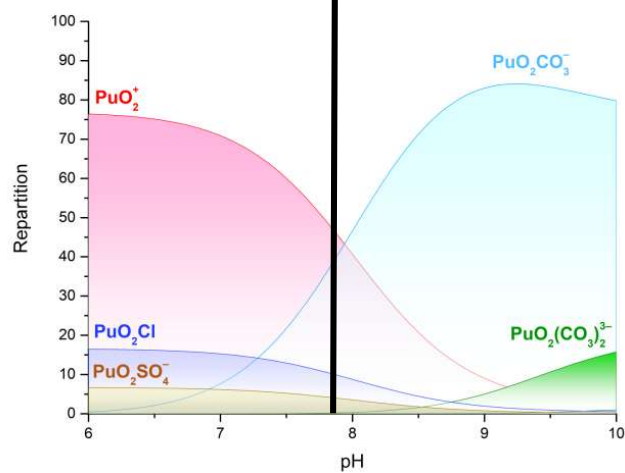
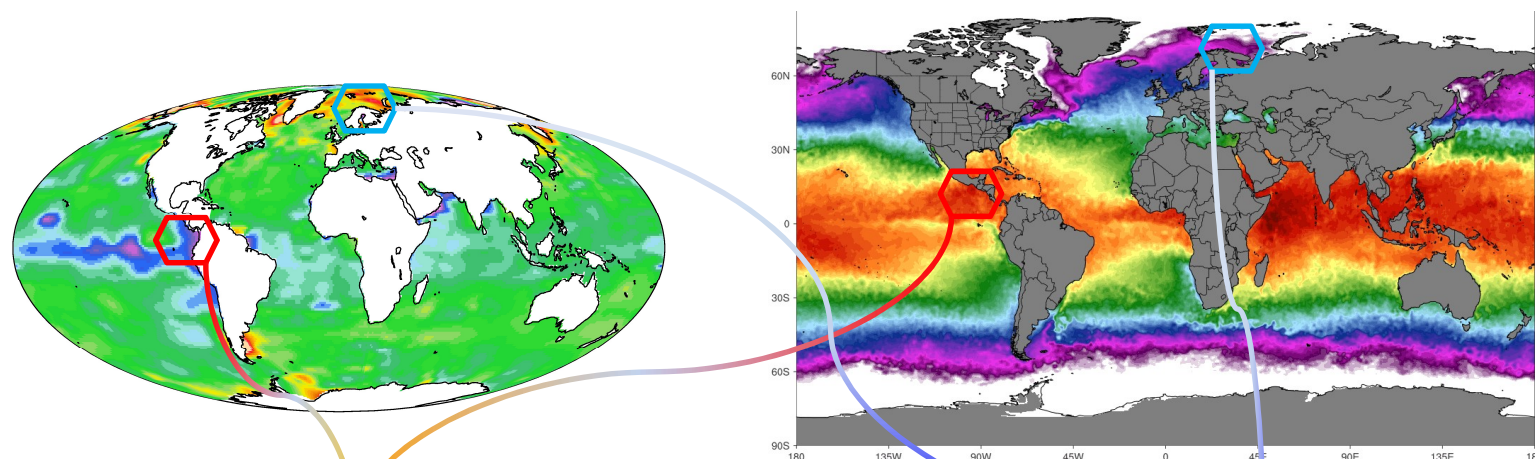




Parallèle

Concentrique





Aupiais J. et al *Eur. J. Inorg. Chem.* (2020) 216-225
 Topin S. et al *Electrophoresis* 30 (2009) 1747-1755



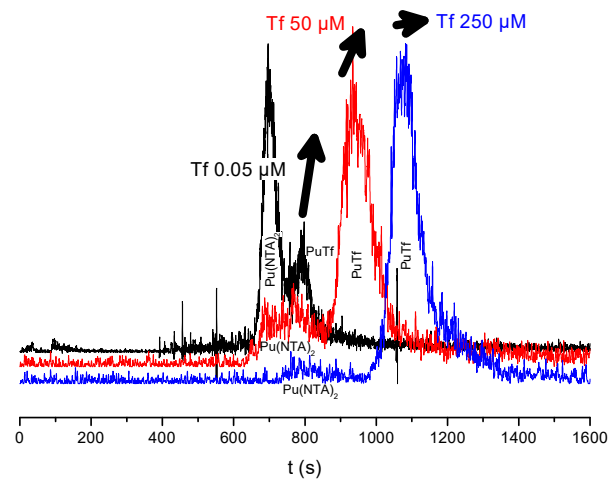
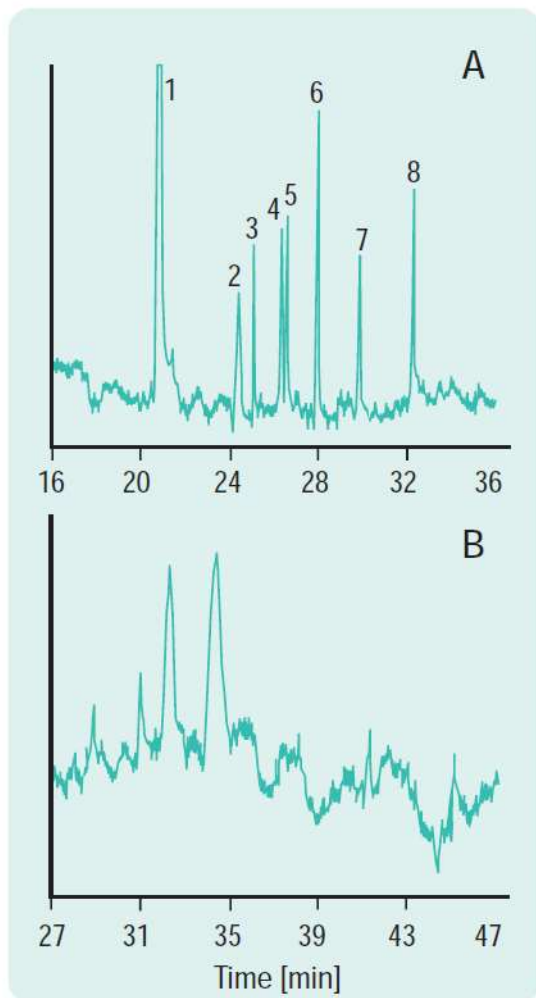
Traitement des capillaires

La séparation des anions n'est pas favorisée pour les capillaires en silice fondue en raison de l'apparition de charges négatives à $\text{pH} > 2$ et donc de la présence d'un flux électroosmotique dirigée vers la cathode.

Dans ce cas, on peut accélérer la séparation en inversant le flux électroosmotique, c'est-à-dire en modifiant la surface interne par adsorption de molécules cationiques.

D'une manière générale, le traitement des capillaires est requis pour :

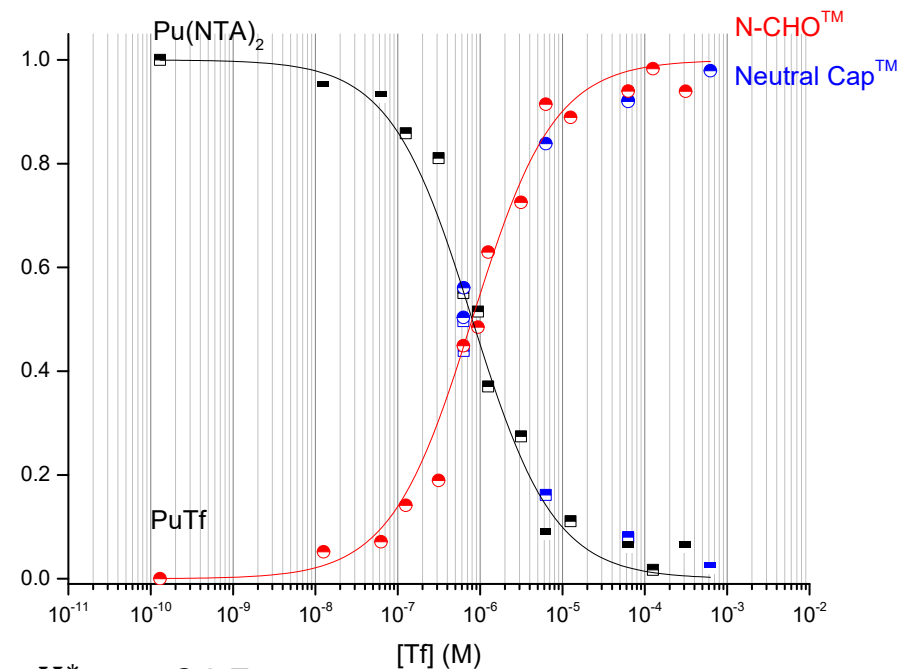
- Supprimer les interactions des protéines avec la surface en silice,
- Contrôler finement la magnitude du flux électroosmotique.
- Ces traitements sont réalisés soit par :
 - Liaisons chimiques ou adsorption – **traitement permanent**,
 - Interactions chimiques/physiques réversibles – **traitement dynamique** (dans ce cas la molécule modifiant l'état de surface doit être présente dans l'électrolyte pendant toute la séparation).



Aryl pentafluoro-coated capillary to improve protein separations. Coated capillary top, bare fused silica bottom.⁷²

Peaks: 1, hen egg white lysozyme; 2, DMSO (EOF marker); 3, bovine ribonuclease A; 4, bovine pancreatic trypsinogen; 5, whale myoglobin; 6, horse myoglobin; 7, human carbonic anhydrase; 8, bovine carbonic anhydrase.

Conditions: Buffer: 200 mM phosphate pH 7.0 + 100 mM KCl; effective length: 100 cm; id: 20 μm ; electric field: 250 V/cm; detection: 219 nm.



$$\text{Log } K_{PuTf}^* = 24,7$$

Affinité de la transferrine pour le plutonium.

N-CHO™ : alcool polyvinylique
Neutral Cap™ : polyacrilamide

Avantages :

- Facile à mettre en œuvre (ajout d'un agent supplémentaire dans l'électrolyte),
- Utilisation de capillaires standards et bon marché,
- Peu coûteux,
- Applicable à des électrolytes variés.

Précautions :

- Ne doit pas interférer avec la détection (transparent en optique ou pas d'interférences isobariques pour la masse),

Les plus connus : **les surfactants**, en dessous de la CMC (concentration micellaire critique) s'adsorbent à la surface.

Ils peuvent être :

- ✓ Anioniques
- ✓ Cationiques
- ✓ Zwitterioniques
- ✓ non ioniques

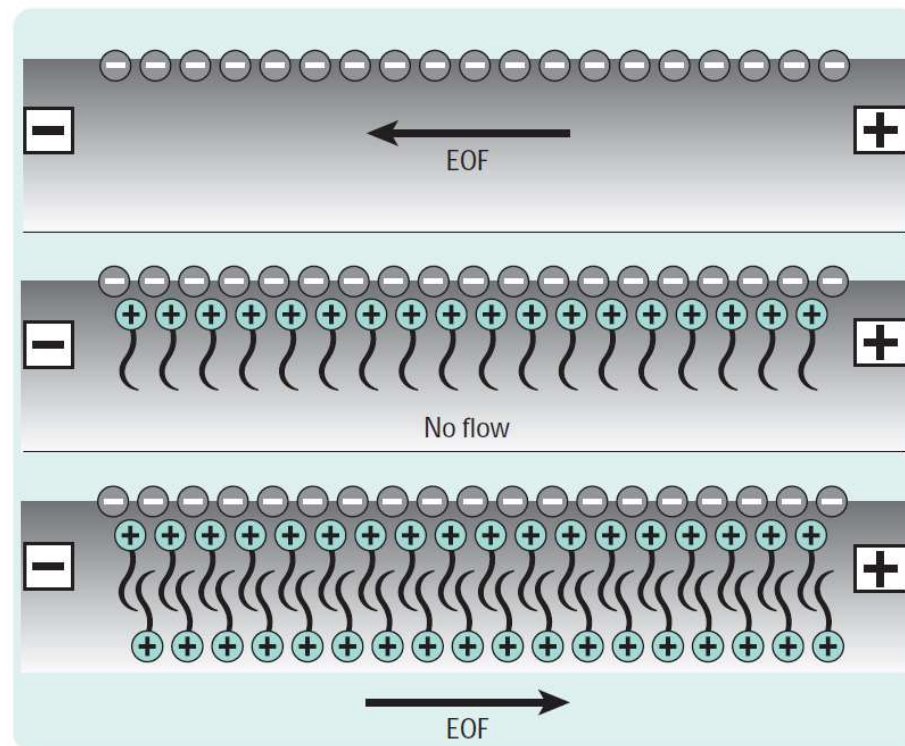
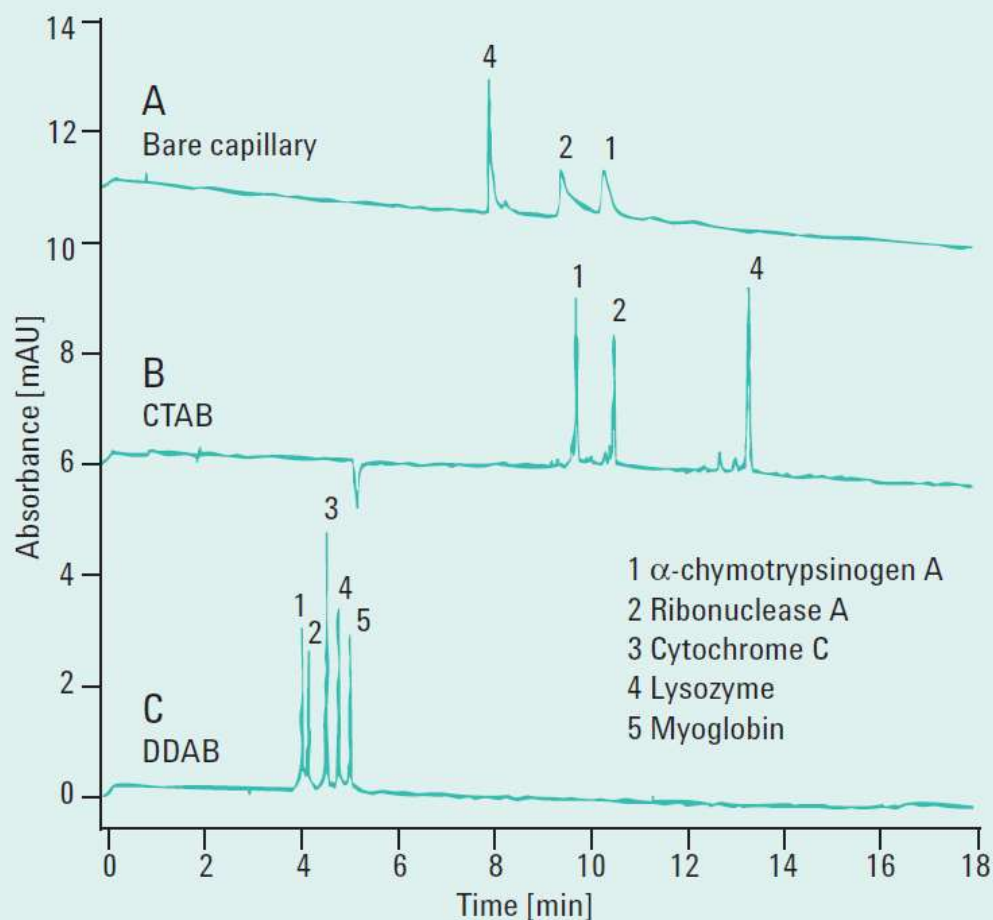


Figure 4.4
Elimination and reversal of electroosmotic flow using a cationic surfactant.

Ex : CTAB – CetylTrimethylAmmonium Bromide



Separation of five basic proteins at pH 3.0, using (A) bare fused silica capillary; (B) CTAB-coated capillary; (C) DDAB-coated capillary.⁷⁵

Conditions: 50 cm x 50 μ m id capillary (40 cm to detector); UV detection at 214 nm; +15 kV applied voltage (A), -1.5 kV applied voltage (B, C); BGE, 25 mM phosphate at pH 3.0 containing (A) no surfactant; (B) 0.5 mM CTAB, or (C) 0.1 mM DDAB.

Note that the myoglobin peak was not observed after a 40-min run time in (B).

CTAB = dynamique (présent dans électrolyte)

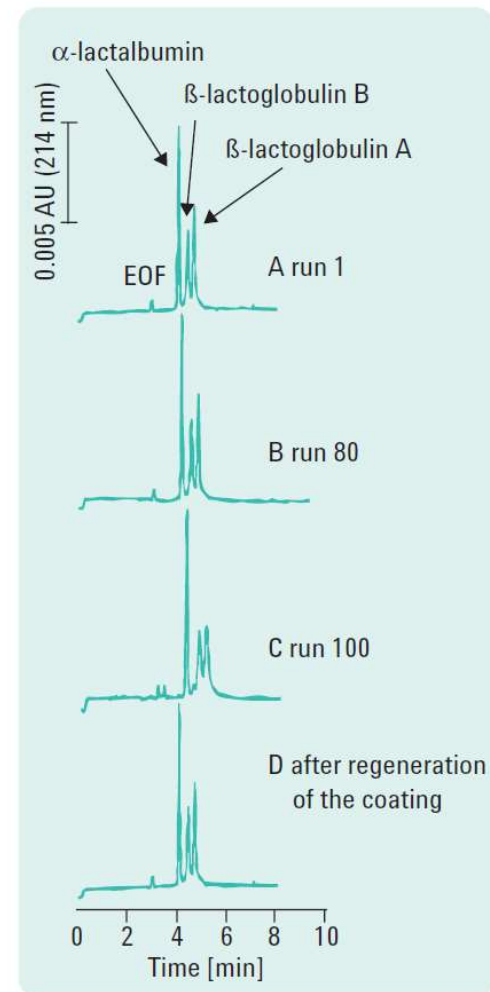
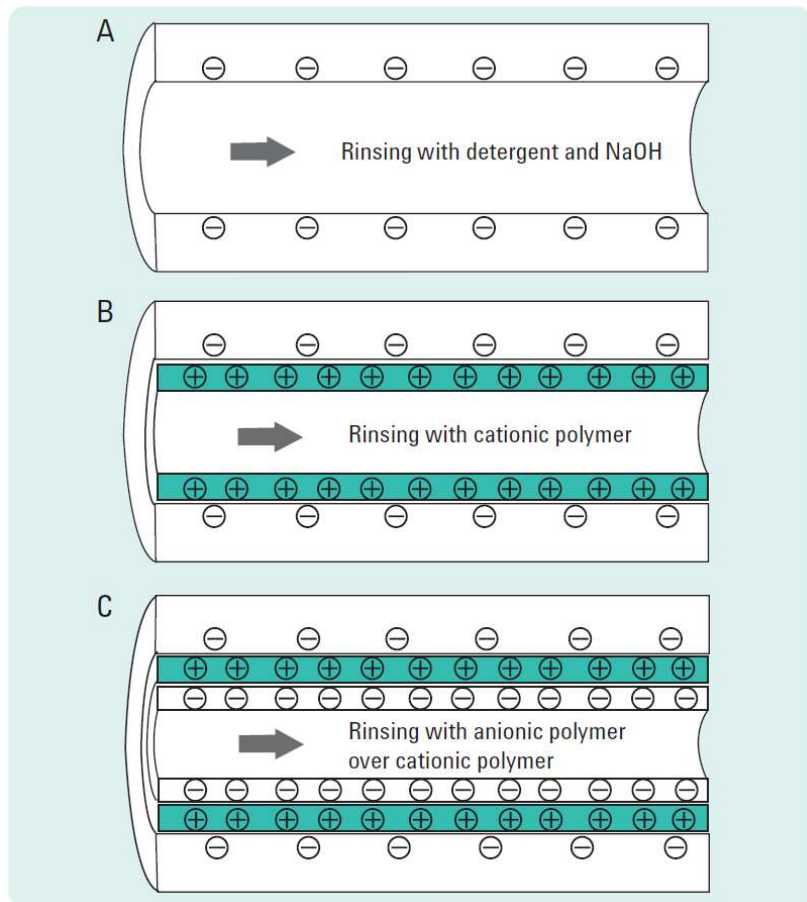
DDAB = semi-permanent (non présent dans électrolyte)

**CTAB partiellement efficace
contre adsorption des protéines
(3 détectées)**

**DDAB efficace contre adsorption
des protéines (5 détectées)**

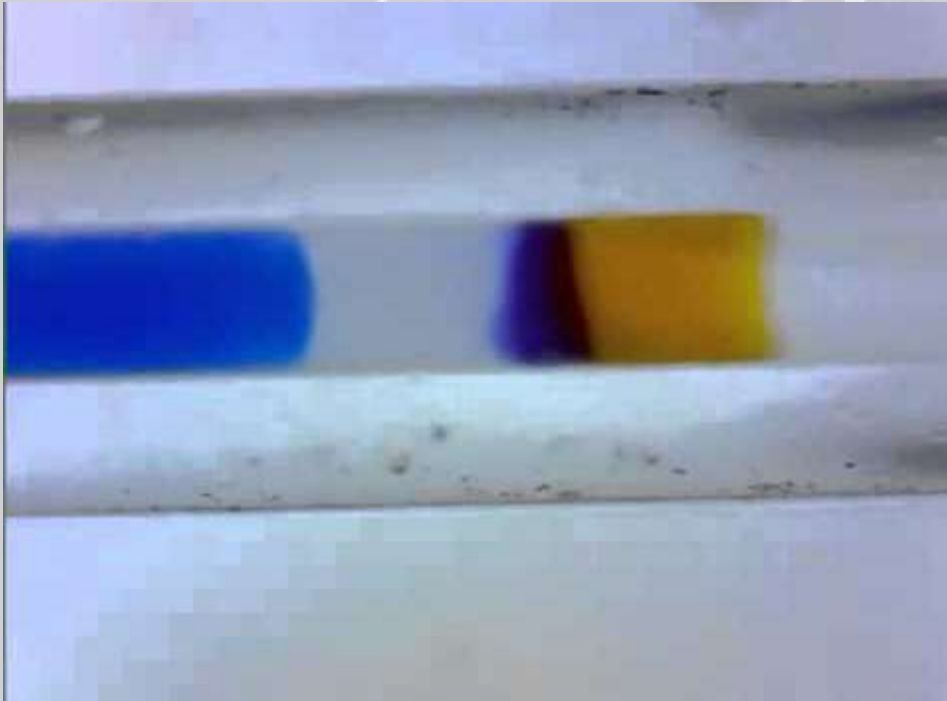
Variante – le multi-coating (plus stable)

Coating procedure for polycationic polymer coatings (steps A-B) and successive multiple ionic-polymer layer (SMIL) coatings (steps A-C). A) Activation of the silanol groups; B) adsorption of polycationic polymer layer; C) adsorption of a polyanionic polymer as a second ionic-polymer layer.



Separation of acidic proteins on a SMIL-DS coated capillary.⁷⁶

Conditions: 27 cm x 75 μ m id capillary (20 cm to detector); buffer: phosphate pH 7.0 ($I = 0.05$); +7 kV; temperature: 25 $^{\circ}$ C; sample: 0.1 mg/mL protein; injection: 140 mbar x s; regeneration solution: 0.1 M HCl.

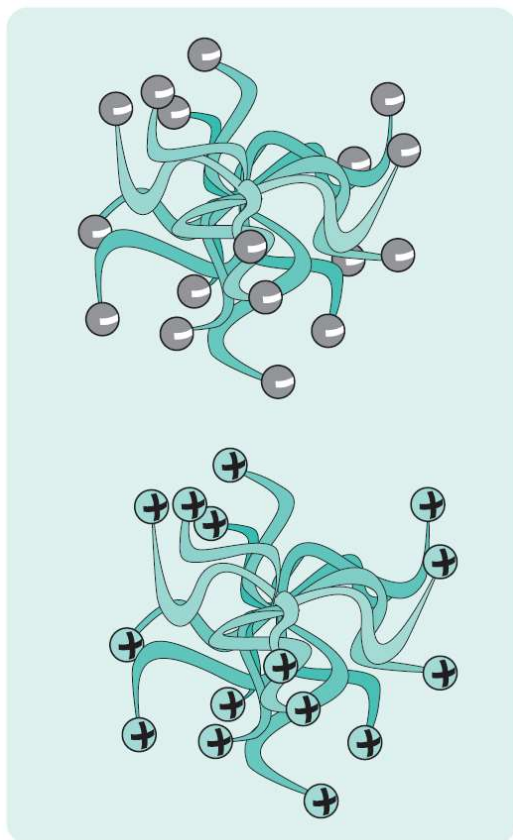


Méthodes séparatives

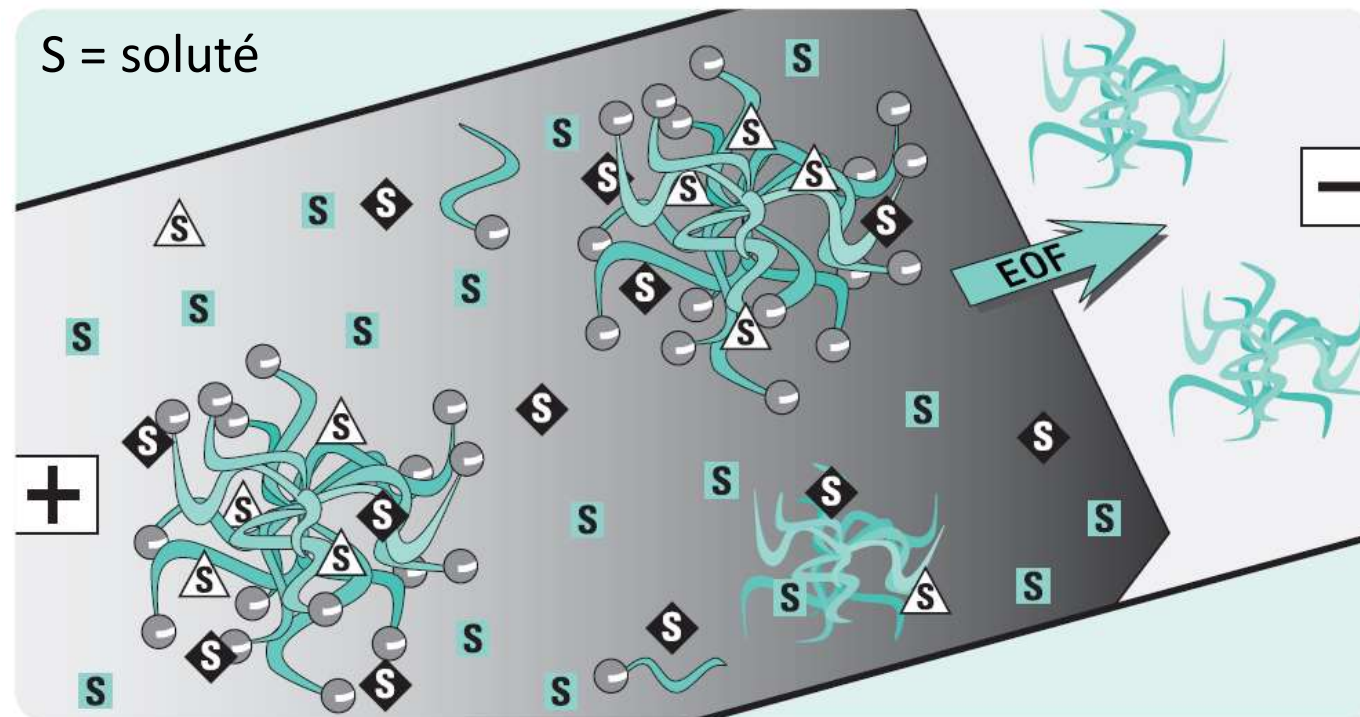
- **Electrophorèse capillaire de zone (CZE)**
- **Chromatographie électrocinétique micellaire (MEKC)**
- Electrochromatographie capillaire (CEC)
- Electrophorèse capillaire sur gel (CGE)
- **Isotachophorèse capillaire (CITP)**
- **Focalisation isoélectrique capillaire (CIEF)**

CEC = HPLC sur capillaire rempli d'une phase inverse + champ électrique.

CGE = EC sur capillaire rempli par un polymère (exclusion stérique).



Représentation de micelle anionique et cationique.



Utilisation de surfactants (cationique ou anionique) au dessus de leur CMC (concentration micellaire critique).

Puisque les micelles sont chargées, elles migrent sous un champ électrique.

1) Composé neutre (M) dans micelle (*):

$$v_M^* = \frac{1}{1+k'} v_{eof} + \frac{k'}{1+k'} v^*$$

$$v_M^* = \frac{l}{t_M^*} \quad v_{eof} = \frac{l}{t_{eof}} \quad v^* = \frac{l}{t^*}$$

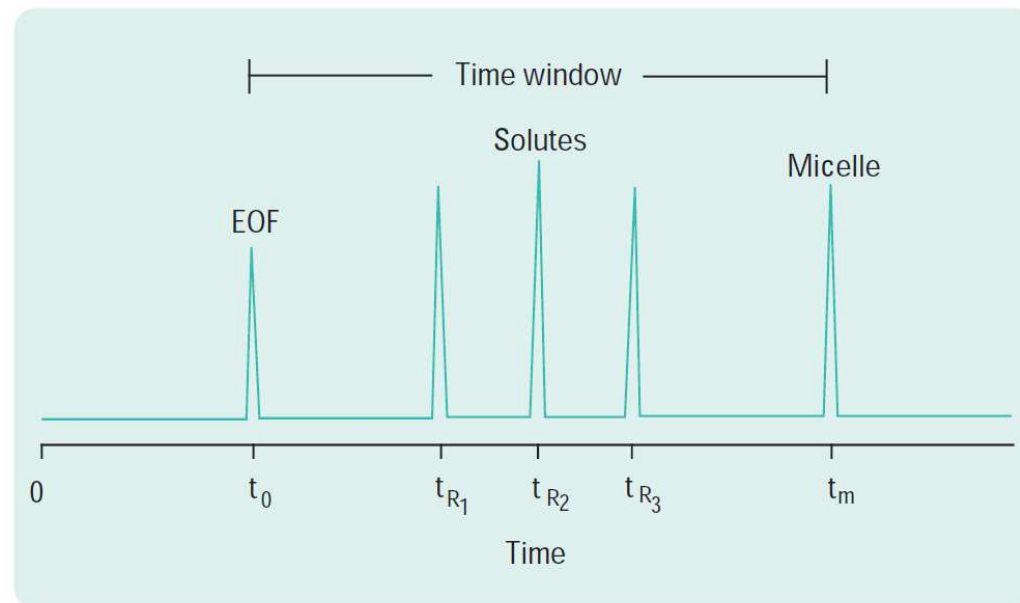
$$t_M^* = \frac{(1+k')t_{eof}}{1+k' \frac{t_{eof}}{t^*}}$$

2) Composé chargé (M) dans micelle (*):

$$v_M^* = \frac{1}{1+k'} (v_{eof} + v_M) + \frac{k'}{1+k'} v^*$$

$$v_{eof} + v_M = \frac{l}{t_M}$$

$$t_M^* = \frac{(1+k')t_M}{1+k' \frac{t_M}{t^*}}$$

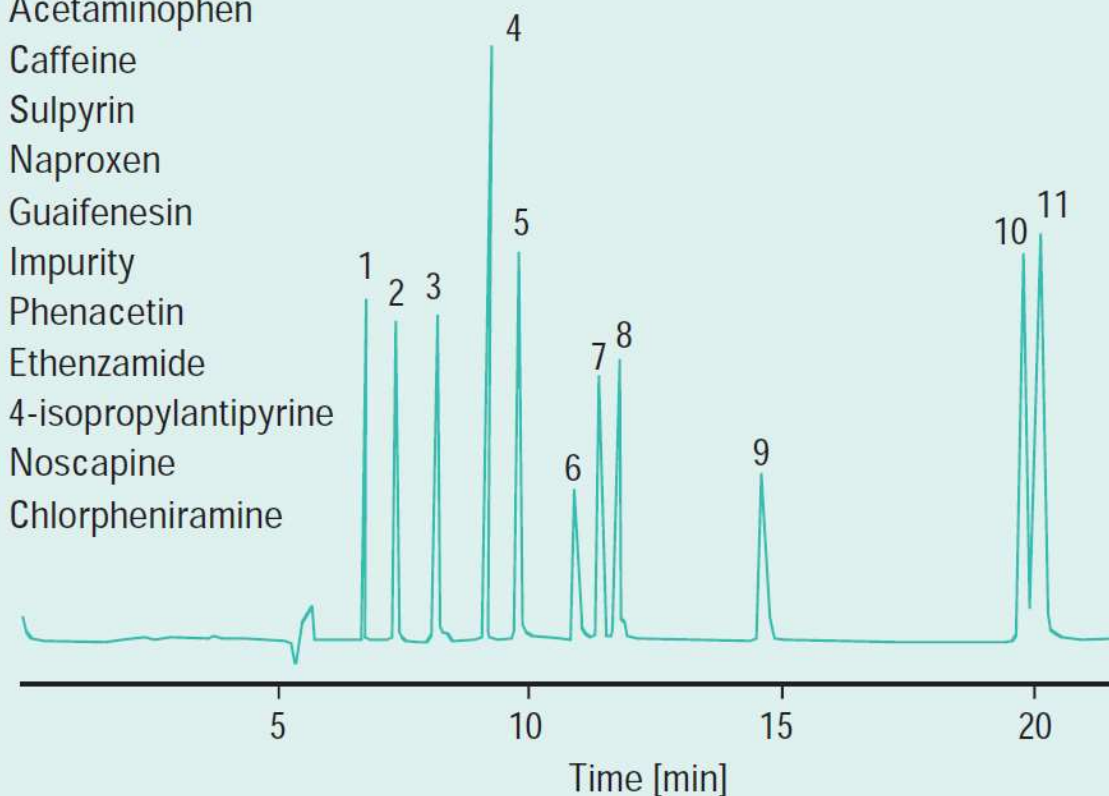


	Biological detergents	CMC (mM)	Aggregation number
Anionic	SDS	8.2	62
Cationic	DTAB	14	50
	CTAB	1.3	78
Non ionic	Octylglucoside	—	—
	n-Dodecyl- β -D-maltoside	0.16	—
	Triton X-100	0.24	140
Zwitterionic	CHAPS	8	10
	CHAPSO	8	11
Bile salt	Cholic acid	14	2–4
	Deoxycholic acid	5	4–10
	Taurocholic acid	10–15	4

SDS = Sodium Dodecyl Sulfate.



- 1 Acetaminophen
- 2 Caffeine
- 3 Sulpyrin
- 4 Naproxen
- 5 Guaifenesin
- 6 Impurity
- 7 Phenacetin
- 8 Ethenzamide
- 9 4-isopropylantipyrine
- 10 Noscapine
- 11 Chlorpheniramine



MEKC separation of cold-relief medicine constituents.

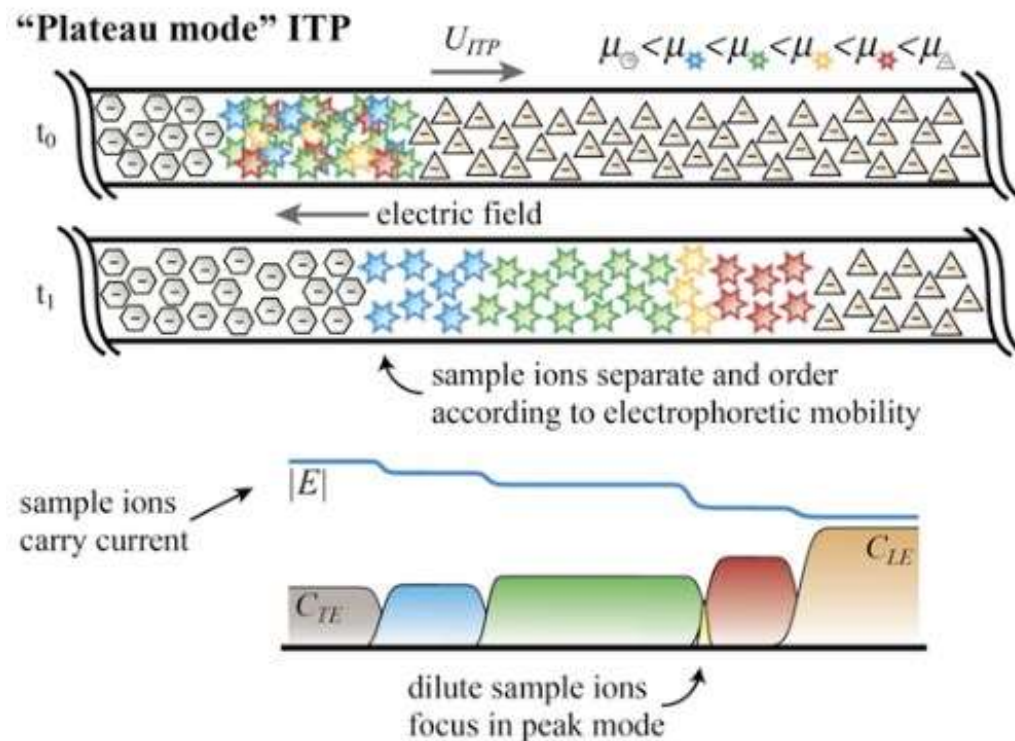
Conditions: 20 mM phosphate-borate, 100 mM SDS, pH 9.0, $V = 20$ kV, $L = 65$ cm, $id = 50$ μ m, $\lambda = 210$ nm.

CITP = Capillary IsoTachoPhoresis (isotachophorèse capillaire).

Principe :

Cette méthode est fondée exclusivement sur la séparation des molécules suivant leur mobilité électrophorétique. Les ions se déplacent tous à la même vitesse, les plus mobiles en tête et les plus lents en queue.

Un tube capillaire est rempli d'un électrolyte constitué d'un ion ayant une mobilité supérieure à celle de tous les ions à séparer (appelé ion pilote). L'extrémité du capillaire où est placée l'électrode de même signe que ceux des ions à séparer (cathode pour des anions, anode pour des cations) est remplie d'un électrolyte constitué d'un ion ayant une mobilité inférieure à celle de tous les ions à séparer (ion dit terminal).



Champ électrique faible dans l'électrolyte « leader » → ralentissement
 Champ électrique fort dans l'électrolyte « terminal » → accélération

L'isotachophorèse est régit par la fonction de régulation de Kohlrausch.

1) Absence d'électroosmose – courant imposé

2) Loi d'Ohm – conservation du flux de charges :

$$J = \frac{i}{S} = \kappa E = Cste \text{ (A.m}^{-2}\text{)}$$

$$\kappa_{LE} E_{LE} = \kappa_i E_i = \kappa_{TE} E_{TE}$$

3) Etat stationnaire

$$\left. \begin{array}{l} v_{LE} = v_i = v_{TE} \\ \mu_{LE} E_{LE} = \mu_i E_i = \mu_{TE} E_{TE} \end{array} \right\} \frac{\kappa_{LE}}{\mu_{LE}} = \frac{\kappa_i}{\mu_i} = \frac{\kappa_{TE}}{\mu_{TE}}$$

4) Conservation du contre-ion

$$[C]_t^i = [C]_t^{LE} \frac{1 - \frac{\mu_C^{LE}}{\mu_{LE}}}{1 - \frac{\mu_C^i}{\mu_i}}$$

5) Adaptation des concentrations des solutés (relation approchée)

$$[i]_t = \frac{z_{LE}}{z_i} [LE] \frac{1 - \frac{\mu_C^0}{\mu_{LE}^0}}{1 - \frac{\mu_C^0}{\mu_i^0}}$$

Premier constat :

les ions LE et TE vont migrer à la même vitesse et encadrer la zone de présence des espèces avec

$$v_{LE} = \mu_{LE} E_{LE} = \mu_{TE} E_{TE} = v_{TE}$$

E_{LE} et E_{TE} sont différents et compensent μ_{LE} et μ_{TE} .

Deuxième constat :

les ions à analyser vont se séparer petit à petit jusqu'à satisfaire $v_A = v_B = v_C = \dots$

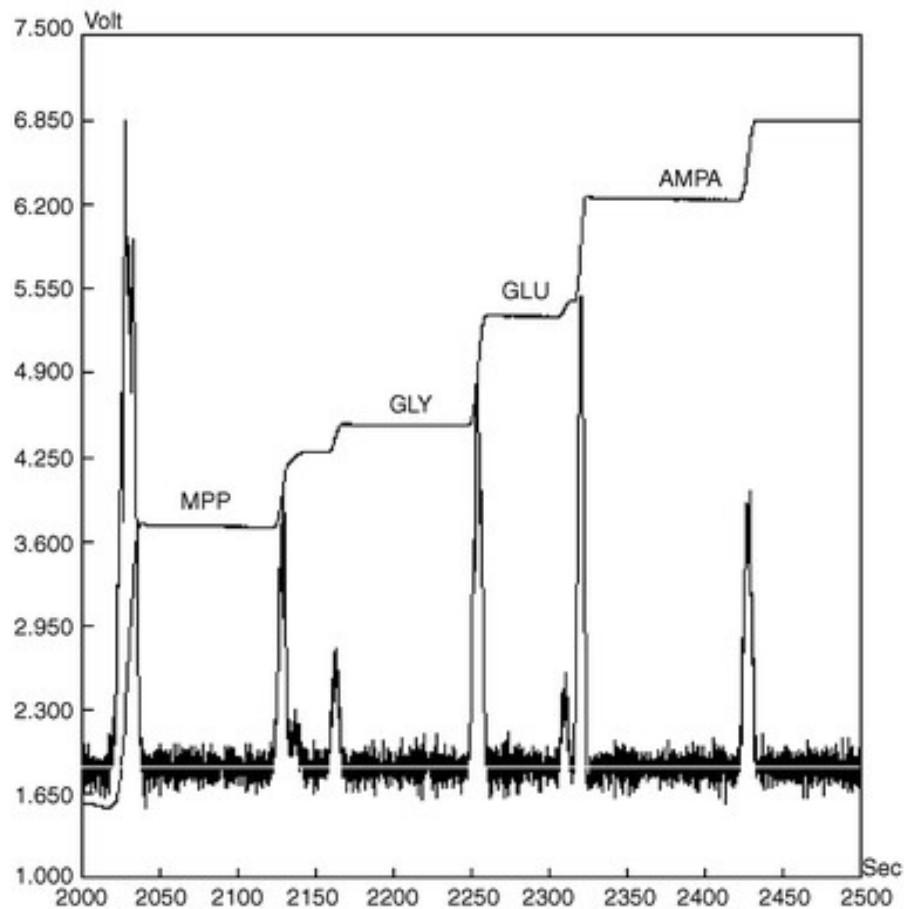
$E_{TE} > E_A > E_B > E_C > \dots > E_{LE}$. Les champs locaux compensent les μ_i

Entre zone d'une espèce ionique, il existe un gradient de champ électrique qui dépend de la différence de mobilité avec les ions voisins. Un ion qui sort de son domaine y est forcément ramené puisqu'il passe dans une zone de champ plus fort ou plus faible.

Troisième constat :

L'intensité du courant est la même dans tout le capillaire

si on utilise des solutions d'ions de tête (LE) et de queue (TE) concentrées (donc favorisant une intensité de courant élevée), elles vont conduire à la concentration des ions i au sein de leurs domaines respectifs.



Analyse par conductimétrie, à gradient de potentiel : hauteur des paliers (analyse qualitative)

Signal dérivé : longueur des paliers (analyse quantitative)

Etalement d'une frontière entre 2 zones i et j:

$$\Delta x = \frac{4RT}{Fv_{LE}} \frac{\mu_i \mu_j}{|\mu_i - \mu_j|}$$

choix des électrolytes

ITP	Anionique	Cationique
Ion meneur LE	Cl ⁻	K ⁺
Contre-ion	Base faible pK _c > pK _i - 1	Acide faible pK _c < pK _i + 1
Ion terminal TE	OH ⁻ Acide faible μ = 5-10.10 ⁻⁵ cm ² /Vs	H ⁺ Base faible μ = 5-10.10 ⁻⁵ cm ² /Vs

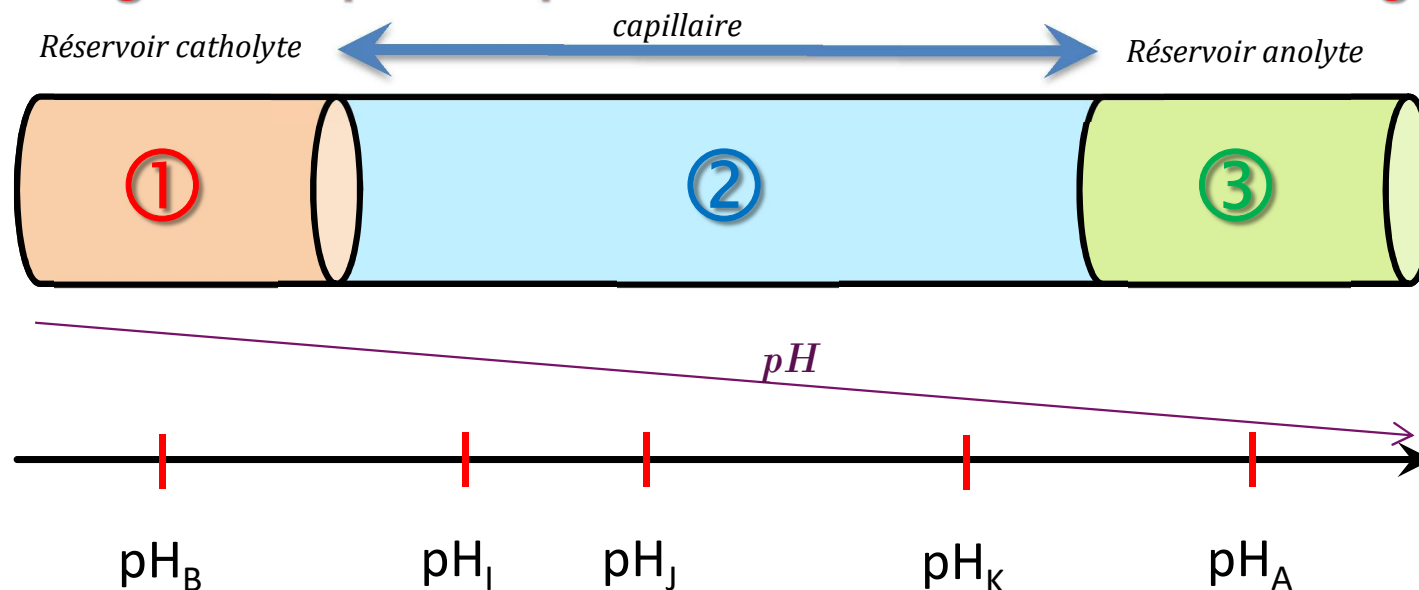
NB : la concentration des ions au sein de chaque zone est rigoureusement constante.

- Utilisation : séparation d'ampholytes (protéines, peptides) par migration dans un gradient de pH en absence d'électroosmose.

- Limitations :
 - Instabilité du gradient de pH (instable dans le temps et l'espace)
 - Convection

- Résolution : $\Delta(pI) = 0,05$ pH

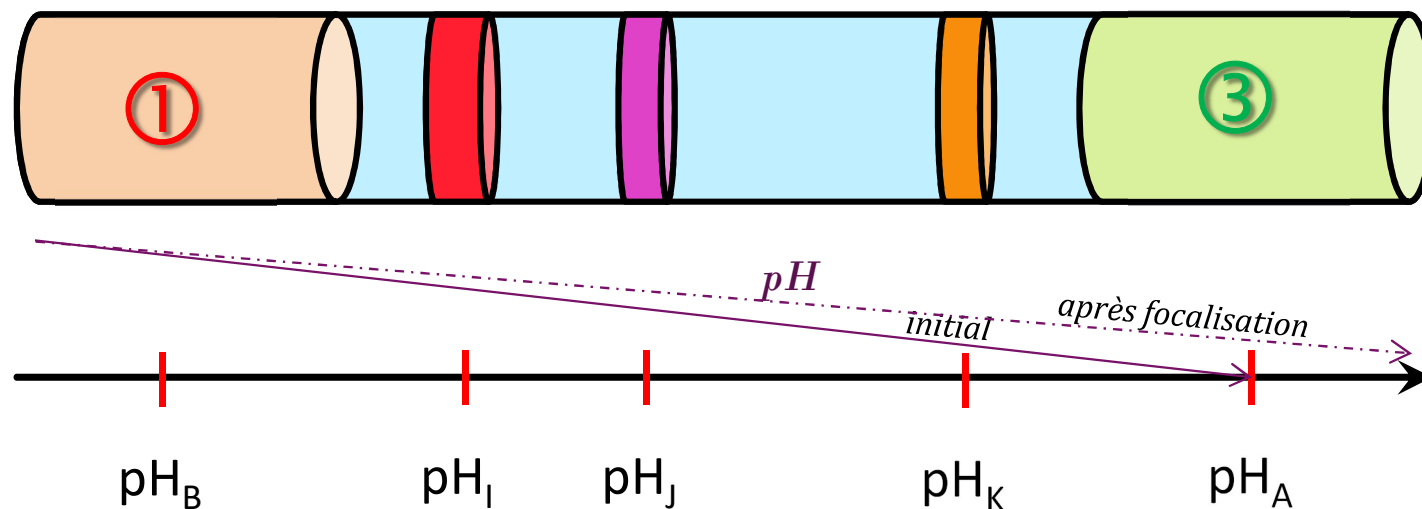
1 – Remplissage du capillaire par l'échantillon dans un mélange d'ampholytes



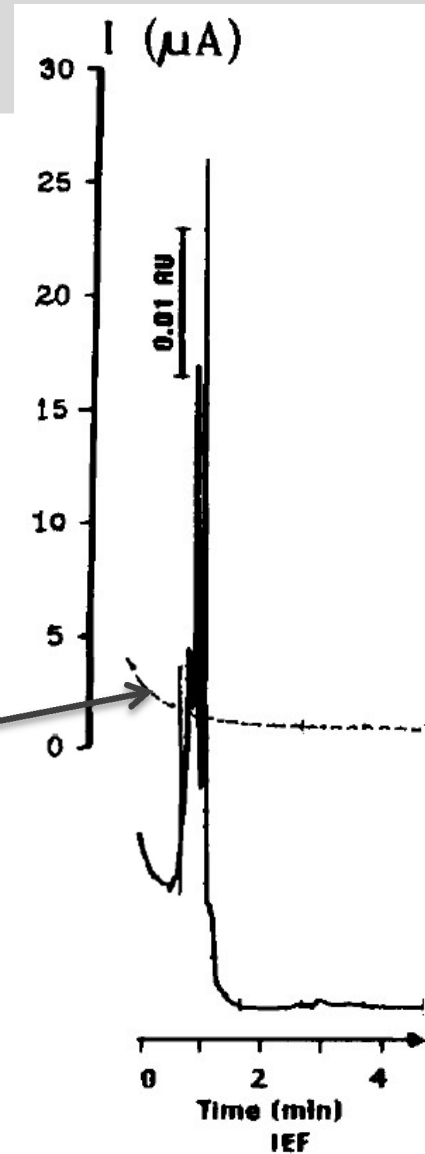
① Catholyte basique (ex: NaOH)

② Echantillon dans un mélange d'ampholyte (ex: LKB, pH 3,5-10 à 4 % ; Biolyte 5/7 ; etc.)

③ Anolyte acide (ex: H_3PO_4)

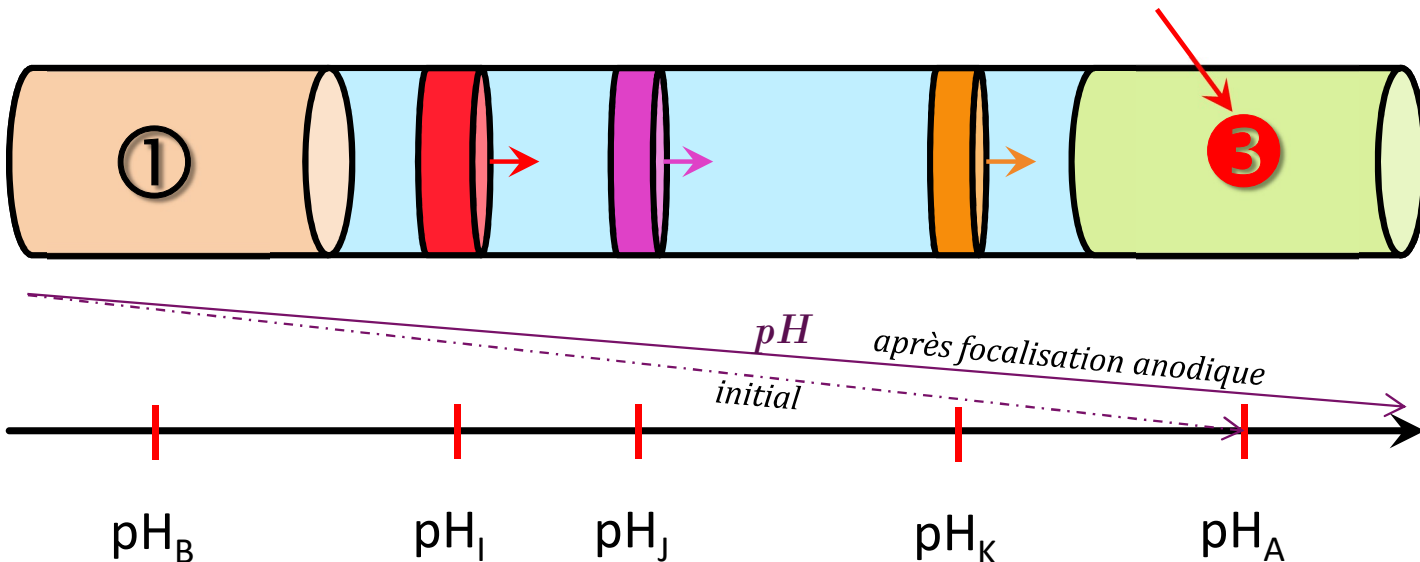
$i \searrow$ à V constant

Quand le courant se stabilise, les substances sont immobilisées dans le gradient de pH → **état stationnaire**



$i \nearrow$ à V constant

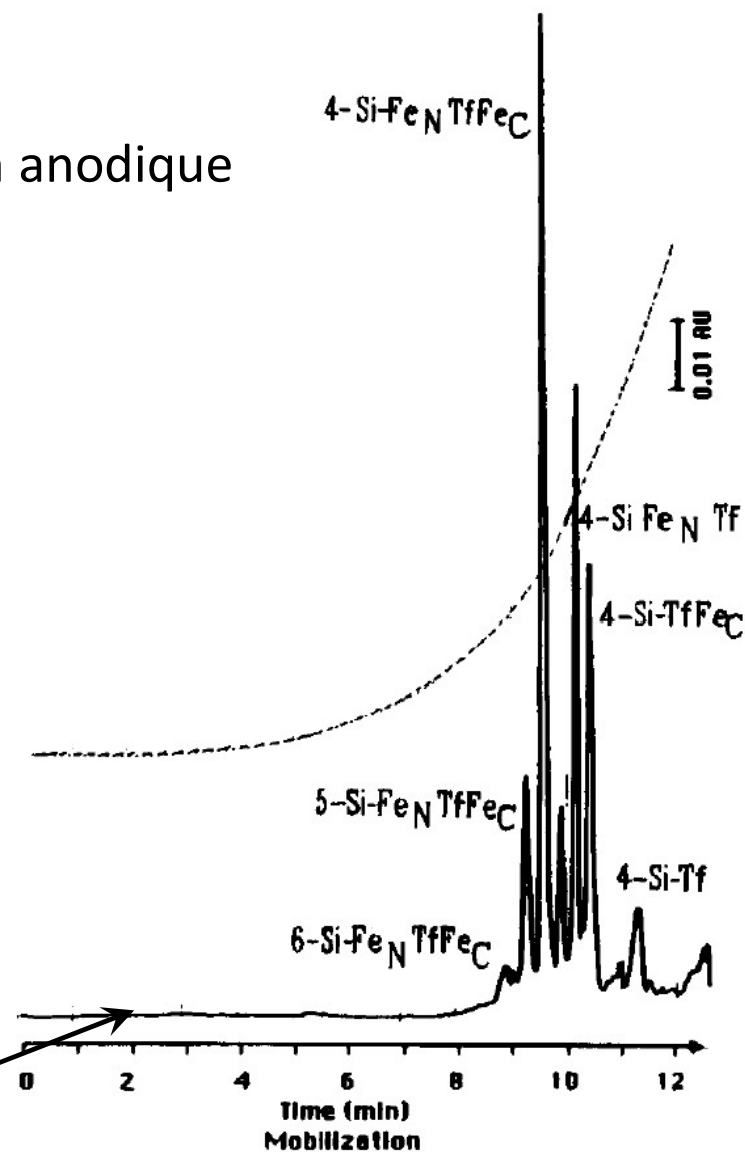
On change l'anolyte si mobilisation anodique

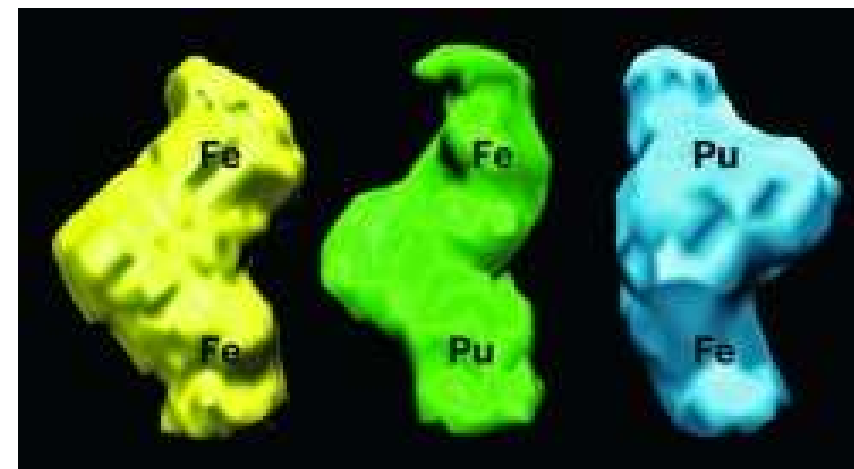
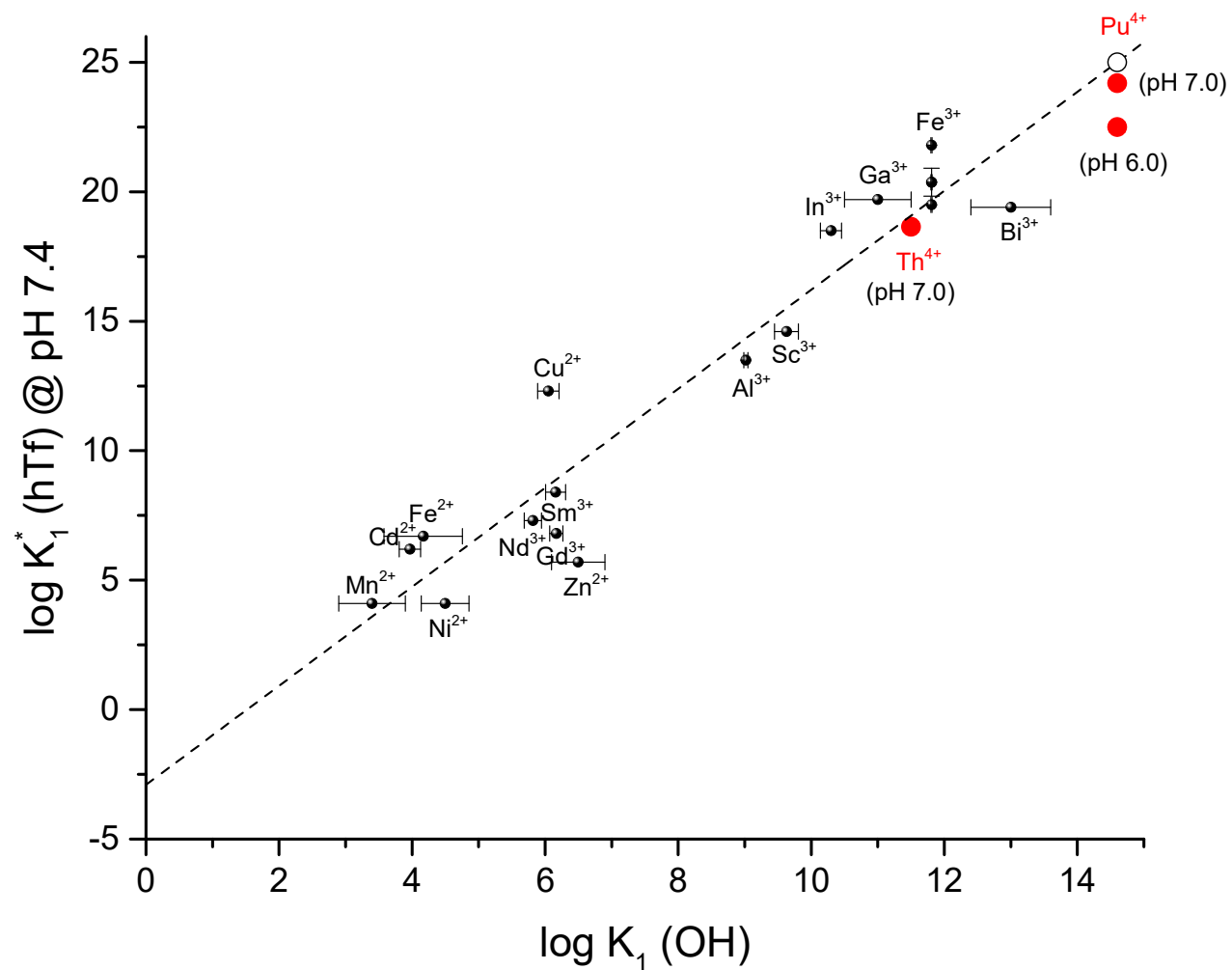


③ Si mobilisation anodique $C^+ \neq H^+$ (par exemple Na^+)

Si mobilisation cathodique, alors c'est le compartiment ① qui est changé avec $A^- \neq OH^-$ et ③ reste inchangé et la courbe de pH est inversée.

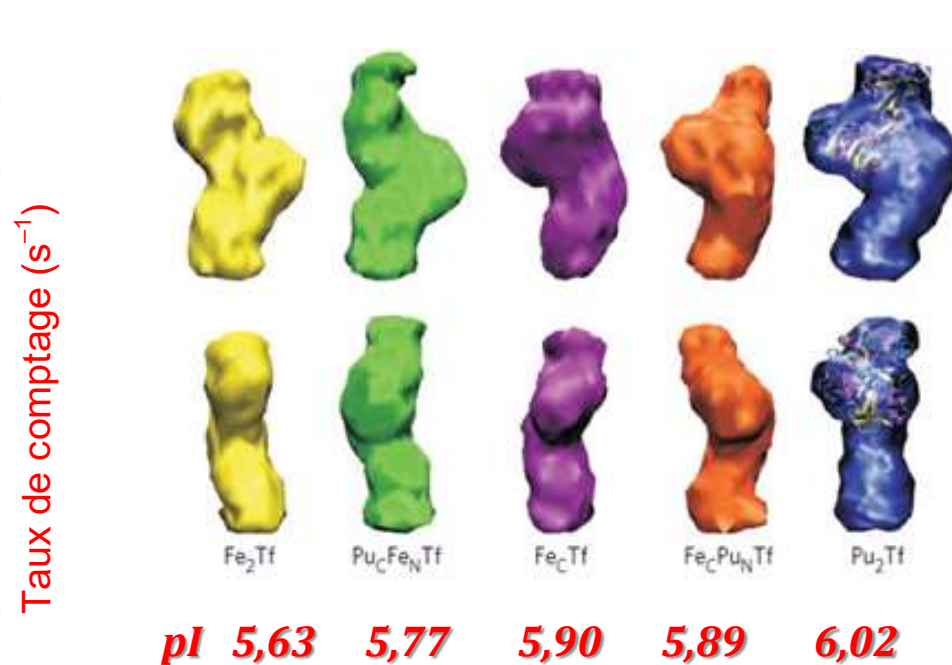
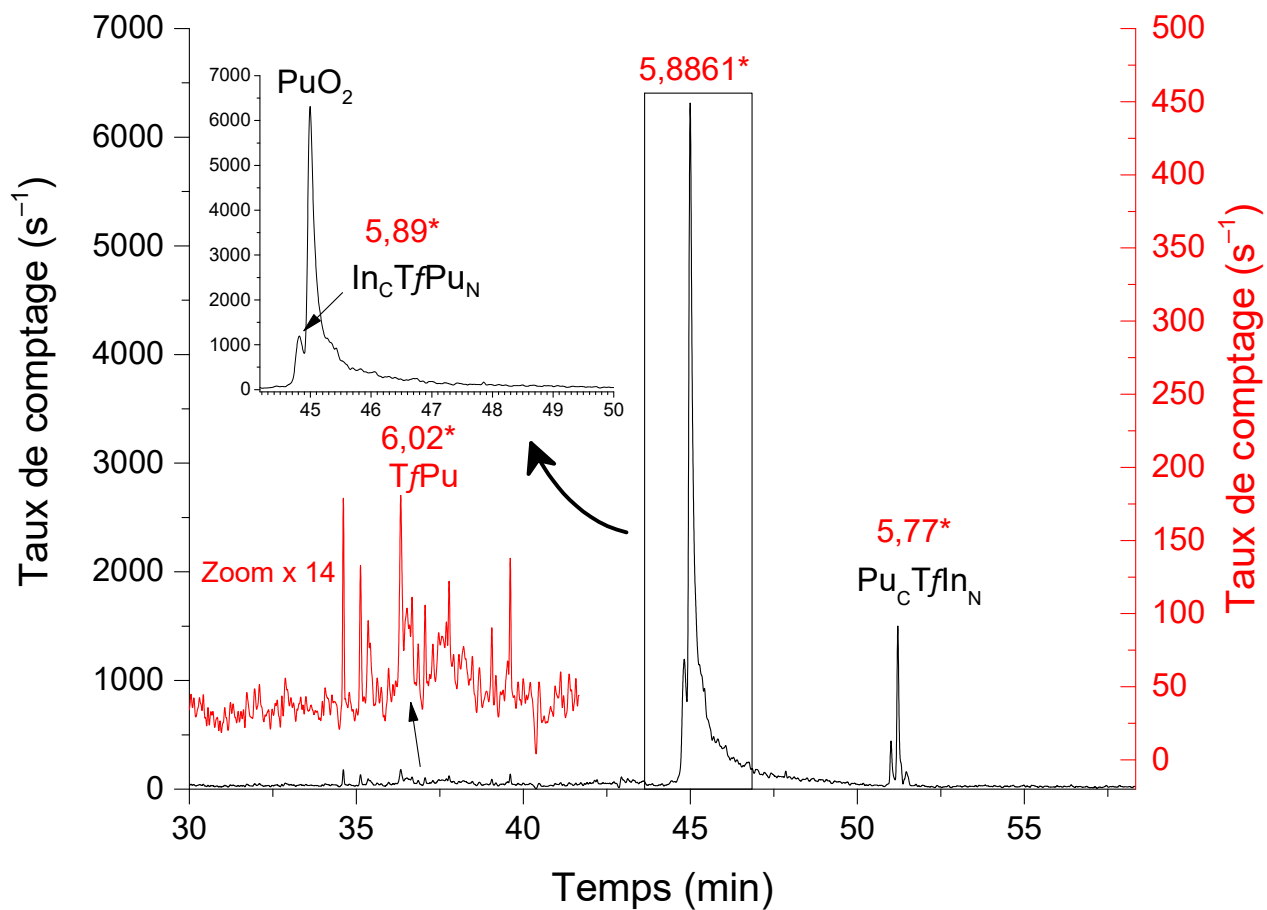
Ici ③ = NaOH = ①





HoloTf

Pu_CTfFe_NFe_CTfPu_NVidaud C. et al *Sci. Rep.* 9 (2019) 17584Sauge-Merle S. et al *Dalton Trans.* 46(5) (2017) 1389-1396Mark P Jensen et al. *Nature Chemical Biology*, Vol 7, 560-565, (2011)





$$v_{eo} = -\frac{\kappa^{-1}\sigma}{\eta} E$$

$$\mu_{eo} = \frac{\kappa^{-1}\sigma}{\eta}$$

Estimation de μ_{eo} dans NaClO_4 0,01 M ?

$$\sigma = 0,01 \text{ C.m}^{-2}$$

$$\eta ? \quad \eta(25, C) = \eta_W [1 + 0,00702\sqrt{C} + 0,0151C + 0,029507C^2] \text{ (cp)}$$

$$\eta_W = 0,88991 \text{ (cp)}$$

$$\eta(25, 0,01) = \quad \text{(cp)} \quad 1 \text{ P} = 0,1 \text{ Pa.s}$$

$$\eta(25, 0,01) = \quad \text{Pa.s}$$

$$\kappa^{-1} ? \quad \kappa^{-1} = \quad \text{nm}$$

$$\mu_{eo} = \quad \text{(m}^2\text{V}^{-1}\text{s}^{-1}\text{)}$$

$$\zeta = \frac{\kappa^{-1} \sigma}{\epsilon_r \epsilon_0}$$

Permittivité dans NaClO_4 0,01 M ?

$$\epsilon = \epsilon_W - \delta C$$

$$\delta_{\text{Na}^+} = \quad \delta_{\text{ClO}_4^-} =$$

$$\epsilon_{\text{NaClO}_4}^{0,1} =$$

$$\epsilon_0 = 8,854187 \times 10^{-12} \text{ F} \cdot \text{m}^{-1}$$

$$\kappa^{-1} ? \quad \kappa^{-1} = \quad \text{nm}$$

$$\sigma = 0,01 \text{ C} \cdot \text{m}^{-2}$$

$$\zeta =$$



$$\zeta = \frac{\kappa^{-1} \sigma}{\epsilon_r \epsilon_0}$$

$$\kappa^{-1} ? \quad \text{m}$$

$$\sigma ? \quad \text{C.m}^{-2} \quad \Rightarrow \quad \text{A.s}$$

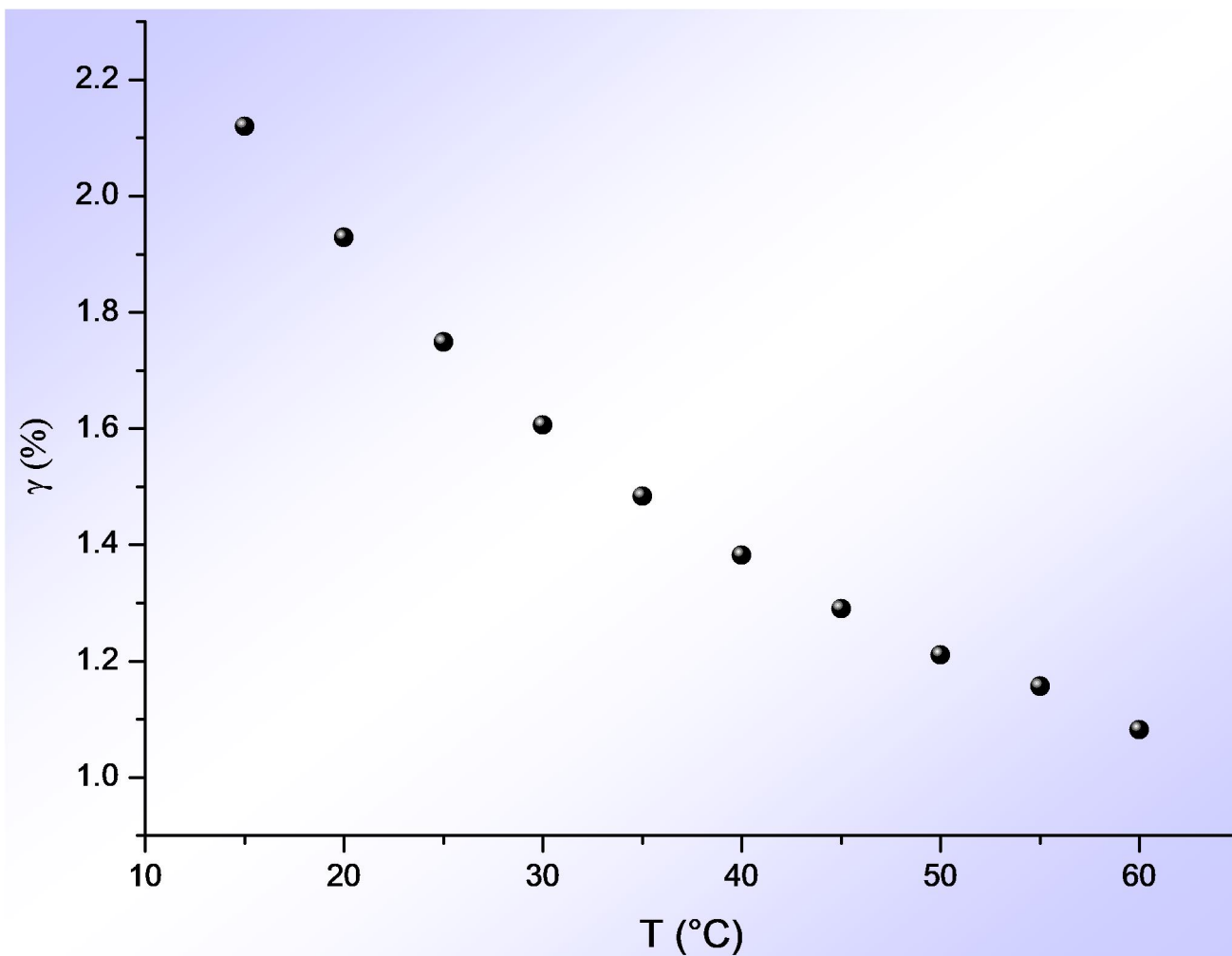
$$\epsilon_r ? \quad \text{Pas d'unité}$$

$$\epsilon_0 ? \quad \text{F.m}^{-1} \quad \Rightarrow \quad \text{C}^2.\text{J}^{-1} \quad \Rightarrow \quad \text{m}^2.\text{kg.s}^{-2}$$

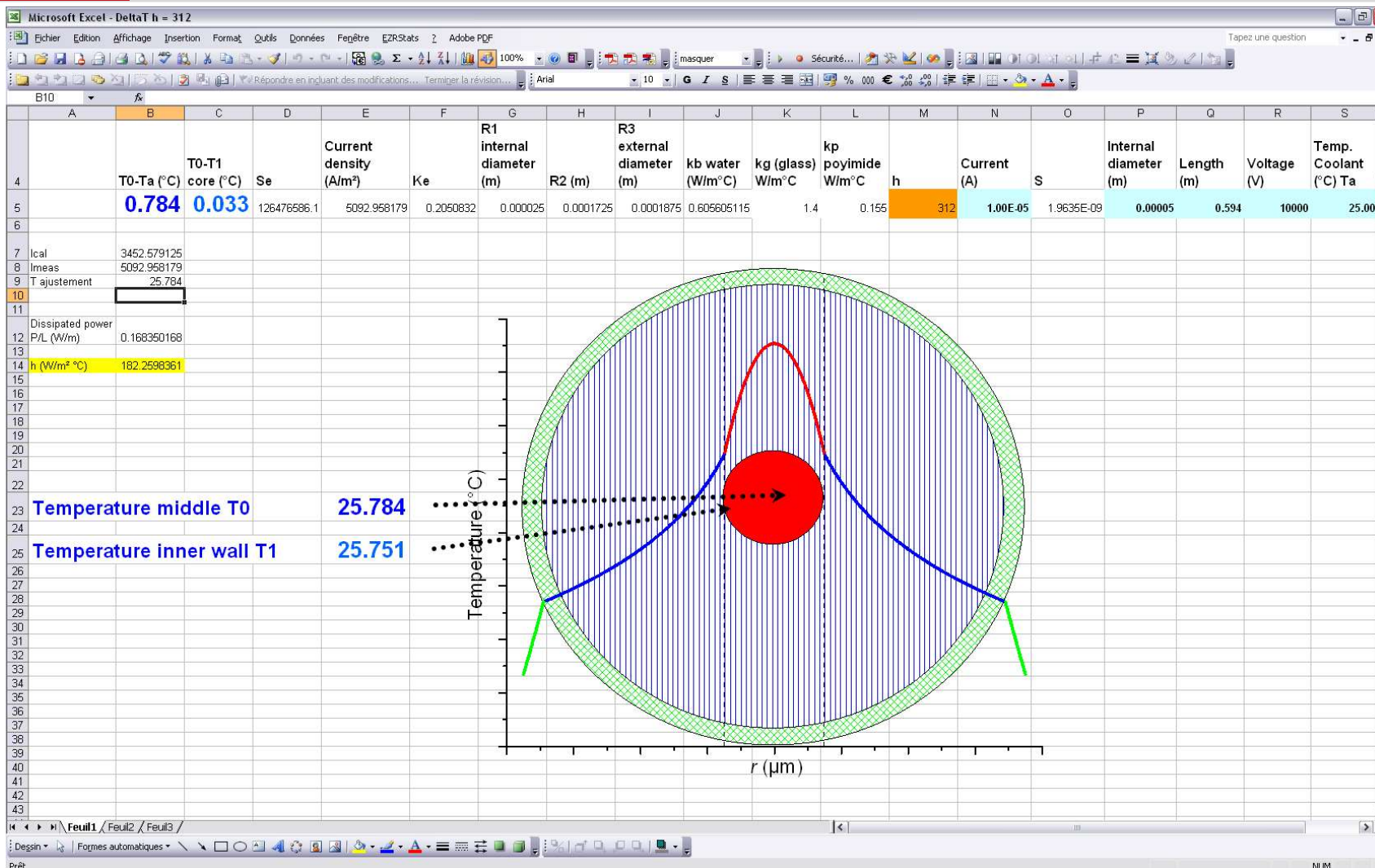
$$\zeta =$$

$$\zeta =$$

$$\zeta =$$



Electrolyte
chromate/borate à pH 9,
 $I = 16$ mM.



$$h = 312 \text{ W m}^{-2} \text{ } ^\circ\text{C}^{-1}$$

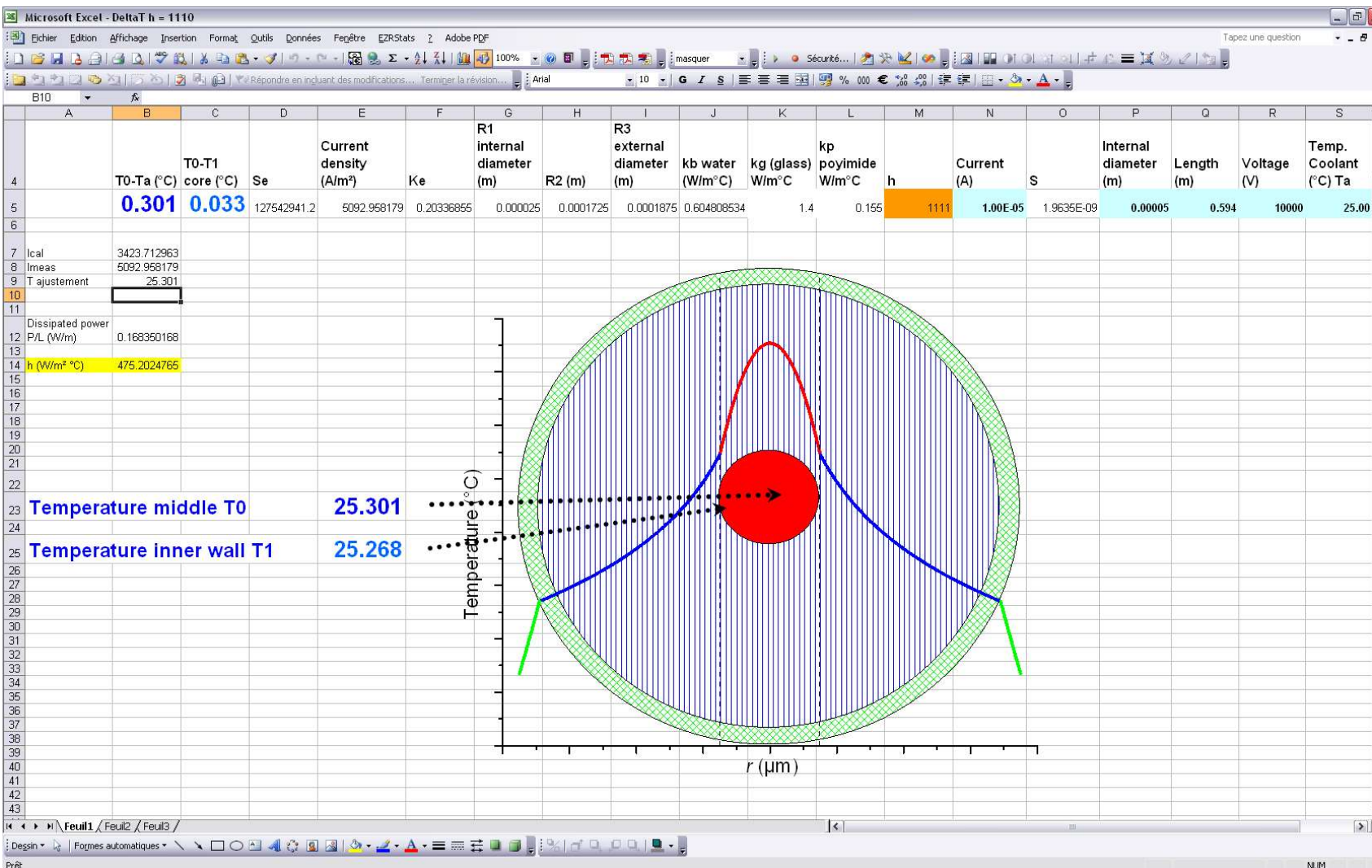
$$V = 10 \text{ kV}$$

$$i = 10 \text{ } \mu\text{A}$$

$$T = 25 \text{ } ^\circ\text{C}$$

$$\Delta T = 0,8 \text{ } ^\circ\text{C}$$

$$\Delta T_{liq.} = 0,03 \text{ } ^\circ\text{C}$$



$$h = 1111 \text{ W m}^{-2} \text{ } ^\circ\text{C}^{-1}$$

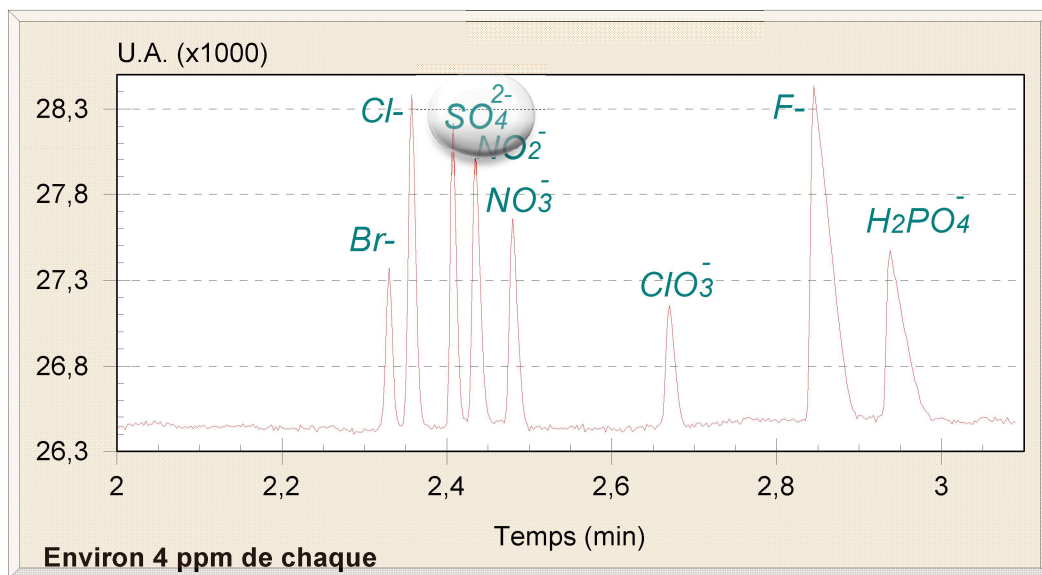
$$V = 10 \text{ kV}$$

$$i = 10 \text{ } \mu\text{A}$$

$$T = 25 \text{ } ^\circ\text{C}$$

$$\Delta T = 0,3 \text{ } ^\circ\text{C}$$

$$\Delta T_{liq.} = 0,03 \text{ } ^\circ\text{C}$$

Electrolyte **chromate**, pH = 8

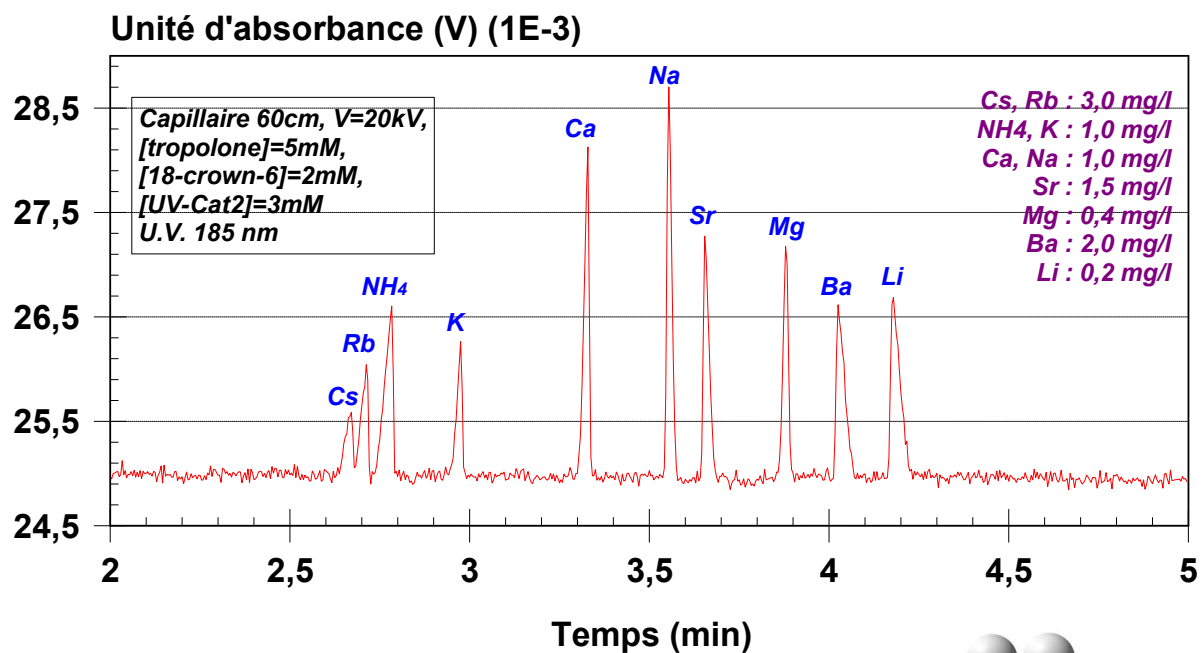
$$\mu_{Cl^-} < \mu_{SO_4^{2-}} < \mu_{NO_2^-}$$

$$-79,11 < \mu_{SO_4^{2-}} < -74,48$$

$$pK_a(SO_4^{2-}) = 7,22 \rightarrow \alpha_{pH=8} = \frac{[SO_4^{2-}]}{[HSO_4^-]} \approx 0,85$$

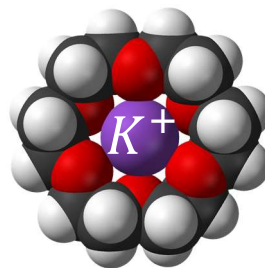
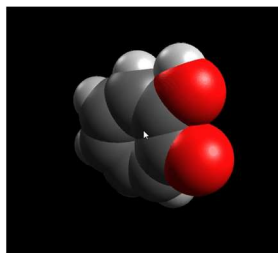
$$\mu_{sulfate} \approx$$

anions	μ_0	asymétrie
CrO_4^{2-}	-83,2	-
Br^-	-80,98	± 0
Cl^-	-79,11	< 0
HSO_4^-	-52,18	< 0
SO_4^{2-}	-82,88	< 0
NO_2^-	-74,48	< 0
NO_3^-	-74,05	< 0
ClO_3^-	-66,60	$\ll 0$
F^-	-57,34	$\lll 0$
$H_2PO_4^-$	-33,94	$\lll 0$



Séparation K^+ / NH_4^+ : 18C6

Séparation Ca^{2+} / Sr^{2+} :
tropolone



cations	μ_0	asymétrie
$Cs^+; Rb^+$	+79,60; +79,96	$\gg 0$
NH_4^+	+76,02	$\gg 0$
K^+	+76,22	$\gg 0$
Ca^{2+}	+61,66	> 0
UV-Cat2	+64	-
Na^+	+51,94	< 0
Sr^{2+}	+61,62	< 0
Mg^{2+}	+55,31	$\ll 0$
Ba^{2+}	+65,95	$\ll 0$
Li^+	+40,10	$\ll 0$



EXERCICES

$$v = \mu_{\text{apparent}} \cdot E$$

$$v = (\mu_{ep} + \mu_{eo}) \cdot E$$

Cations	Na^+	Li^+	K^+	Mg^{2+}	Sr^{2+}
μ_{ep}	51,94	40,10	76,22	55,31	61,62
Anions	Cl^-	F^-	HCO_3^-	ClO_4^-	HS^-
μ_{ep}	-79,11	-57,34	-46,08	-69,71	-66,6

Conditions de séparation :

$$\mu_{eo} = +66,6 \cdot 10^{-9} \text{ m}^2 \text{V}^{-1} \text{ s}^{-1}$$

$$L = 60 \text{ cm}$$

$$E = 25000 \text{ V}$$

- 1) Calculer le temps de migration pour 1 cation de votre choix
- 2) Quels sont les anions co-détectés avec les cations ?
- 3) Pour les anions co-détectés, calculer leur temps de migration

1) Mobilité apparente des cations : $\mu_{app} = \mu_{ep} + \mu_{eo}$

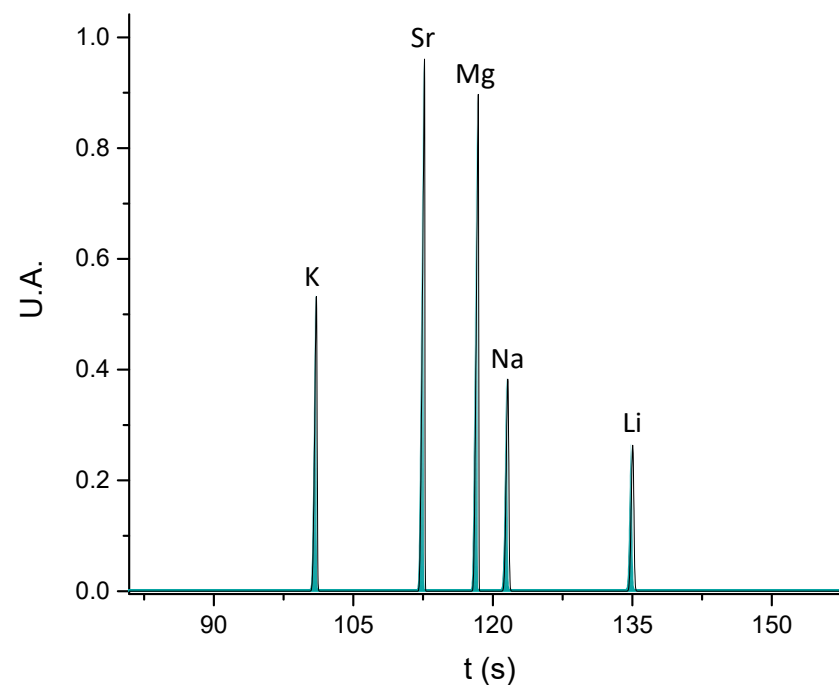
Exemple pour Li^+ : $\mu_{app,Li} = \mu_{ep,Li} + \mu_{eo}$

$$\mu_{app,Li} =$$

$$v_{Li} = \mu_{app} \cdot E =$$

$$v_{Li} = \quad \text{ms}^{-1}$$

$$t = \frac{L}{v_{Li}} =$$



Simulation par Peakmaster 5.3

Cations	Na^+	Li^+	K^+	Mg^{2+}	Sr^{2+}
t (s)					

2) Conditions $\mu_{app} = \mu_{ep} + \mu_{eo} > 0$, soit F^- & HCO_3^-

3) Mobilité apparente des anions :

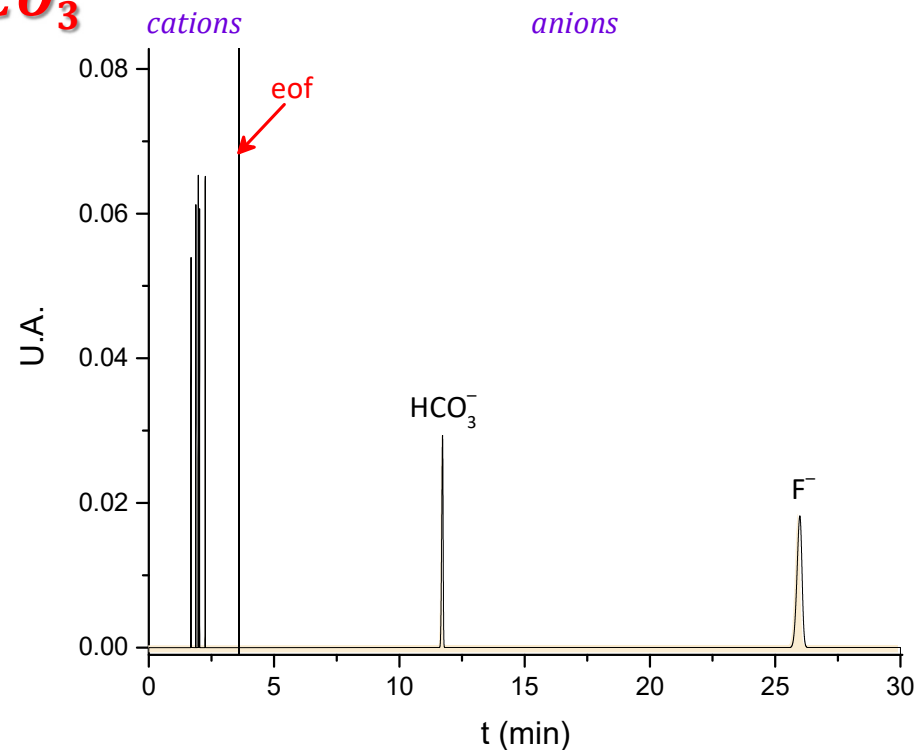
Exemple pour F^- : $\mu_{app,F} = \mu_{ep,F} + \mu_{eo}$

$$\mu_{app,F} =$$

$$v_F = \mu_{app} \cdot E =$$

$$v_F = \quad \text{ms}^{-1}$$

$$t =$$



Simulation par Peakmaster 5.3

Anions	Cl^-	F^-	HCO_3^-	ClO_4^-	HS^-
μ_{ep}					



Classique (chromatographie)
$$R = \frac{2(t_2 - t_1)}{\omega_1 + \omega_2} = \frac{t_2 - t_1}{4\sigma}$$

On peut également exprimer la résolution en fonction de l'efficacité.

$$R = \frac{1}{4} \sqrt{N} \left(\frac{\Delta\mu}{\bar{\mu}} \right) \quad \Delta\mu = \mu_2 - \mu_1$$

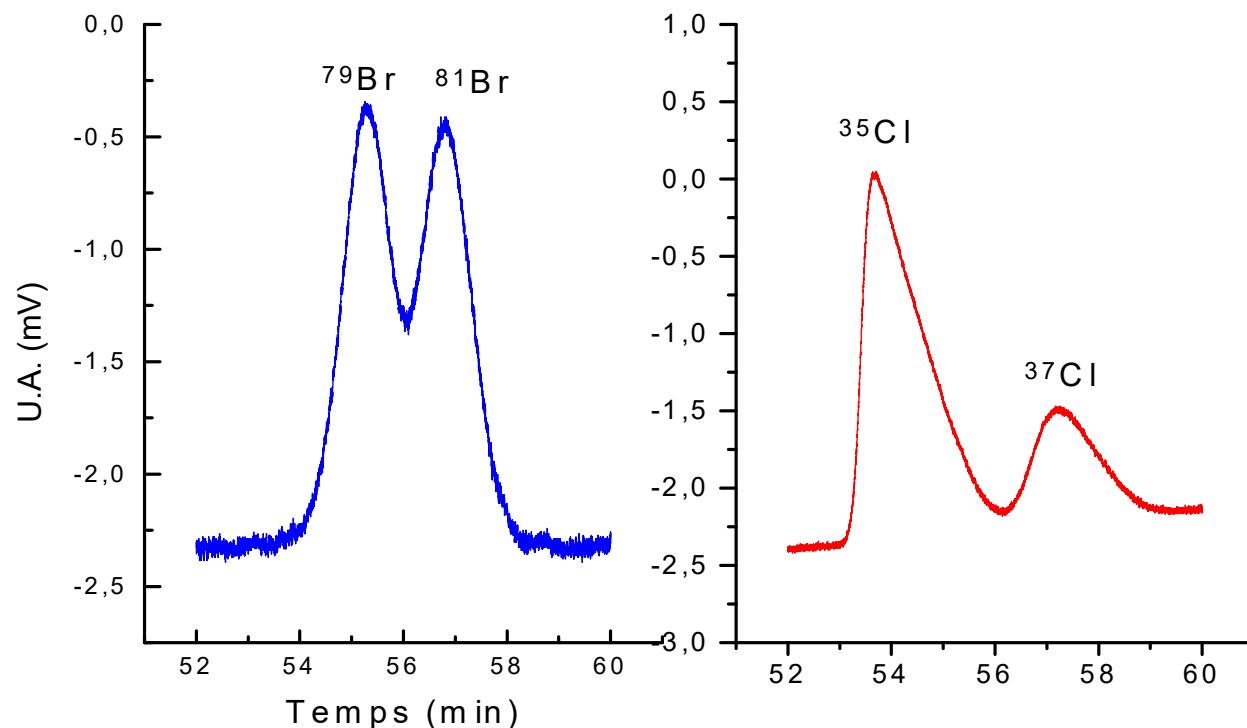
$$\bar{\mu} = \frac{\mu_1 + \mu_2}{2}$$

$$R = \frac{1}{4\sqrt{2}} \Delta\mu \sqrt{\frac{V}{D(\bar{\mu} + \mu_{eof})}}$$

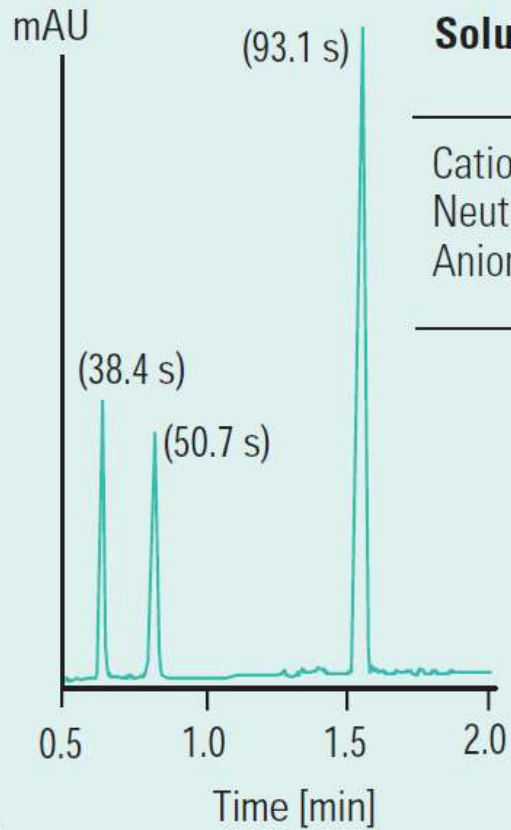
D : coefficient de diffusion

$R \nearrow$ avec \sqrt{V}
(il faut quadrupler la tension pour doubler la résolution ☹)

Cas $\bar{\mu} \approx \mu_{eof}$



Aupiais, J., Electrophoretic mobilities of the isotopes of chloride and bromide ions in aqueous solution at 25 °C and infinite dilution. *J. Solution Chem.* **2011**, *40*, 1629-1644.



Solute	Migration time (s)	μ_a (cm ² /Vs)	μ_e (cm ² /Vs)
Cation	38.4		
Neutral	50.7		
Anion	93.1		

Cation:

Neutral:

$$l = 50 \text{ cm}$$

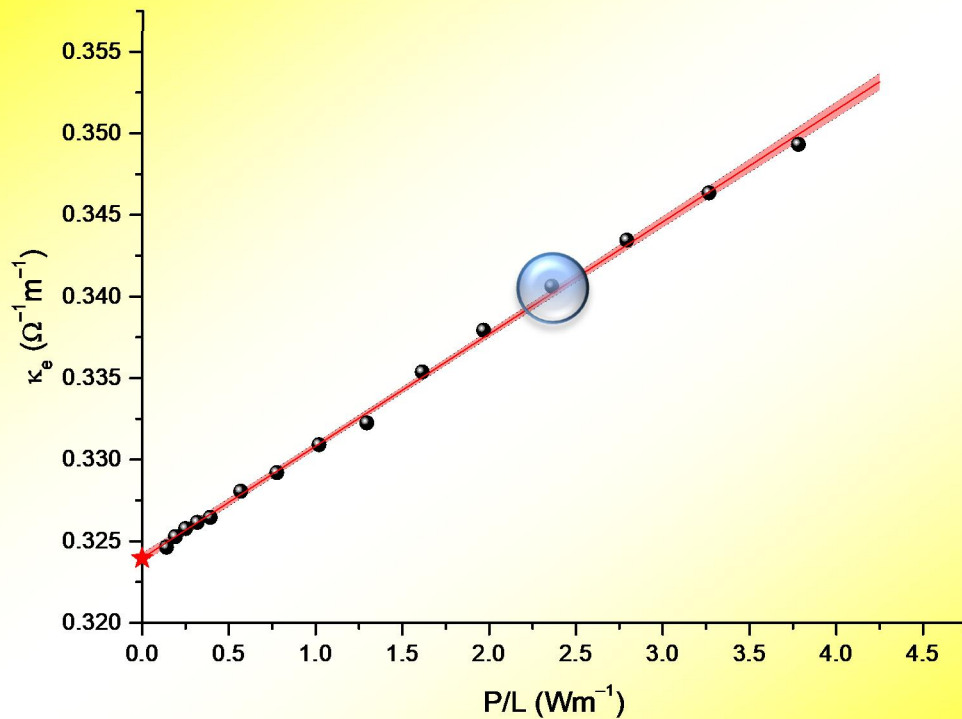
$$L = 58,5 \text{ cm}$$

$$V = 25 \text{ kV}$$

- 1) Calculer les 3 μ_a ($\equiv \mu_{app}$)
- 2) Calculer les 3 μ_e ($\equiv \mu_{ep}$)



T = 60 °C



Conditions :

$$P = 2,4 \text{ Wm}^{-1} \rightarrow \kappa_e = \mathbf{0,34064} \text{ } \Omega^{-1}\text{m}^{-1}$$

$$\kappa_e(\mathbf{P = 0}) = \mathbf{0,32396} \text{ } \Omega^{-1}\text{m}^{-1}$$

$$\Delta T =$$

On doit déterminer γ à 60 °C

$$\gamma = \frac{1}{\kappa_e} \frac{\partial \kappa_e}{\partial T}$$

$$\gamma =$$

$$\Delta T =$$

$$\kappa_e = \frac{L \cdot I}{S \cdot V} = \frac{L}{S} G$$

$$\Delta T =$$