



**HAL**  
open science

# De la séparation à la modélisation des comportements électrocinétiques

Nadine Mofaddel

► **To cite this version:**

Nadine Mofaddel. De la séparation à la modélisation des comportements électrocinétiques. Chimie analytique. Université de Rouen, 2009. tel-02462930

**HAL Id: tel-02462930**

**<https://hal.science/tel-02462930>**

Submitted on 4 Feb 2020

**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.

UNIVERSITÉ DE ROUEN

Mémoire proposé pour expertise par le Conseil Scientifique en vue  
d'obtenir l'autorisation de soutenir :

---

L'HABILITATION À DIRIGER DES RECHERCHES

De la séparation à la modélisation des  
comportements électrocinétiques

---

présenté par  
Nadine MOFADDEL, *Maître de Conférences*

Laboratoire d'Analyse des Systèmes Organiques Complexes  
55, rue Saint Germain 27000 Évreux

Centre universitaire d'Evreux, le 15 juin 2009

Proposition de jury :

Alain TCHAPLA	Professeur Université Paris-Sud	Rapporteur
Marie-Claude MILLOT	Professeur Université Paris 12	Rapporteur
Philippe MORIN	Professeur Université d'Orléans	Rapporteur
Martine BELJEAN-LEYMARIE	Professeur Université de Caen	Examineur
Georges DUPAS	Professeur INSA de Rouen	Examineur
Paul-Louis DESBÈNE	Professeur Université de Rouen	Examineur



---

## Table des matières

---

<b>Présentation du mémoire</b>	<b>iii</b>
<b>1 Curriculum Vitæ</b>	<b>1</b>
1.1 État civil . . . . .	1
1.2 Cursus universitaire . . . . .	2
1.3 Parcours professionnel . . . . .	3
1.4 Activités d'enseignement . . . . .	4
1.4.1 Enseignement au Centre Universitaire d'Évreux . . . . .	4
1.4.2 Enseignement à l'Institut Universitaire d'Évreux . . . . .	4
1.4.3 Responsabilités pédagogiques . . . . .	4
1.5 Encadrement de stagiaires . . . . .	5
1.5.1 Doctorants . . . . .	5
1.5.2 Diplôme d'Études approfondies . . . . .	5
1.5.3 Master 2 Professionnel . . . . .	6
1.5.4 Autres stagiaires . . . . .	6
1.6 Organisation de congrès . . . . .	7
1.7 Vulgarisation scientifique . . . . .	7
1.8 Responsabilités collectives . . . . .	7
1.9 Relations avec des partenaires industriels . . . . .	8
1.10 Collaborations avec des partenaires universitaires . . . . .	8
1.10.1 Au niveau national . . . . .	8
1.10.2 Au niveau régional . . . . .	9
<b>2 Activités de Recherche</b>	<b>10</b>
2.1 Introduction . . . . .	10
2.2 Recherches effectuées en Thèse . . . . .	13
2.3 Électrophorèse Capillaire et Détermination de Paramètres Physico-chimiques	15
2.3.1 Détermination des Concentrations Micellaires Critiques . . . . .	15
2.3.2 Détermination des Constantes d'Acidité . . . . .	19
2.3.3 Détermination des Constantes de Complexation . . . . .	23

2.4	Électrophorèse Capillaire et Liquides Ioniques : Concept d'électrolytes « tout-en-un » pour l'analyse de cations. . . . .	27
2.5	Modélisation de comportements électrocinétiques . . . . .	30
2.5.1	Modélisation Moléculaire . . . . .	30
2.5.2	Rationalisation de l'inversion des ordres de migration des énantiomères du binaphtol et de son dérivé dibromé en fonction du pH et de la concentration en cyclodextrines. . . . .	38
2.5.3	Chimiométrie . . . . .	40
2.6	Conclusion . . . . .	47
2.7	Développements et Perspectives . . . . .	48
2.7.1	Les Constantes d'Acidité en milieu non aqueux . . . . .	48
2.7.2	Les Liquides Ioniques . . . . .	52
2.7.3	Plans d'expériences et Analyses en Composantes Principales . . . . .	55
<b>3</b>	<b>Liste des travaux</b>	<b>57</b>
3.1	Publications . . . . .	57
3.2	Brevet . . . . .	59
3.3	Conférences invitées . . . . .	59
3.4	Communications par voie d'affiche . . . . .	59
<b>4</b>	<b>Sélection de publications</b>	<b>61</b>

C E MÉMOIRE, présenté afin d'obtenir l'Habilitation à Diriger des Recherches, regroupe l'ensemble de mes activités tant de recherche que d'enseignement depuis que j'ai intégré le Laboratoire d'Analyse des Systèmes Organiques Complexes (LASOC) dirigé par le Professeur Paul-Louis DESBÈNE, en 1993. Ce laboratoire de l'Université de Rouen a pour but le développement des Sciences Séparatives.

Ayant soutenue une thèse dans le domaine de la Chimie du Solide, c'est dans le laboratoire de Chimie Minérale de l'Université de Rouen, dirigé par le Pr. R. Bouaziz, que j'ai été initiée à la Recherche, pendant près de sept années. Le Pr. R. Bouaziz partant en retraite, il m'a été offert, par monsieur le Président de l'Université, la possibilité de réintégrer un laboratoire de chimie à Mont-Saint-Aignan ou le laboratoire du Pr. P.L. Desbène, à Évreux. Mon enseignement étant sur Évreux et la chimie analytique étant une discipline qui m'attirait particulièrement, j'ai opté pour le laboratoire LASOC.

Mon choix délibéré de développer ma carrière d'Enseignant-Chercheur dans le domaine des Sciences Séparatives étant ainsi exposé en préambule, je vais me présenter au travers d'un *curriculum vitae* détaillé, puis j'aborderai mes activités de recherche, depuis mon arrivée au laboratoire LASOC, celles-ci étant essentiellement dans un premier temps sur l'utilisation de l'Électrophorèse Capillaire pour la détermination de paramètres physico-chimiques, puis sur la modélisation de comportements électrocinétiques par différentes approches : la modélisation moléculaire et la chimiométrie.

Enfin après avoir dressé un bilan des travaux menés sur ces différentes thématiques, j'exposerai mes perspectives de recherche et présenterai, de façon chronologique, mes publications et communications.

### 2.1 Introduction

L'Électrophorèse Capillaire (EC) est une technique d'analyse récente qui permet de séparer des composés ionisés, potentiellement ionisables ou neutres sous l'effet d'un champ électrique intense (électromigration). Introduite dans les années 1980, la EC a été conçue pour séparer des espèces chimiques selon leur rapport charge/taille à l'intérieur d'un tube capillaire rempli d'un électrolyte.

L'électrophorèse capillaire représente une famille de techniques qui utilisent des capillaires étroits (diamètre interne de 10 à 200  $\mu m$ ) pour réaliser, sous des temps d'analyse courts et avec une très grande efficacité la séparation électrophorétique de molécules de masses moléculaires très variables. Le domaine d'application de cette technologie est donc très vaste. En effet elle permet d'analyser tant des macromolécules complexes, telles que les protéines et les acides nucléiques, que des solutés de taille très réduite comme les principes actifs pharmaceutiques ou les anions et cations inorganiques. Des différences de potentiel très importantes (plusieurs dizaines de kV appliquées aux extrémités d'un capillaire d'une dizaine, voire de quelques dizaines de centimètres) sont utilisées pour séparer les analytes.

Quelque soit la technique électrophorétique considérée, les principaux facteurs à prendre en considération en EC sont l'effet Joule, le courant d'électroosmose (ou électroosmose) et la dispersion de la zone échantillon. Contrairement aux diverses approches

de l'électrophorèse classique, ces paramètres deviennent particulièrement importants en électrophorèse capillaire car, dans ce cas comme mentionné ci-dessus, les champs électriques appliqués sont très élevés, le rapport surface/volume est grand et la viscosité de l'électrolyte-support est faible. La maîtrise de ces différents facteurs conditionne alors les qualités ultimes de la séparation obtenue.

En l'électrophorèse de zone libre, la séparation est réalisée dans un capillaire étroit rempli d'électrolyte et qui ne comporte ni solide, ni gel ; la séparation est la résultante de la migration électrophorétique (mouvement des molécules chargées vers l'électrode de polarité inverse) et du courant d'électroendosmose ou flux électroosmotique (mouvement d'électrolyte lié à la densité de charge surfacique du capillaire et du potentiel appliqué). Le courant d'électroendosmose est dépendant de la nature chimique du capillaire, de la puissance du champ électrique, du pH et de la composition de l'électrolyte ainsi que de sa force ionique et de sa viscosité. Ces différents facteurs sont optimisés pour conduire à la meilleure séparation possible dans le minimum de temps. Il est ainsi possible de séparer simultanément des cations et des anions à condition que le flux électroosmotique soit plus élevé que la mobilité électrophorétique des ions qui se déplacent dans la direction opposée. Dans ces conditions, le courant d'électroendosmose entraîne vers la cathode les molécules chargées négativement, ainsi que les molécules neutres.

Classiquement la quantification directe des analytes séparés est assurée par la mesure en ligne de l'absorbance U.V. à travers le capillaire lui-même. Mais la diversité des substances à détecter peut nécessiter la mise en oeuvre de principes de détection très variés et plus ou moins sophistiqués tels que la fluorimétrie laser, la spectrométrie U.V. visible à barrettes de diode ou la spectrométrie de masse.

L'électrophorèse capillaire s'est beaucoup diversifiée à l'image des techniques d'électrophorèse en gel et elle a donné naissance à toute une famille de techniques telles que l'électrophorèse capillaire de zone, l'isotachophorèse capillaire, la focalisation iso-électrique capillaire, la chromatographie capillaire électrocinétique micellaire, l'électrophorèse capillaire en gel ou bien encore l'électrochromatographie capillaire. Dans la plupart de ces applications, le milieu de séparation est constitué d'une simple veine liquide conductrice du courant, mais la technique d'électrophorèse capillaire peut être réalisée dans des capillaires renfermant des gels d'électrophorèse ou des supports chromatographiques.



C'est "grâce" ou "à cause" de ces nombreux paramètres mis en jeu lors d'une séparation électrophorétique que cette technique d'analyse peut-être mise en oeuvre à des fins, non plus de séparation et de quantification de composés, présents dans un mélange plus ou moins complexes, mais à la détermination de constantes physico-chimiques telles que les constantes d'acidité, les constantes de complexation ou bien encore les concentrations micellaires critiques de molécules tensioactives. En effet, la séparation étant basée sur le rapport charge/taille, la moindre variation de ce rapport va pouvoir être "détectée" et ainsi permettre la détermination de ce qui a causé cette variation : changement de charge du composé potentiellement ionisable ou de masse à cause d'une complexation ou d'une micellisation. C'est à cette application "particulière" de l'électrophorèse capillaire que j'ai consacré la première partie de ce mémoire.

Dans la seconde partie, j'exposerai le travail effectué sur l'utilisation de nouveaux électrolytes en électrophorèse capillaire : les liquides ioniques. Ces derniers, dénommés également "solvants verts" sont des composés ioniques à bas point de fusion utilisés très récemment dans de nombreux domaines de la chimie (catalyse, synthèse asymétrique, extraction...). Leurs propriétés particulières (température de fusion inférieure à 100°C, faible tension de vapeur, bons conducteurs électriques,...), qui peuvent de plus être "ajustées" selon la nature du cation et de l'anion qui constituent, en général, ces liquides ioniques, leur confèrent un intérêt croissant de la part des Chimistes et des Chimistes organiciens en particuliers en remplacement des solvants organiques usuels. Ne pourraient-ils pas être également des électrolytes de la nouvelle génération pour l'électrophorèse capillaire ?

La troisième et dernière partie de ce mémoire traitera de modélisation en général, au travers de deux applications particulières :

- d'une part la modélisation moléculaire appliquée à l'électrophorèse capillaire au travers d'essais de rationalisation des effets observés expérimentalement (complexation),
- et d'autre part l'étude de ces nombreux facteurs, mis en jeu lors d'une séparation électrophorétique, d'un point de vue chimiométrique.

Enfin je tiens à signaler que je n'exposerai pas mes travaux de thèse ; seul un résumé de ces travaux sera donné. En effet, ces derniers étant dans le domaine de la chimie du solide, une explication détaillée m'a paru hors contexte. De plus, ma reconversion a été totale et cet aspect de la chimie, bien que très intéressant, n'est plus d'aucune actualité au plan de mes thématiques de recherche depuis une quinzaine d'années.

## 2.2 Recherches effectuées en Thèse

Mes travaux de thèse, en chimie du solide, ont porté sur la recherche d'une méthode rationnelle pour séparer certaines phases solides de mélanges complexes. Ils reposaient essentiellement sur la détermination des domaines de cristallisation et sur l'étude des cheminements dans des systèmes multiconstituants.

Deux applications concrètes ont été traitées, résultant toutes deux de problèmes rencontrés par des industriels.

La première étude portait sur un système quaternaire de sulfates alcalins (ammonium, sodium et potassium) en solution aqueuse. Des problèmes de filtration, survenus dans une industrie sucrière, problèmes dus au colmatage des filtres causé par la cristallisation intempestive d'un des composés (le sulfate mixte de sodium et de potassium), nous ont amené à redéfinir totalement le diagramme des équilibres quaternaires et à déterminer les conditions expérimentales devant être mises en oeuvre afin de limiter au maximum la cristallisation du composé. Ce travail a fait l'objet d'une publication.

La seconde étude, en liaison avec l'industrie pharmaceutique, a permis la mise au point d'une méthode de séparation d'énantiomères à partir également de la détermination totale du diagramme des équilibres quaternaires (ou quaternaires réciproques), mis en jeu entre quatre sels diastéréoisomères de la molécule chirale d'intérêt, en solution éthanolique. Cette étude a fait l'objet de deux publications et d'un dépôt de brevet<sup>1</sup>.

C'est pendant cette période que j'ai pu appréhender différentes techniques d'analyses, telles que la chromatographie en phase liquide, les dosages conductimétriques ou les analyses par calorimétrie différentielle, nécessaires à la quantification des composés présents dans les mélanges étudiés et que je me suis découvert un attrait certain pour la Chimie Analytique et les Sciences Séparatives en particuliers. En conséquence, c'est sans trop d'hésitation que je me suis reconvertie dans la Chimie Analytique et plus particulièrement dans les techniques séparatives électrocinétiques miniaturisées.

*Ces travaux sont rapportés, à la fin de ce mémoire, au travers des publications :*

- *Le polymorphisme du sulfate de sodium anhydre et les phases intermédiaires, glasérite et aphaltalite, dans le binaire  $Na_2SO_4 - K_2SO_4$ . Mofaddel N., Bouaziz R., Mayer M., *Thermochimica Acta*, 185, Issue 1, 21, 141-153, 1991.*

- *Stoichiométries, comportements et caractérisations de sels diastéréoisomères en milieu*

1. Mofaddel N., Bouaziz R. *Procédé de séparation des énantiomères d'un mélange racémique de molécules ou ions présentant une activité optique. Brevet d'invention n° 91 01513 (n° publication : 2 672 285) du 11 Juin 1993.*

*fondu. Cas des camphorates (d) de la (+) et (-) fenfluramine. Coquerel G., Mofaddel N., Petit M.N., Bouaziz R., Bull. Soc. Chim. Fr.,128, 418-422, 1991.*

*- Réduction de la consommation en agent chiral lors de la cristallisation fractionnée de sels diastéréoisomères. Cas favorable du camphorate droit de S(+)-fenfluramine. Mofaddel N., Bouaziz R., Bull. Soc. Chim. Fr.,128, 773-786, 1991.*

## 2.3 Électrophorèse Capillaire et Détermination de Paramètres Physico-chimiques

En arrivant au laboratoire du Pr P.L. Desbène, ce dernier m'a offert la possibilité de participer aux développements des techniques électrocinétiques alors à leurs premiers balbutiements en France. Je me suis tout d'abord initiée à l'Électrophorèse Capillaire (EC) aux côtés des étudiants en thèse présents au laboratoire. Puis j'ai pris la suite des travaux initiés par le Dr. J.C. Jacquier, seconde thèse soutenue au laboratoire sur ce thème émergent, sur la détermination des concentrations micellaires critiques (CMC) co-encadrant les travaux effectués par *M<sup>elle</sup>* F. Thouard, étudiante de DEA, dans l'objectif d'appréhender au mieux la technique de chromatographie électrocinétique micellaire (MEKC) et tous les facteurs entrant en jeu lors d'une séparation.

### 2.3.1 Détermination des Concentrations Micellaires Critiques

La détermination des concentrations micellaires critiques par CE est une méthode maintenant bien connue et totalement maîtrisée au laboratoire, celle-ci ayant déjà fait l'objet de deux publications<sup>2 3</sup>.

Pour un tensioactif donné, les conditions opératoires étant parfaitement définies (électrolyte de séparation (pH, force ionique, présence de cosolvant), tension de séparation, température, mode détection...), il suffit de suivre l'évolution de la mobilité électrophorétique effective d'une molécule test neutre si le tensioactif est ionique, ou une molécule test chargée si le tensioactif est non ionique, en fonction de la concentration du tensioactif dans l'électrolyte pour déterminer sa concentration micellaire critique (CMC). En effet tant que nous sommes en dessous de la CMC, la mobilité électrophorétique effective ( $\mu_{eff}$ ) du composé test ne varie quasiment pas, ce dernier interagissant avec le tensioactif par des forces d'interaction faibles (solvatophobie). Dès que l'on dépasse la CMC, les molécules de tensioactifs s'agrègent, formant les micelles, et le composé test se micellisant voit brusquement sa mobilité effective modifiée et tendre vers une valeur limite quand il est totalement micellisé. En traçant  $\mu_{eff} = f([\text{Tensioactif}])$ , au voisinage de la CMC, on obtient deux

2. Jacquier J.C, Desbène P.L., *Determination of critical micelle concentration by capillary electrophoresis. Theoretical approach and validation. J. Chromatogr. A*, 718, 167-175, 1995.

3. Jacquier J.C, Desbène P.L., *Determination of critical micelle concentration by capillary electrophoresis. Application to organo-saline electrolytes. J. Chromatogr. A*, 743, 307-314, 1996.

branches de droites se coupant à la valeur de la concentration micellaire critique.

Les travaux du Dr. J.C. Jacquier portant sur la détermination de la CMC du dodécyl-sulfate de sodium (tensioactif anionique) et sur l'effet de la composition de l'électrolyte de séparation (force ionique, nature et pourcentage de cosolvant organique) sur la valeur de cette CMC, j'ai tenté de généraliser ces travaux par la détermination des CMC d'un tensioactif neutre. J'ai choisi comme tensioactif non ionique modèle le monodécyléther hexaéthylèneglycol monodisperse ( $C_{10}E_6$ ) et j'ai étudié l'effet de divers paramètres, tels que la température, l'ajout de cosolvant organique dans l'électrolyte de séparation, sa nature et son pourcentage ou bien encore la nature du composé test utilisé en tant que marqueur de micelles, sur la valeur de cette CMC. Les résultats que nous avons alors obtenus confirment le fait que l'électrophorèse capillaire est une méthode de choix pour la détermination des CMC, celles-ci étant fortement dépendantes du milieu électrophorétique dans lequel se trouve le tensioactif étudié ainsi que de la température de l'analyse. Ainsi pour le  $C_{10}E_6$ , la CMC, qui est de 0,90 mM dans l'eau pure à 25°C, décroît avec la force ionique de l'électrolyte, de même qu'avec la température, tandis qu'elle augmente avec le pourcentage de cosolvant présent dans le milieu de séparation quel que soit ce cosolvant, variations, somme toute, logiques. Toutefois au dessus d'une certaine teneur en cosolvant organique, variable selon la nature de ce dernier, le phénomène de micellisation n'est plus observé. Enfin nous avons montré que la CMC varie également selon le marqueur de micelles utilisés. Dans ces travaux nous avons employé une famille d'alkylbenzène sulfonates (de  $C_6$  à  $C_{12}$ ) jouant un double rôle :

- d'une part cette famille de marqueur confère une charge négative aux micelles neutres et donc permet leur migration dès que leur formation est observée,
- d'autre part elle permet la détection U.V. des micelles grâce au chromophore qu'elle comporte.

Les résultats sont regroupés sur les figures 1 et 2, page suivante.

Cette variation de la CMC du  $C_{10}E_6$  en fonction de la longueur de la chaîne alkyle du composé test utilisé comme marqueur de micelles montre qu'aucun des composés testés n'est particulièrement adapté. Toutefois globalement ces résultats nous ont permis de confirmer les travaux de Thèse du Dr. J.C. Jacquier. De plus, ils m'ont surtout permis de me familiariser avec la technique d'électrophorèse capillaire et ces grandes potentialités<sup>4</sup>.

4. Ces résultats, qui ont fait l'objet du rapport de DEA de F. Thouard puis ont été continués après son départ, n'ont pas été publiés.

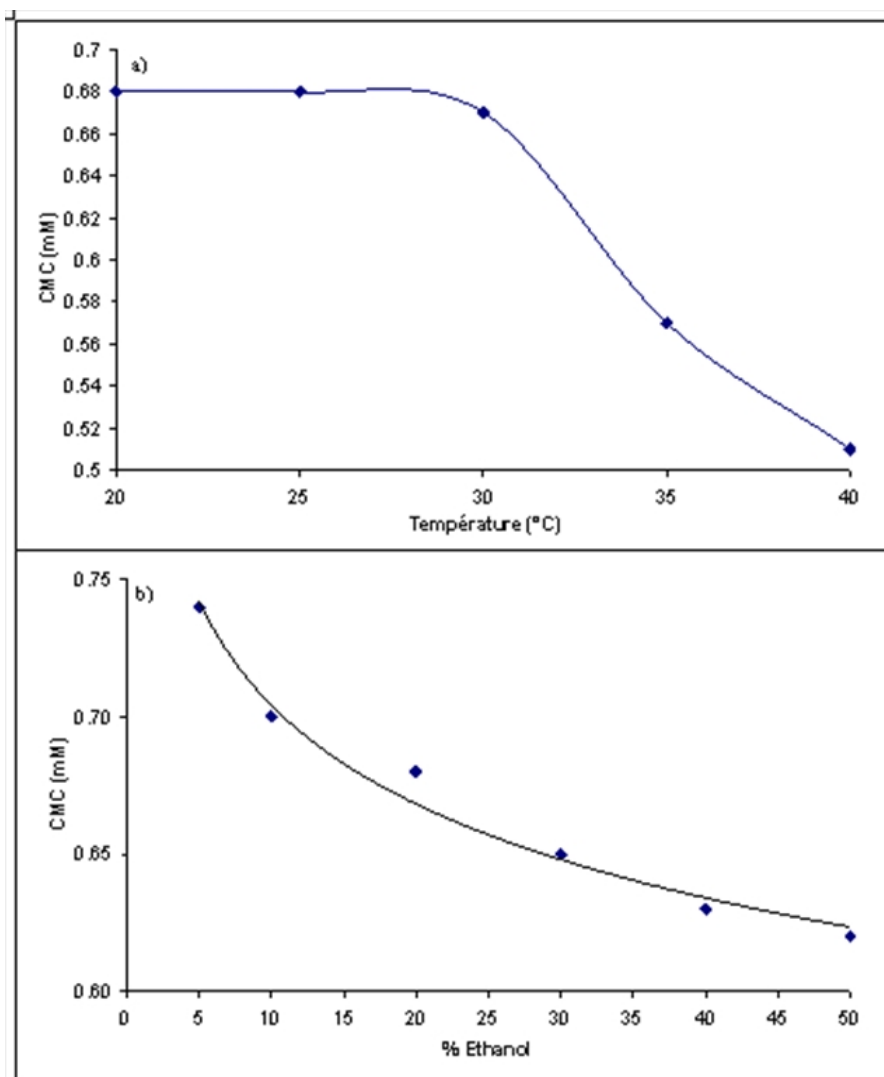


FIGURE 1 – a) Évolution de la CMC du  $C_{10}E_6$  en fonction de la température. Conditions opératoires : capillaire en silice vierge fondue 57 cm (longueur effective : 50 cm)  $\times$  50  $\mu$ m d.i. ; électrolyte de séparation : Borax 20 mM ; [soluté test] =  $10^{-3}$  mol/L ; détection à 214 nm ; tension appliquée : 25 kV.

b) Évolution de la CMC du  $C_{10}E_6$  en fonction de la concentration en Borax. Conditions opératoires : température : 25  $^{\circ}C$ . Autres conditions identiques à celles de a).

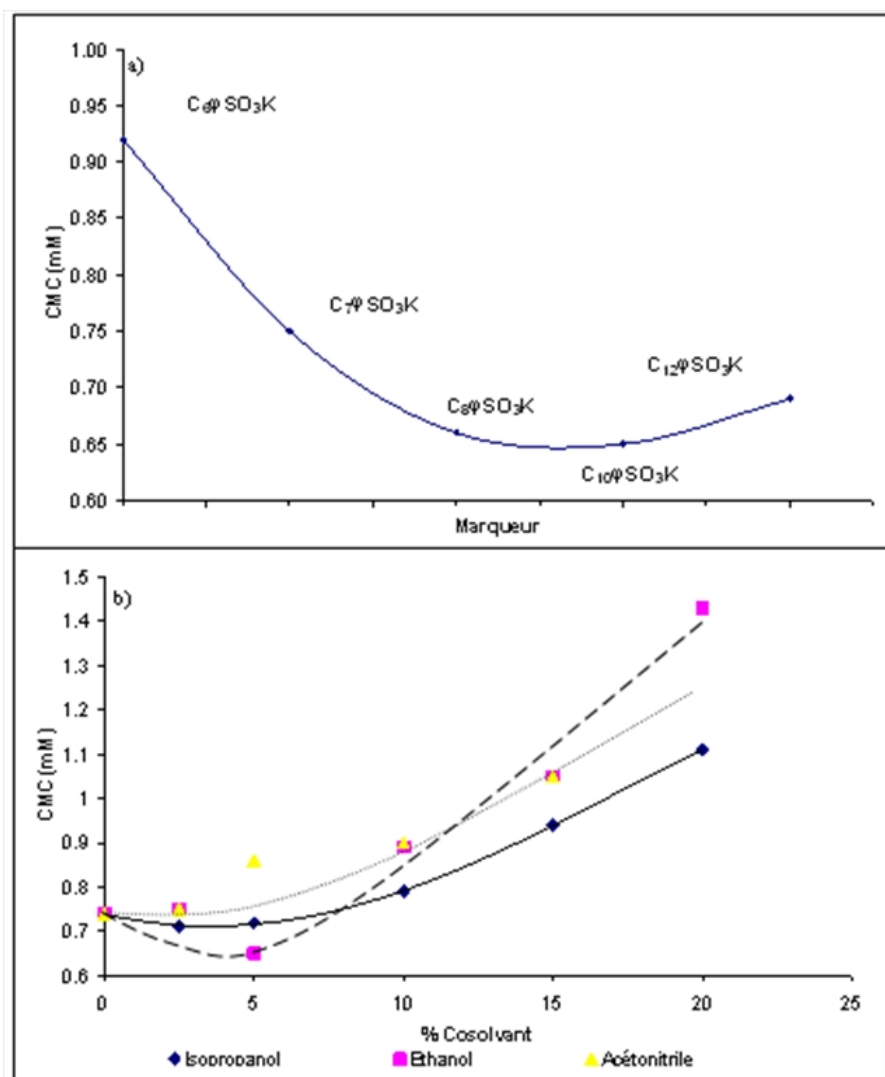


FIGURE 2 – a) Évolution de la CMC du  $C_{10}E_6$  en fonction du marqueur de micelles. Conditions opératoires : électrolyte de séparation : Borax 10 mM; tension appliquée : 30 kV. Autres conditions identiques à celles de la figure 1b).

b) Évolution de la CMC du  $C_{10}E_6$  en fonction de la nature et du pourcentage de cosolvant. Conditions opératoires identiques à celles de a).

Toujours dans l'optique d'appréhender le plus complètement possible la EC, j'ai collaboré avec le Pr. A. Desbène à la rédaction de deux articles de synthèse, le plus exhaustifs possibles, de tous les travaux réalisés en électrophorèse capillaire, tout d'abord sur l'analyse des acides gras puis sur la technique électrophorétique en milieu non aqueux<sup>5 6</sup>.

Participant à d'autres travaux ponctuels avec les membres du Laboratoire, tel que Christophe Morin, alors doctorant, et notamment dans la mise en oeuvre de la détection fluorimétrique Laser indirecte en électrophorèse capillaire, j'ai pu enfin, après ces quelques années, aborder mes propres thématiques.

### 2.3.2 Détermination des Constantes d'Acidité

Ces travaux ont été initiés en 2003, lors d'une rencontre avec le Pr. D. Villemin chimiste organicien (Université de Caen, LCMT, UMR CNRS 6507). Dans son laboratoire, son équipe synthétisait divers composés originaux tels que des acides phosphoniques aromatiques, des dérivés du binaphthol ou autres composés carbonylés énolisables, utilisés en synthèse organique comme initiateur ou/et catalyseurs... La connaissance de leur propriétés physico-chimiques, telles que leurs constantes d'acidité ou leurs constantes de complexation, s'avèrait primordiale dans la compréhension des phénomènes observés. C'est dans ce contexte que nous avons collaboré.

Le principe de la détermination des constantes d'acidité est simple. Comme je l'ai déjà noté, la mobilité électrophorétique d'un composé dépend essentiellement du rapport charge/taille. Donc dans des conditions opératoires données, chaque composé possède une mobilité électrophorétique effective qui lui est propre. Si on réalise un gradient de pH, en changeant le pH du milieu de séparation, toutes les autres conditions opératoires étant identiques, et si le composé possède une fonction acide ou basique, donc s'il est ionisable en fonction du pH, on va pouvoir observer une modification de sa mobilité électrophorétique effective au voisinage de son pKa. Ainsi pour des valeurs de  $\text{pH} < \text{pKa}-2$ , le composé sera chargé (positivement s'il s'agit d'une base) ou neutre (dans le cas d'un acide) et pour  $\text{pH} > \text{pKa}+2$  il deviendra respectivement neutre (pour une base) ou chargé (négativement dans le cas d'un acide). Dans la zone de pH intermédiaire la charge du composé ionisable

5. Mofaddel N., Desbène-Monvernay A.M., *L'Analyse des acides gras en Électrophorèse Capillaire. Analisis*, 27, 120-124, 1999.

6. Desbène-Monvernay A.M., Mofaddel N., *L'Électrophorèse Capillaire en milieux non aqueux. Analisis*, 27, 144-148, 1999.



décroîtra progressivement, dans le cas d'une base, ou au contraire elle croîtra progressivement pour un acide, entraînant par la même une modification progressive de sa mobilité électrophorétique, la taille du composé demeurant inchangée. Cette variation de la mobilité électrophorétique effective représentée en fonction du pH du milieu de séparation montre une courbe présentant un point d'inflexion : ce dernier permet de déterminer précisément le pKa du composé étudié. Un exemple de représentation est rapporté à la figure 3 pour l'acide de Meldrum ( $C_6H_8O_4$ ).

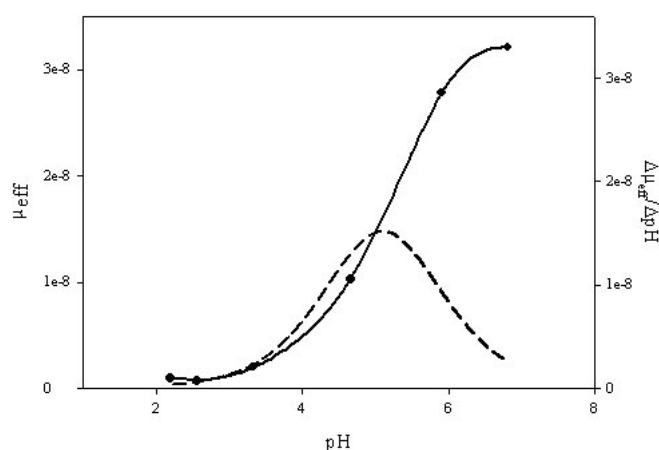


FIGURE 3 – Variation de la mobilité électrophorétique de l'acide de Meldrum en fonction du pH du milieu de séparation. Conditions opératoires : capillaire en silice vierge fondue 48,5 cm (longueur effective : 40 cm)  $\times$  50  $\mu$ m d.i. ou capillaire greffé avec de l'hexadiméthrine ; électrolyte de séparation : sels de phosphate ou de borate de sodium dont le pH est ajusté à la valeur désirée avec de l'acide borique, de l'acide phosphorique ou de la soude, à force ionique constante ; [soluté] =  $10^{-3}$  mol/L ; température : 25°C ; tension appliquée : 20 kV.

Dans l'exemple présenté, l'acide de Meldrum possède donc un  $pK_a = 5,00 \pm 0,03$ .

Dans la cas où la valeur du pKa se trouve vers les valeurs élevées de pH ( $pK_a > 10$ ) ou au contraire faibles ( $pK_a < 3$ ), il est alors difficile, voire impossible, d'atteindre expérimentalement le point d'inflexion de la courbe et donc de déterminer graphiquement cette valeur du pKa. Cependant par extrapolation, il est possible d'obtenir cette valeur à partir de l'équation ci-dessous :

$$pK_a = -\log\left(\frac{\mu_{eff_2} \times 10^{pH_2} - \mu_{eff_1} \times 10^{pH_1}}{\mu_{eff_1} - \mu_{eff_2}}\right) \quad (2.1)$$

Ainsi il a été possible de déterminer les constantes d'acidité des 11 composés synthétisés par l'Équipe du Pr. D. Villemin.

Le tableau 2.1 présentent les résultats obtenus.

Composé	$pK_a$				
	Graphique		Extrapolation		Calcul
	Exp.	Thermo.	Exp.	Thermo.	
Acétylacétone	9,06	8,97	8,94	9,03	9,43
Acide tétronique	3,60	3,51	3,54	3,63	-
Diéthylmalonate	-	-	10,61	10,70	10,78
3-méthylrhodamine	9,16	9,07	9,23	9,32	-
Acide de Meldrum	5,09	5,00	4,89	4,98	5,38
Anhydride homophthalique	8,24	8,15	8,21	8,30	-
Ethyl ester de l'acide nitroacétique	5,76	5,67	5,56	5,65	7,01
Pyrimidine-2,4,6-trione	5,51	5,42	5,39	5,48	-
Ethyl ester de l'acide 3-oxo-3-phénylpropionique	9,30	9,21	9,12	9,21	9,39
1-phénylbutan-1,3-dione	8,74	8,65	8,33	8,42	9,03
5,5-diméthylcyclohexan-1,3-dione	5,20	5,11	4,84	4,93	5,38

TABLE 2.1 – Valeurs des pKa des 11 énols étudiés.

Les valeurs expérimentales ( $pK_{a_{Exp.}}$ ) ont été comparées avec les valeurs théoriques des pKa ( $pK_{a_{Calcul}}$ ), calculées par l'intermédiaire du logiciel Pallas (CompuDrug Chemistry Ltd. San Fransisco, USA), le pKa thermodynamique ( $pK_{a_{Thermo.}}$ ) étant obtenu avec la formule :

$$pK_{a_{Thermo}} = pK_{a_{Exp.}} - \frac{0,5085 * \sqrt{I}}{1 + 0,3281 * r_i * \sqrt{I}} \quad (2.2)$$

avec  $I$  la force ionique de l'électrolyte et  $r_i$  le rayon ionique du soluté étudié. Un bon accord a toujours été observé.

Toujours dans une démarche de travail en synergie avec l'Équipe du Pr. D. Villemin, nous avons déterminé les pKa de divers dérivés mono et disubstitués du binaphtol. Les résultats de cette étude sont présentés dans le tableau 2.2 page suivante. Le but recherché était d'accéder, de façon rationnelle aux conditions opératoires optimales pour leurs énantioséparations en présence de cyclodextrines neutres.

C'est ainsi que nous avons pu montrer, dans les travaux de Thèse du Dr. H. Krajian, que ces composés présentaient des pKa en général supérieurs à 9 comme le met en évidence le tableau 2.2 page suivante et donc que pour pouvoir réaliser leur énantioséparation, en présence de cyclodextrines neutres, il nous fallait travailler en milieu très basique (pH voisin de 11). Lors de ce travail, il nous a également été donné l'opportunité de mettre en évidence des inversions d'ordres de migration des énantiomères, d'une part en fonction de la

Binols	$pK_a$	
	Exp.	Thermo.
1,1'-binaphtalèn-2,2'-diol	9,04	9,03
	10,83	10,90
6-bromo-1-(2-hydroxynaphtalèn-1-yl)naphthalèn-2-ol	3,54	3,63
	10,82	10,89
1-(2-(allyloxy)naphthalèn-1-yl)naphthalèn-2-ol	10,29	10,36
1-(2-(benzyloxy)naphthalèn-1-yl)naphthalèn-2-ol	10,15	10,21
1-(2-méthoxynaphtalèn-1-yl)naphthalèn-2-ol	10,17	10,23
6-bromo-1-(6-bromo-2-hydroxynaphtalèn-1-yl)naphthalèn-2-ol	9,56	9,64
	11,07	11,15

TABLE 2.2 – Valeurs des  $pK_a$  obtenus pour le binaphtol et ses dérivés.

concentration en cyclodextrine et d'autre part en fonction du pH, comme il sera rapporté ultérieurement dans ce mémoire, phénomènes encore très peu décrits dans la littérature.

D'autres chimistes organiciens, intéressés par ces travaux, nous ont exprimé leur nécessité d'accéder au  $pK_a$  d'acides qu'ils utilisaient comme catalyseur (tel que l'acide tosylique  $C_7H_8O_3S$ ) mais cette fois en milieu non aqueux.

Afin de vérifier les potentialités de l'électrophorèse capillaire à déterminer ces  $pK_a^*$  ( $pK_a$  apparent en milieu non aqueux), j'ai confié à une stagiaire de Master1 pro,  $M^{elle}$  I. Zerbouh, ce sujet, le principe étant le même qu'en milieu aqueux, c'est à dire suivre l'évolution de la mobilité électrophorétique effective du composé étudié en fonction du pH, cette fois-ci apparent ( $pH^*$ ). Les difficultés majeures en milieu non aqueux sont la réalisation des électrolytes de séparation à force ionique constante ainsi que l'évaluation de ces  $pH^*$ . Selon le solvant organique utilisé, ceci est plus ou moins aisé. Le maintien de la force ionique à une valeur fixée nécessite de déterminer la nature et les concentrations des sels à utiliser, sels plus ou moins solubles selon le solvant.

Par manque de temps, seul le  $pK_a^*$  de l'acide benzoïque en milieu méthanolique a été déterminé :  $pK_a^* = 7,21 \pm 0,03$  dans le méthanol à 25°C, comme le montre la figure 4 page suivante (pour mémoire  $pK_a = 4,20$  dans l'eau à 25°C) .

Cependant les connaissances acquises lors de ce travail, au travers des difficultés rencontrées sur la fabrication des électrolytes de séparation en milieu non aqueux, m'amèneront à poursuivre sur ce sujet<sup>7</sup>.

7. Ces résultats n'ont pas encore été publiés, cette étude devant être complétée.

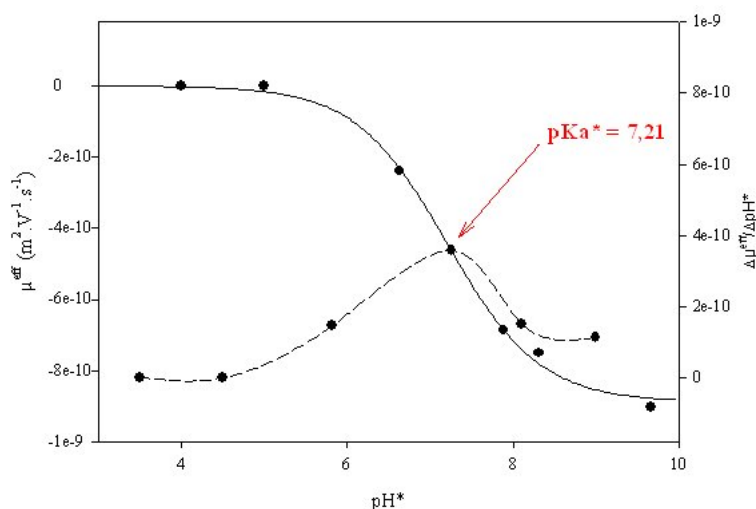


FIGURE 4 – Variation de la mobilité électrophorétique de l'acide benzoïque en fonction du  $pH^*$  du milieu de séparation. Conditions opératoires : capillaire en silice vierge fondue 32,6 cm (longueur effective : 24,1 cm)  $\times$  50  $\mu\text{m}$  d.i. ; électrolyte de séparation : solutions méthanoliques d'acide acétique glacial et d'acétate de sodium, à force ionique constante ; [soluté] =  $10^{-3}$  mol/L ; température : 25°C ; tension appliquée : 15 kV.

Les résultats obtenus lors de ces travaux sont rapportés, à la fin de ce mémoire, au travers des publications :

- Determination of acidity constants of enolisable compounds by capillary electrophoresis. **Mofaddel N.**, Bar N., Villemin D., Desbène P.L., *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 380, 4, 664-668, 2004.
- Enantioseparation of binaphthol and its mono derivatives by cyclodextrin-modified capillary zone electrophoresis. **Mofaddel N.**, Krajian H., Villemin D., Desbène P.L., *Journal of Chromatography A*, 1211, 142-150, 2008.

### 2.3.3 Détermination des Constantes de Complexation

Parallèlement aux déterminations précédentes, je me suis employée à la détermination des constantes de complexation apparentes de divers complexes rencontrés au fil des années et des contrats de recherche.

- Complexe entre le tripeptide glycyl-L-histidyl-L-lysine et le cuivre (contrat industriel avec la société Janssen et Janssen).

La société Janssen et Janssen nous a contacté sur des problèmes de quantification du complexe formé entre le tripeptide glycyl-L-histidyl-L-lysine (GHK) et le cuivre qu'ils utilisaient dans leurs cosmétiques. En application des nouvelles normes européennes et la nécessité de vérifier la composition de leur réactifs, avant fabrication (ici le tripeptide de cuivre, obtenus par deux fournisseurs différents), ils désiraient

une méthode d'analyse rapide "clé en main" pour la quantification du complexe de cuivre, dans leurs conditions d'utilisation. Était déjà connu dans la littérature<sup>8</sup> l'existence de plusieurs complexes de cuivre (GHK-Cu), selon la valeur du pH, comme le présente la figure 5, ainsi que des méthodes de quantification de tripeptides par chromatographie liquide et électrophorèse capillaire<sup>9 10</sup>.

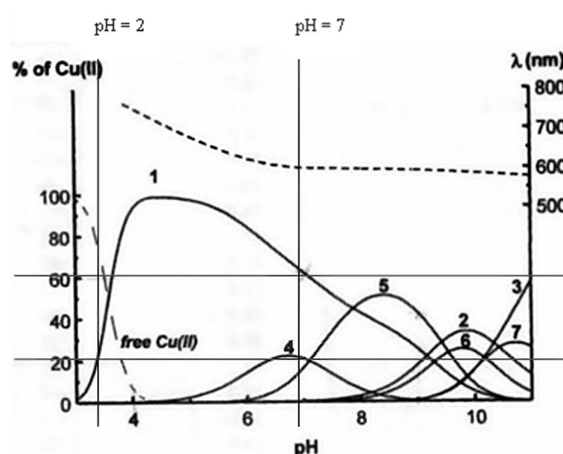


FIGURE 5 – Diagramme de distribution des complexes de Cuivre selon le pH . 1.GHK – Cu, 2.GHK – CuH<sub>-1</sub>, 3.GHK – CuH<sub>-3</sub>, 4.(GHK)<sub>2</sub> – CuH<sub>2</sub>, 5.(GHK)<sub>2</sub> – CuH, 6.(GHK)<sub>2</sub> – Cu, 7.(GHK)<sub>2</sub> – CuH<sub>-1</sub>, la ligne pointillée représente le maximum de longueur d'onde d'absorption en UV Visible.

Pour notre part nous avons mis au point une méthode d'analyse basée sur l'analyse frontale en électrophorèse capillaire (FACCE). Dans cette approche la séparation se fait classiquement comme en CZE, mais l'échantillon est injecté en continu, ce dernier se trouvant avec l'électrolyte de séparation dans le récipient situé à l'entrée du capillaire, le récipient positionné en sortie du capillaire ne contenant que l'électrolyte tout comme le capillaire en début d'expérimentation. En conséquence lors du passage des analytes devant le détecteur, on observe non plus un pic gaussien mais "une marche" puisque les composés constituant l'échantillon passent en continu devant le système de détection. Ceci est représenté sur la figure 6 page suivante.

Ainsi, il nous a été possible, en travaillant à pH 6,98, de détecter le complexe GHK-Cu, en moins de 5 minutes, ainsi que le tripeptide resté à l'état libre. A ce pH, seul le

8. Conato C. et al., *Copper complexes of glycyl-histidyl-lysine and two of its synthetic analogues : chemical behaviour and biological activity. Biochimica et Biophysica Acta*, 1526, 199-210, 2001.

9. Rabouan S., Prognon P., Barthes D., *Validation of the high performance liquid chromatography separation of GLF and related di- and tripeptides. Il Farmaco*, 53, 747-751, 1998.

10. Zhang R.Z. et al., *An Assay for Angiotensin-Converting Enzyme Using Capillary Zone Electrophoresis. Analytical Biochemistry*, 280, 286-290, 2000.

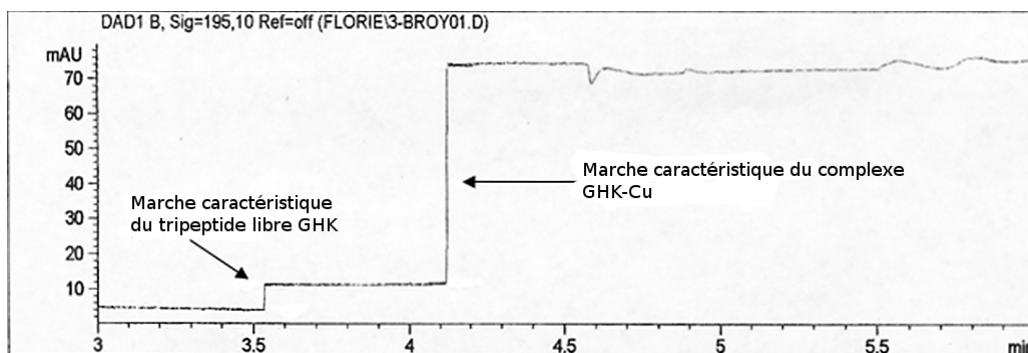


FIGURE 6 – Exemple d'électrophorégramme obtenu en FACCE. Conditions opératoires : capillaire en silice vierge fondue 48,5 cm (longueur effective : 40 cm)  $\times$  50  $\mu$ m d.i. ; électrolyte de séparation : tampon phosphate 25 mM, pH = 6,98 ; détection à 195 nm ; [soluté] =  $10^{-3}$  mol/L ; température : 25°C ; tension appliquée : 25 kV.

complexe 1 : 1 est détectable car très majoritaire. Notons, de plus, que l'on ne peut détecter les ions  $Cu^{2+}$  libres qui vraisemblablement s'adsorbent à la paroi du capillaire chargée négativement à ce pH.

À partir des courbes d'étalonnage, tracées grâce à la proportionnalité entre la hauteur de la marche observée sur l'électrophorégramme et la concentration du composé détecté présent dans la veine liquide, il nous a été possible de quantifier la quantité de complexe GHK-Cu et celle de tripeptide non complexé. La concentration des ions  $Cu^{2+}$  étant déterminée indirectement à partir de la concentration initiale en cuivre diminuée de la concentration d'ions  $Cu^{2+}$  utilisés pour la formation du complexe, il est alors aisé de calculer la constante de complexation des ions  $Cu^{2+}$  par le tripeptide GHK, dans les conditions opératoires fixées. La valeur de la constante de complexation apparente obtenue dans ces conditions opératoires<sup>11</sup> pour le complexe GHK-Cu est  $K_c = 510 \pm 10 M^{-1}$ .

- Constantes de complexation du binaphtol et de divers dérivés par différentes cyclodextrines neutres.

Toujours dans la cadre de notre collaboration avec le Pr. D. Villemin (Université de Caen) et en vue d'optimiser l'énantioséparation du binaphtol et de ses dérivés (binols) en utilisant des cyclodextrines neutres (CD), en électrophorèse capillaire, nous nous sommes attachés à déterminer toutes les constantes de complexation apparentes des nombreux complexes rencontrés. Les binols étudiés sont les mêmes que

11. Ces résultats n'ont pas été publiés car étant la propriété de la société Janssen et Janssen.

ceux présentés précédemment lors de la détermination des constantes d'acidité (Tableau 2.2, page 22). Les cyclodextrines étudiées correspondent quant à elles aux trois cyclodextrines natives ( $\alpha$ ,  $\beta$  et  $\gamma$ -CD), aux trois cyclodextrines 2-hydroxypropylées (HP- $\alpha$ ,  $\beta$  et  $\gamma$ -CD) ainsi qu'à la cyclodextrine triméthylée (TM- $\beta$ -CD), ce qui conduit à pas moins de 35 complexes Binols-CD. Pour déterminer ces 35 constantes de complexation, nous avons donc suivi les variations des mobilités électrophorétiques propres de chaque binol en fonction de la concentration en cyclodextrine dans la veine liquide et ceci à pH 11,5, pH optimal pour l'énantioséparation par EC du binol et de ces dérivés étudiés au moyen de CD. Les complexes formés sont tous des complexes de type 1 :1. Par traitements mathématiques (linéaires et non linéaires) des courbes obtenues ( $\mu_{eff} = f([CD])$ ) nous avons pu déduire toutes les constantes de complexation.

*Ces travaux sont rapportés, à la fin de ce mémoire, au travers de la publication :*  
- *Enantioseparation of binaphthol and its mono derivatives by CD-CZE : Mathematical approach. Mofaddel N., Krajian H., Villemin D., Desbène PL., Acceptée à Talanta, décembre 2008. DOI : 10.1016/j.talanta.2008.12.027.*

## 2.4 Concept d'électrolytes « tout-en-un » pour l'analyse de cations

Dans une approche totalement différente des travaux précédents et ayant l'opportunité d'avoir accès, grâce à l'Équipe du Pr. D. Villemin, à des liquides ioniques tout à fait originaux, présentés sur la figure 7, nous avons étudié les potentialités de ces liquides ioniques (LIs) comme électrolytes de séparation en électrophorèse capillaire.



FIGURE 7 – Liquides Ioniques originaux :

- a) 2-hydroxy-N,N,N-triméthyléthylammonium (choline),  $X^- = Cl^-, PF_6^-$  ou  $NTf_2^-$  ;  
 b) 2-hydroxy-N,N,N-triméthyl-1-phényléthylammonium bis(trifluorométhylsulfonyle)imide (phénylcholine  $NTf_2^-$ )

Après avoir réalisé un travail bibliographique de synthèse des différents travaux faisant appel, durant la dernière décennie aux liquides ioniques, qualifiés couramment aujourd'hui de "solvants verts" (synthèse bibliographique qui fera l'objet d'un article de revue dans Spectra Analyse prochainement) nous avons décidé d'utiliser ces LIs originaux comme électrolytes de séparation en EC en vue de la séparation classique de cations inorganiques alcalins et alcalino-terreux, les liquides ioniques assurant au final les fonctions d'électrolyte, de chromophore générant le signal de fond, indispensable pour une détection U.V. indirecte, et de réactifs de paires d'ions d'où le concept du « tout-en-un ».

Ces travaux entraient dans le cadre de la Thèse du Dr. H. Krajian. Nous avons étudié la séparation de 8 cations inorganiques ( $Li^+$ ,  $K^+$ ,  $Na^+$ ,  $Cs^+$ ,  $Mg^{2+}$ ,  $Ba^{2+}$  et  $Sr^{2+}$ ), séparation déjà réalisées de multiples fois en EC, avec l'objectif non seulement de faire aussi bien si ce n'est mieux du point de vue efficacité et sensibilité de détection que les travaux antérieurs, mais également de simplifier le milieu électrophorétique comme rapporté ci-dessus. En ce qui concerne la séparation des cations inorganiques, l'avantage que présente



le LI, phénylcholine  $NTf_2$  retenu au final, est qu'il assure plusieurs fonctions : celle d'électrolyte classique mais également celle d'agent autorisant à la fois la séparation des solutés, en les complexant (formation de paires d'ions plus ou moins intimes), et leur détection en détection U.V. indirecte.

Après une étude préliminaire sur les propriétés attendues du LI pour réussir une telle séparation (structure du liquide ionique et du contre-ion associé) et des conditions opératoires (essentiellement la modification chimique de la paroi interne du capillaire), nous avons réalisé la séparation non seulement en milieu aqueux de ces 8 cations alcalins et alcalino-terreux, mais également en milieu non aqueux pour lequel nous avons pu observé une différence de sélectivité par rapport à celle obtenue en milieu aqueux. La séparation obtenue en moins de 3 minutes en milieu aqueux (en moins de 4 minutes en milieu non aqueux), a montré de bonnes efficacités (510 000 plateaux/mètre pour le lithium) et des limites de détection du même ordre de grandeurs que celles publiées (de l'ordre de 1 ppm pour le césium et 28 ppb pour le lithium). Un exemple de séparation obtenue est présenté sur la figure 8 page suivante.

Ainsi il apparait intéressant d'utiliser ce liquide ionique compte tenu de la simplicité au niveau de la composition de l'électrolyte de séparation, ce qui constitue un avantage non négligeable compte tenu des bonnes reproductibilités obtenues et de la justesse de cette approche, appréhendée au travers de l'analyse de différentes eaux de source et eaux minérales.

*Les résultats de cette étude sont rapportés, à la fin de ce mémoire, au travers de la publication :*

*- New Ionic Liquid For Inorganic Cations Analysis By Capillary Electrophoresis : 2-Hydroxy-N,N,N-Trimethyl-1-Phenylethanaminium Bis(Trifluoromethylsulfonyl) Imide (Phenylcholine  $NTf_2$ ). **Mofaddel N.**, Krajian H., Villemin D., Desbène P.L., Acceptée à Analytical and Bioanalytical Chemistry, décembre 2008. DOI : 10.1007/ s00216-008-2582-y*

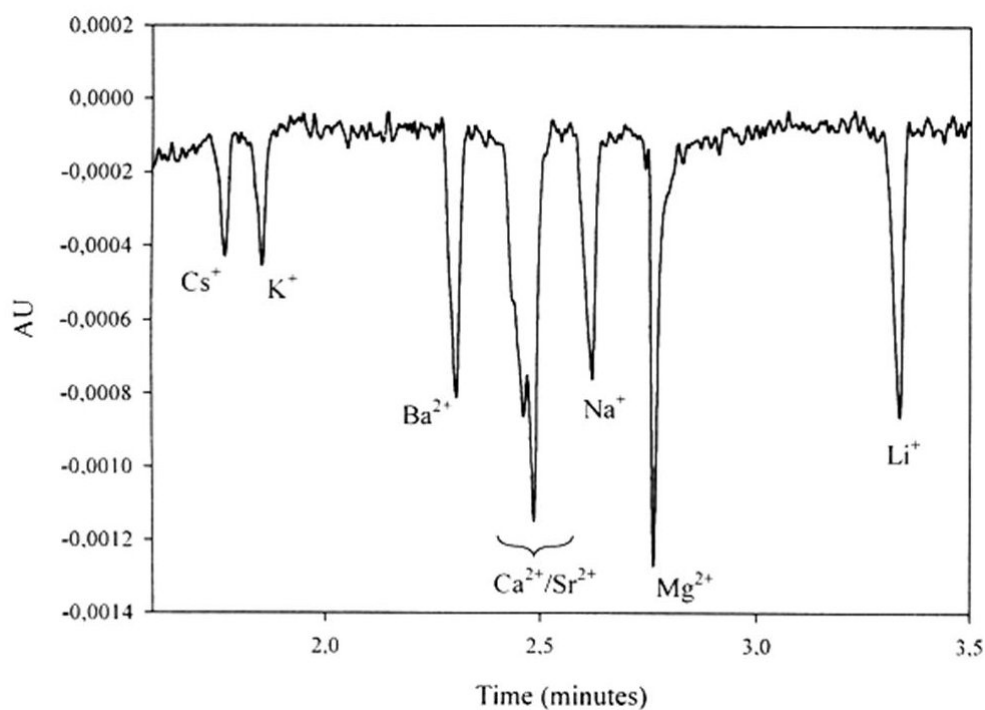


FIGURE 8 – Séparation de cations alcalins et alcalino-terreux en présence de phénylcholine  $NTf_2^-$ . Conditions opératoires : capillaire de silice recouverte de PVA 47 cm (longueur effective : 40 cm)  $\times$  50  $\mu$ m d.i. ; électrolyte de séparation : phénylcholine  $NTf_2^-$  20 mM, pH = 5,8 ; détection à 214 nm ; [cations] =  $10^{-4}$  mol/L ; température : 25°C ; tension appliquée : 25 kV.

## 2.5 Modélisation de comportements électrocinétiques

Depuis mon arrivée au laboratoire, parallèlement à l'expérimentation, j'ai toujours prisé l'approche théorique en essayant de faire un lien entre les résultats expérimentaux et la rationalisation des comportements électrophorétiques au moyen de chemins théoriques ou bien utiliser ceux-ci ou des démarches chimométriques en vue d'une meilleure optimisation de l'expérimentation. Ainsi il m'a été donné la possibilité de faire de la modélisation.

Je me suis donc initiée d'une part à la modélisation moléculaire afin de tenter d'apporter une rationalisation aux phénomènes observés en électrophorèse capillaire, tels que l'énantioséparation ou la complexation, et d'autre part à la chimométrie par l'intermédiaire des plans d'expériences. J'exposerai donc dans la suite de ce mémoire les travaux effectués dans ce contexte et qui complètent nombres des résultats expérimentaux déjà présentés précédemment dans ce manuscrit.

### 2.5.1 Modélisation Moléculaire

La modélisation moléculaire a pour but de prévoir la structure et la réactivité des molécules ou des systèmes moléculaires. Les méthodes de la modélisation moléculaire peuvent être rangées en trois catégories :

1. Les méthodes quantiques : ces méthodes sont basées sur le calcul des orbitales moléculaires (OM). Leur complexité augmente rapidement avec le nombre d'électrons.

Les principales variantes sont :

- La méthode de Hückel étendue : c'est la plus simple de toutes. Elle ne prend en compte que les électrons de la couche de valence et utilise des approximations assez draconiennes. Malgré cela, elle permet d'interpréter une grande part de la réactivité chimique.
- Les méthodes de champ auto-cohérent (SCF, Self Consistent Field) : Ces méthodes prennent en compte l'ensemble des électrons et reposent sur des calculs plus élaborés que la méthode de Hückel étendue. On distingue trois variantes, suivant la manière dont les termes d'énergie électroniques sont calculés : les méthodes "ab initio" (tous les termes énergétiques sont calculés, les temps de calcul étant alors très longs), les méthodes semi-empiriques (les termes énergétiques les plus dif-

ficiles à calculer sont estimés à partir de données expérimentales, les temps de calcul sont ainsi considérablement raccourcis, mais la méthode est tributaire des composés qui ont servi à l'étalonner.) enfin les méthodes basées sur la fonctionnelle de la densité (DFT, Density Functional Theory. Ces méthodes utilisent quant à elles une expression de l'énergie électronique  $E$  en fonction de la densité électronique  $\rho$ , elle-même fonction de la position  $r$  de l'électron :  $E = f[\rho(r)]$ . L'énergie est donc une fonction de fonction, c'est-à-dire une fonctionnelle, de  $r$ ). Cette approche théorique a été récemment mise en oeuvre, en collaboration avec le Pr. G. Dupas (Université d Rouen), pour rationaliser certains comportements électrophorétiques que nous avons observés.

2. La mécanique moléculaire : cette technique calcule l'énergie des atomes (et non plus des électrons) au moyen d'approximations semi-classiques. La simplification considérable des calculs, qui en résulte, permet de travailler sur des molécules de grande taille, telles que les macromolécules biologiques (protéines, acides nucléiques), ou sur des systèmes comportant un grand nombre de molécules. C'est ce type de modélisation que j'ai utilisé dans mes différents travaux mettant en jeu des molécules de cyclodextrines entre autres.
  3. La dynamique moléculaire : cette technique a pour but de calculer les mouvements des molécules, le plus souvent à partir des énergies de la mécanique moléculaire, en appliquant les lois de la mécanique classique. Elle permet ainsi de simuler l'évolution des systèmes dans le temps.
- Énantioséparation en EC des acides aminés par formation de complexes avec les cyclodextrines (CD-CZE).

Je me suis intéressée à la modélisation moléculaire tout d'abord au travers des travaux de Thèse du Dr. A. Aït Adoubel. Par l'intermédiaire du Centre de Ressources Informatiques de Haute Normandie (CRIHAN, Saint-Etienne du Rouvray, 76), j'ai à ma disposition, pour réaliser ces modélisations, deux logiciels : MS Modeling (Accelrys Inc., San Diego, USA) et Sybyl (version 6.9) (Tripos Inc., Saint-Louis, USA) qui fonctionnait initialement sur une station de travail Silicon Graphics  $O_2$ , mais qui à présent fonctionne, sous Linux, sur un ordinateur classique. Les calculs se font,

grâce au réseau informatique, sur un serveur situé au CRIHAN.

Dans le cadre de son travail sur l'énantioséparation en électrophorèse capillaire d'une série d'acides aminés aliphatiques, aromatiques et soufrés, non dérivés, par l'intermédiaire de cyclodextrines neutres ou anioniques, nous avons tenté de rationaliser, par modélisation moléculaire, les phénomènes observés.

Après avoir modélisé les différents complexes étudiés en EC (un exemple est donné à la figure 9), nous avons déterminé les énergies de formation des complexes diastéréoisomériques entre les différents énantiomères de ces acides aminés et les 3 cyclodextrines natives ( $\alpha$ ,  $\beta$  et  $\gamma$ -CD) utilisées.

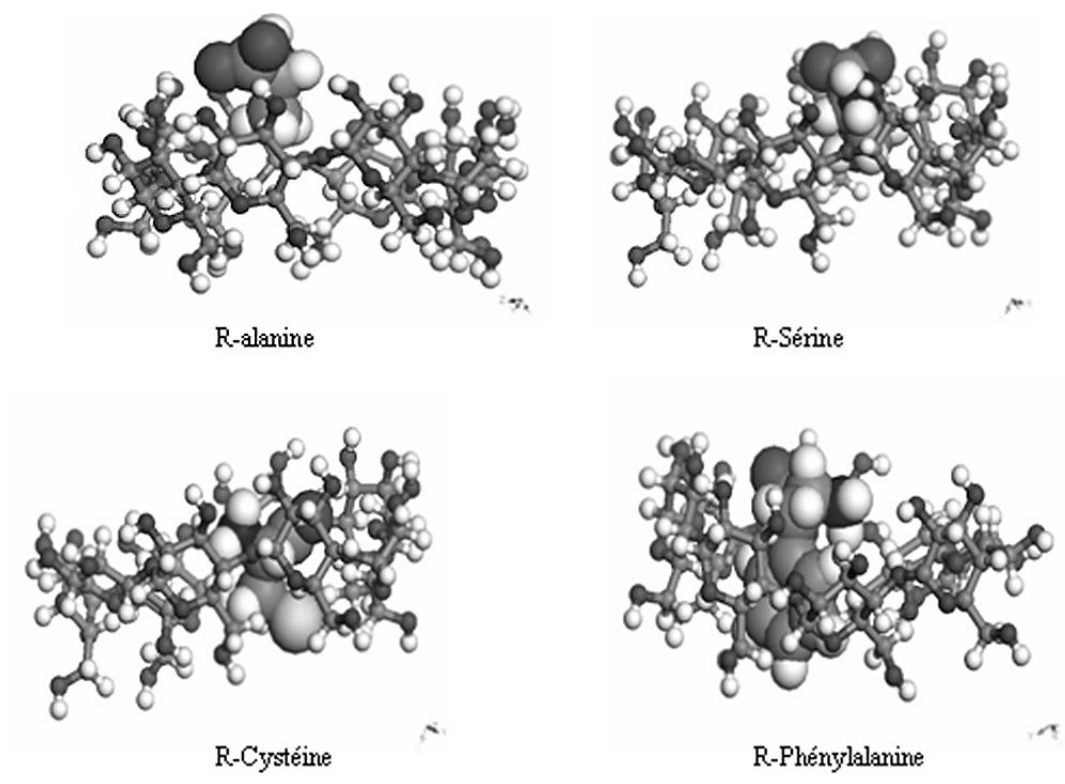


FIGURE 9 – Structures obtenues, suite à une simulation en mécanique moléculaire, pour les complexes entre 4 acides aminés natifs et la  $\gamma$ -cyclodextrine.

Ainsi nous avons pu montrer que l'énantioséparation était effective, expérimentalement, quand la valeur de l'énergie du complexe était la plus basse possible (stabilité du complexe accrue), mais de plus nous avons montré également l'importance de la différence des énergies de formation des complexes diastéréoisomériques entre les deux énantiomères et la cyclodextrine. En effet celle-ci doit être suffisamment grande pour qu'une énantioséparation entre les deux énantiomères puisse être re-

levée. Ceci est mis en évidence suite à la comparaison des figures 10 à 12 page suivante.

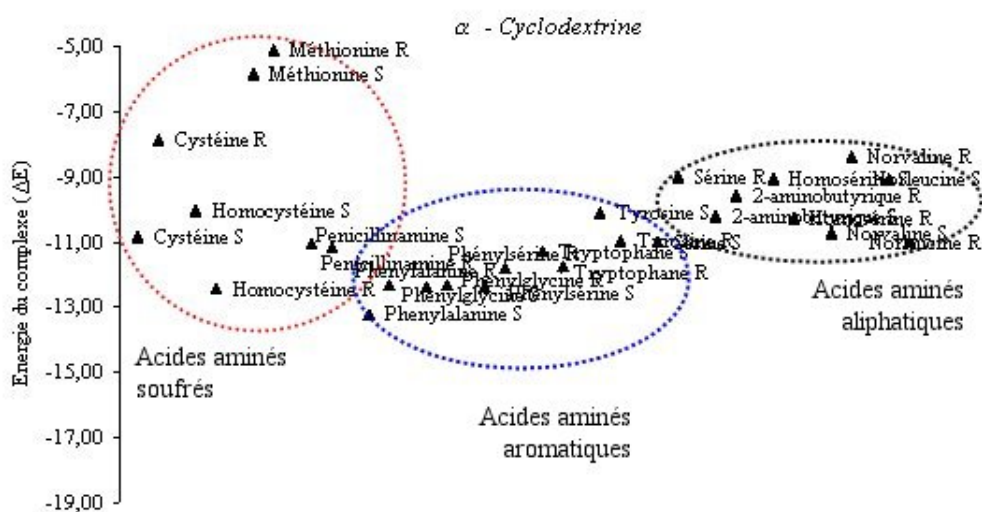


FIGURE 10 – Variations des énergies accompagnant la formation des complexes entre chaque énantiomère des acides aminés étudiés et l' $\alpha$ -cyclodextrine.

En effet suite à cette série de comparaison, nous avons pu conclure que globalement, la meilleure énantiomérisation doit être obtenue avec la  $\gamma$ -CD et les acides aminés aromatiques ou soufrés, ce qui est effectivement observé expérimentalement. Cependant toutes les observations expérimentales n'ont pu être rationalisées telles que, par exemple, les ordres de migration pour les deux énantiomères d'un même acide aminé<sup>12</sup>.

➤ Énantiomérisation des acides aminés par échange de ligand.

Les résultats alors obtenus étant prometteurs mais ne permettant pas d'explicitement toutes les observations effectuées, nous avons décidé de tenter une rationalisation au moyen de calculs ab initio portant sur la formation des complexes ternaires observés entre les acides aminés, le cuivre et le sélecteur chiral.

Par ailleurs, le Dr. A. Aït Adoubel, avait également étudiés au cours de sa thèse, les potentialités de l'Électrophorèse Capillaire par Échange de Ligand (LECE) afin de détecter et de séparer énantiomériquement des acides aminés aromatiques et aliphatiques non dérivés. La séparation des solutés et leur détection par absorption U.V. à 214 nm avaient été alors réalisées en formant des complexes diastéréoisomé-

12. Ces résultats doivent faire prochainement l'objet d'une publication.

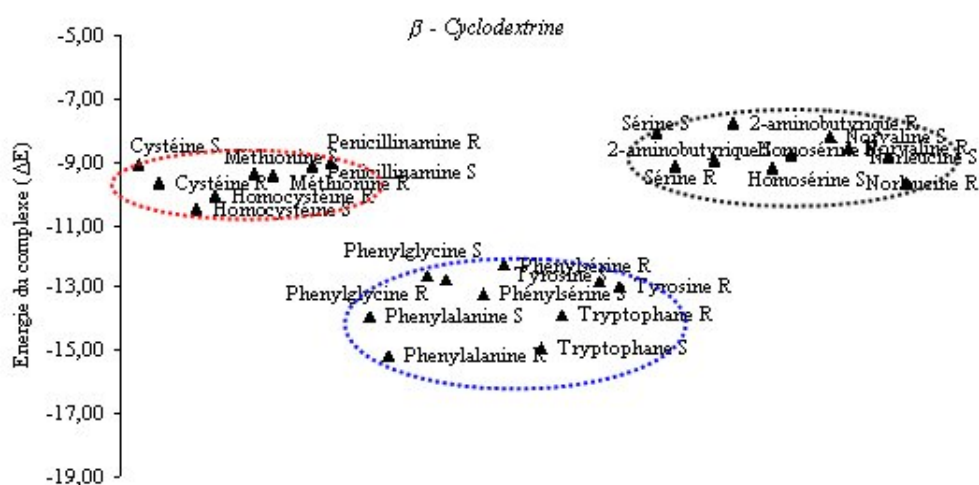


FIGURE 11 – Variations des énergies accompagnant la formation des complexes entre chaque énantiomère des acides aminés étudiés et la  $\beta$ -cyclodextrine. (Les cercles ou ellipses correspondent aux familles d'acides aminés telles que définies en figure 10.)

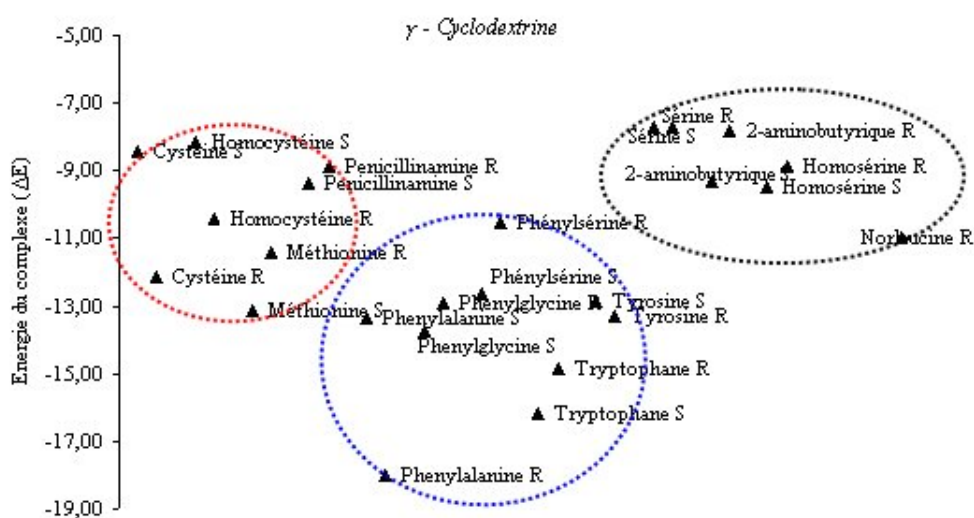


FIGURE 12 – Variations des énergies accompagnant la formation des complexes entre chaque énantiomère des acides aminés étudiés et la  $\gamma$ -cyclodextrine. (Les cercles ou ellipses correspondent aux familles d'acides aminés telles que définies en figure 10.)

riques ternaires dans le capillaire de séparation. Ces complexes impliquaient l'ion cuivrique, un sélecteur chiral (à savoir la L-Proline ou la *trans*-4-Hydroxy-L-Proline) et un énantiomère de l'acide aminé analysé.

Dans un premier temps, une tentative de rationalisation des comportements électrophorétiques a été réalisée en modélisation moléculaire, comme précédemment avec les cyclodextrine. Les calculs ont été réalisés, avec l'aide du Pr. G. Dupas (Université de Rouen) sur les systèmes L-Proline/DL-Alanine ou DL-tyrosine/Cu(II). Après optimisation en employant la théorie de la fonctionnelle de la densité (DFT), nous avons obtenu des complexes planaires carrés compatibles avec ceux déjà décrits dans la littérature. De plus, afin de prendre en considération la présence du milieu aqueux, utilisé en électrophorèse capillaire, et parce que le cuivre (II) peut être coordonné par six ligands, il nous a semblé intéressant de prendre en considération la présence de deux molécules d'eau. Ainsi, deux molécules d'eau ont été introduites en positions apicales dans les complexes étudiés. Une représentation du complexe avec l'énantiomère L de l'alanine est rapportée à la figure 13.

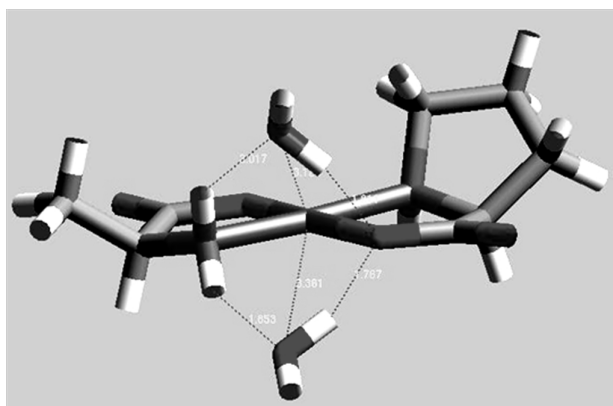


FIGURE 13 – Représentation du complexe ternaire (L-Proline)Cu(II)(L-Alanine) obtenue par modélisation moléculaire "ab initio".

Utilisant ce modèle, les complexes impliquant les énantiomères de l'alanine et de la tyrosine ont été alors étudiés. Ces deux paires d'énantiomères ont été choisies sur la base des séparations préliminaires effectuées dans LECE. En effet, la séparation des énantiomères de la tyrosine était satisfaisante en employant, par exemple, la *trans*-4-Hydroxy-L-Proline comme sélecteur chiral, alors qu'au contraire, celle des énantiomères de l'alanine n'avait pas pu être obtenue quel que soit le sélecteur chiral utilisé dans l'électrolyte de séparation (L-Proline ou *trans*-4-Hydroxy-L-Proline).



L'énergie des complexes ternaires a donc été calculée pour chaque paire d'énantiomère en présence de deux molécules d'eau situées dans la position apicale. En fait l'énergie des complexes formés avec les D-énantiomères des acides aminés étudiés est apparue plus grande que celle obtenue pour les L-énantiomères. Par conséquent, les complexes impliquant les D-énantiomères pour les deux acides aminés étudiés semblent moins stables que ceux formés avec les L-énantiomères. Un tel constat s'avère totalement compatible avec les valeurs des constantes de formation des complexes déterminées expérimentalement au cours de la Thèse du Dr. A. Aït Adoubel.

Par ailleurs pour une paire donnée d'énantiomères, les différences d'énergie calculées sont presque les mêmes pour chacun des deux sélecteurs chiraux testés. Enfin ces résultats ont permis de mettre en évidence des différences significatives d'énergie pour les deux complexes ternaires correspondant aux deux énantiomères de la tyrosine, alors qu'au contraire, ces différences d'énergie étaient voisines de zéro pour les complexes formés avec les deux énantiomères de l'alanine. Cette observation permet alors la rationalisation des comportements observés au plan de l'énantio-séparation relevée en LECE pour les racémiques de l'alanine et de la tyrosine.

De nouveau, la modélisation moléculaire montre, à travers ce travail, ses potentialités importantes, en vue de rationaliser les phénomènes observés expérimentalement.

- Complexation de cations inorganiques monovalents au moyen d'acides phosphoniques.

Ces travaux, effectués dans le cadre de la Thèse de Mr. M. Carli, encadrée par le Dr. C. Morin, visaient à étudier les propriétés complexantes d'acides phosphoniques et à évaluer leur intérêt pour la séparation et la visualisation de cations inorganiques en Électrophorèse Capillaire.

Les acides phosphoniques étudiés sont représentés sur la figure 14 page suivante. Malgré des propriétés complexantes reconnues, ces acides phosphoniques n'avaient quasiment pas été utilisés à des fins séparatives.

Les acides benzyl phosphonique (BzP), *meta* et *paraxylène* diphosponiques (*m* et *p*-XDP) et mésitylène triphosponique (MTP) ont tout d'abord été synthétisés par

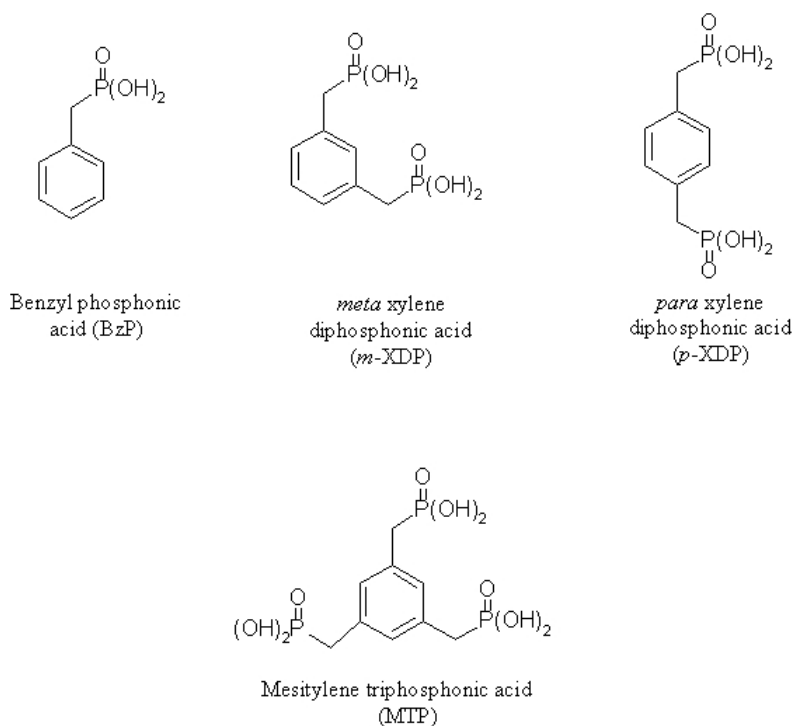


FIGURE 14 – Acides phosphoniques étudiés

l'Équipe du Pr. D. Villemin (Université de Caen). Ensuite leur sélectivité thermodynamique de complexation, vis-à-vis des cations potassium et ammonium, a été évaluée par Électrophorèse Capillaire, à pH 7. À ce pH, les cations ammonium et potassium possèdent, en milieu aqueux, quasiment la même mobilité électrophorétique à l'état libre et ne peuvent donc être séparés que s'ils sont complexés sélectivement. En réalité l'acide phosphonique étudié constituait, à lui seul, l'électrolyte de séparation et l'agent de visualisation des cations. À partir de l'évolution des mobilités des cations analysés en présence d'une concentration croissante en complexant, il a été montré que l'acide mésitylène triphosphonique (MTP) était le plus sélectif vis-à-vis de la complexation des cations ammonium et potassium. Nous avons pu confirmer ces résultats par mécanique moléculaire. En effet en déterminant les énergies d'interactions mises en jeu entre chacun des deux cations et les quatre agents complexants, pour lesquels nous avons attribué la charge de -1 ou -2 (charges possibles selon le pH), et en calculant les différences d'énergie pour chaque couple, nous avons pu corroborer les résultats de l'expérimentation, à savoir le MTP est bien le meilleur complexant pour les deux cations étudiés.

Ces travaux sont rapportés, à la fin de ce mémoire, au travers des publications :

- *Enantioseparation of underivatized amino acids by ligand exchange capillary electrophoresis in a counter-electroosmotic mode.* Ait Adoubel A., Morin C.J, **Mofaddel N.**, Dupas G., Desbene P.L., *Acceptée à Analytical and Bioanalytical Chemistry*, décembre 2008.

- *Determination of complexation selectivity of aromatic phosphonic acids by ammonium and potassium cations using CE.* Morin C.J., Carli M., **Mofaddel N.**, Al Rifai R., Jaffres P.A., Villemain D., Desbène P.L., *Chromatographia*, 62, 139-143, 2005.

### **2.5.2 Rationalisation de l'inversion des ordres de migration des énantiomères du binaphtol et de son dérivé dibromé en fonction du pH et de la concentration en cyclodextrines.**

Lors de l'étude de l'énantioséparation du binaphtol et de ses dérivés en présence de cyclodextrines, travaux effectués dans le cadre de la thèse du Dr. H. Krajian et mentionnés précédemment dans ce mémoire (paragraphe 2.3.3), nous avons pu observer, expérimentalement, une inversion des ordres de migration entre les deux énantiomères non seulement en fonction du pH de l'électrolyte de séparation mais également en fonction de la concentration en cyclodextrine : - d'une part dans le cas du couple binaphtol/ $\gamma$ -CD, - et d'autre part dans le cas des couples dérivé dibromé du binaphtol/TM- $\beta$ -CD ou DM- $\beta$ -CD.

Nous avons alors tenté de rationaliser ce phénomène d'inversion en proposant un modèle mathématique permettant d'expliquer l'inversion observée mais également d'évaluer les constantes de complexation apparentes.

En partant de modèles déjà décrits dans la littérature<sup>13</sup> pour des monoacides et en les adaptant à notre cas d'étude (diacides) afin de l'appliquer aux binols, nous sommes parvenus à modéliser l'évolution de la mobilité électrophorétique des diverses paires d'énantiomères de binols étudiés en fonction soit du pH soit de la concentration en cyclodextrine. Un exemple de modélisation est donné à la figure 15 page suivante ainsi que les électrophorogrammes correspondant à trois des concentrations en  $\gamma$ -CD sur la figure 16 page suivante.

De même à l'aide de la même approche de modélisation, nous avons pu également rationaliser l'inversion de l'ordre de migration des énantiomères du dérivé dibromé du binol observée tant en fonction du pH que de la concentration en heptakis-2,3,6-tri-O-méthyl- $\beta$ -cyclodextrine (TM- $\beta$ -CD) ou en heptakis-2,6-di-O-méthyl- $\beta$ -cyclodextrine (DM- $\beta$ -CD).

13. Lelièvre F, Gareil P, Bahaddi Y, Galons H., *Intrinsic Selectivity in Capillary Electrophoresis for Chiral Separations with Dual Cyclodextrin Systems.* *Analytical Chemistry*, 69, 393-401, 1997.

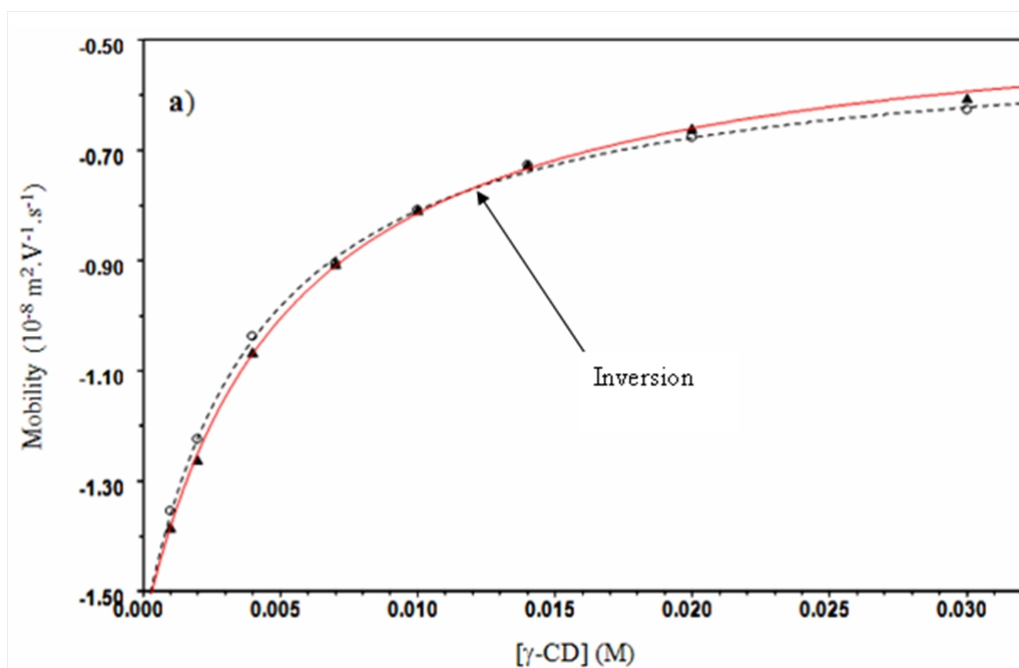


FIGURE 15 – Variation de la mobilité électrophorétique des énantiomères du binaphtol en fonction de la concentration en  $\gamma$ -CD. Énantiomère S : ligne en pointillé ; Énantiomère R : ligne pleine.

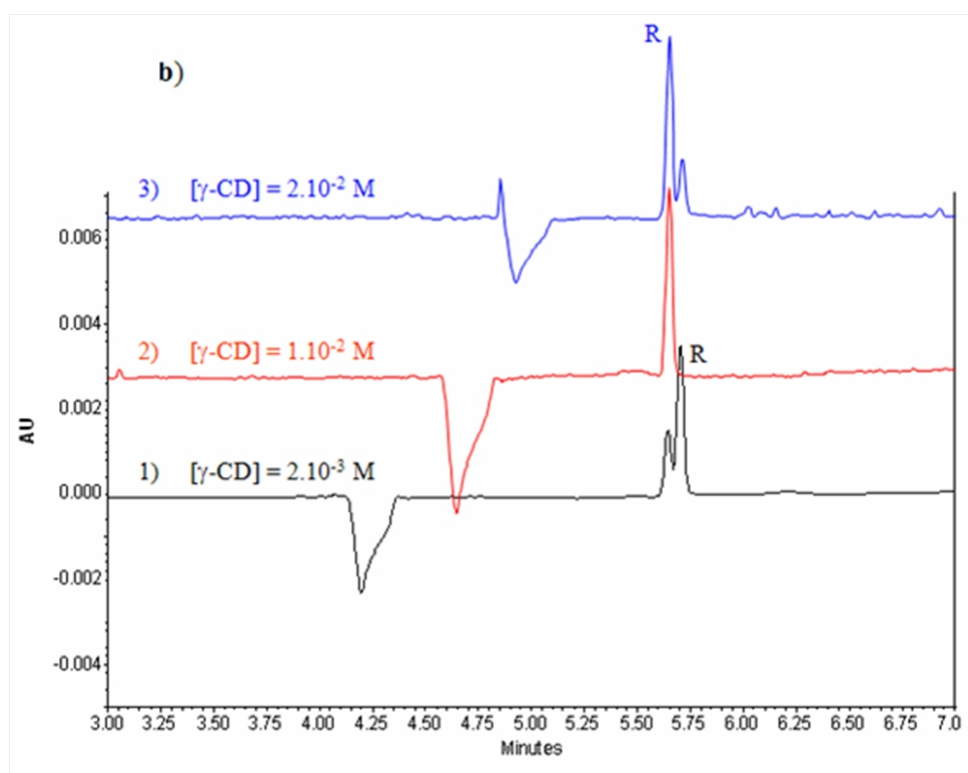


FIGURE 16 – Énantioséparation du racémique du binaphtol à différentes concentrations en  $\gamma$ -CD. Conditions opératoires : capillaire en silice fondue vierge 40,2 cm (longueur effective : 30 cm)  $\times$  50  $\mu$ m d.i. ; électrolyte de séparation : phosphate 80 mM, pH = 10,8, avec une concentration variable en  $\gamma$ -CD ; [Binaphtol] =  $10^{-3}$  mol/L surchargé en énantiomère R ; détection à 214 nm ; tension appliquée : 10 kV ; température : 20°C.

Étant en mesure d'évaluer, grâce à ces approches théoriques, tant les constantes de complexation apparentes pour les énantiomères R et S du binaphtol ou de son dérivé dibromé que les mobilités électrophorétiques des complexes formés, il est alors possible de rationaliser simplement les comportements électrophorétiques observés. Ainsi à faibles concentrations en CD, ce sont les constantes de complexation qui régissent l'ordre d'élution. En revanche à fortes concentrations en CD, les énantiomères du binol ou de son dérivé dibromé étant totalement complexés par les CDs, c'est très logiquement les mobilités électrophorétiques des complexes CD-énantiomère R ou S qui régissent l'ordre de migration.

*Ces travaux sont rapportés, à la fin de ce mémoire, au travers des publications :*

*- Enantioseparation of binaphthol and its mono derivatives by CD-CZE : Mathematical approach. **Mofaddel N.**, Krajian H., Villemin D., Desbène P.L., Acceptée à Talanta, décembre 2008.*

*DOI : 10.1016/j.talanta.2008.12.027.*

*- A new example of reversal of enantiomers migration order as a function of the cyclodextrin concentration and pH, in CD-CZE enantioseparation of 6,6'-dibromo-1,1'-binaphthyl-2,2'-diol. Krajian H., **Mofaddel N.**, Villemin D., Desbène P.L., Soumise à Analytica Chimica Acta, février 2009.*

### 2.5.3 Chimiométrie

Le terme "chimiométrie" vient de l'anglais "chemometrics", jeune discipline associant initialement analyse de données et chimie analytique. Aujourd'hui, il recouvre l'ensemble des applications de la chimie, de la physique, des sciences de la vie, de l'économie, de la sociologie, des méthodes statistiques et de l'informatique.

La chimiométrie peut être définie comme l'ensemble des méthodes statistiques, graphiques ou symboliques permettant d'améliorer la compréhension d'informations obtenues en particuliers dans le domaine de la chimie. La chimiométrie s'applique à toutes les étapes de l'analyse, depuis la première conception de l'expérience jusqu'à ce que les données soient complètement exploitées. Elle inclut donc dans ses objectifs la conception des plans expérimentaux.

De façon générale la chimiométrie est un outil utilisé afin d'extraire de l'information pertinente et utile à partir de données physicochimiques mesurées ou connues brutes. Elle est basée sur la construction, puis l'exploitation d'un modèle de comportement à l'aide d'outils statistiques. Elle est particulièrement bien adaptée pour traiter des systèmes complexes et donc généralement multivariés.

Le logiciel dont je dispose afin de réaliser ces études chimiométriques est le logiciel

JMP, version 5.1 (SAS Institute, Cary, USA).

- Les plans d'expériences et la détection fluorimétrique Laser indirecte en électrophorèse capillaire.

Dans une première étude et afin de mieux appréhender la technique des plans d'expériences, nous avons réalisé une étude des paramètres influents (parfaitement connus par ailleurs!) lors d'une analyse par électrophorèse capillaire d'un mélange de 3 acides carboxyliques linéaires (de  $C_{10}$  à  $C_{12}$ ), en détection fluorimétrique induite par laser. Ainsi nous avons pu appréhender l'apport d'une étude par plans d'expériences vis à vis d'une approche univariée classique. En étudiant l'effet des paramètres classiques en électrophorèse capillaire (tension de séparation, force ionique de l'électrolyte, concentration en fluorescéine (agent de visualisation générant le signal de fond), pourcentage de cosolvant et température) sur 3 réponses (temps de migration, résolution et sensibilité de détection), par l'intermédiaire d'un plan factoriel complet à 5 facteurs, nous avons non seulement retrouvé les facteurs les plus influents sur chacune des réponses, ce qui ne présente dans l'absolu pas un grand intérêt, mais également l'effet de leurs interactions d'ordre 1, ce qui est beaucoup plus difficile à appréhender et à quantifier. A titre d'exemple, il a pu être montré que sur les temps de migration, à part la concentration en fluorescéine qui n'a aucune influence, tous les autres paramètres ont une influence significative ainsi que leurs interactions du premier ordre. Ainsi les interactions "tension\*température" et "tension\*tension" ont des effets négatifs sur les temps de migration dans la zone supérieure (facteurs au niveau le plus élevé) du domaine d'étude. Enfin grâce aux modèles mathématiques trouvés pour chacune des réponses, il a été possible de les modéliser et ainsi faire une prédiction de la zone optimale de travail selon les valeurs de réponse désirées<sup>14</sup>.

Ces résultats très positifs nous ont encouragés dans notre démarche d'utiliser la chimométrie et, tout particulièrement, les plans d'expériences lors de la réalisation d'études en EC ou pour d'autres techniques analytiques dont le nombre de paramètres à étudier, et donc à optimiser, est important.

---

14. Ces résultats n'ont pas été publiés car ils ont été développés pour vérifier la justesse de l'optimisation réalisée précédemment par une approche univariée (Desbène A.M., Morin C.J., Mofaddel N., Groult R., *Utilization of fluorescein sodium salt in laser-induced indirect fluorimetric detection II. Application to organic anions. Journal of Chromatography A*, 716, Issues 1-2, 279-290, 1995.) et pour permettre de tester mes compétences en chimiométrie.

- Les plans d'expériences et le couplage Électrophorèse Capillaire/Spectrométrie de Masse (CE/MS).

C'est ainsi que tout naturellement, dans le cadre de la Thèse du Dr. L. Geulin, co-encadrée par le Dr. C. Morin, mettant en oeuvre l'un des tous premiers couplages CE/MS, nous avons de nouveau mis en place un plan d'expériences. Cette thèse portait sur l'analyse de tensioactifs non ioniques de type polyoxyéthyléniques condensés sur un alcool gras qui donc ne renfermaient ni chromophore, ni fluorophore. Afin d'éviter toute dérivation, il avait été décidé de les détecter directement par spectrométrie de masse en sortie du capillaire après leur analyse réalisée en électrophorèse capillaire en milieu non aqueux (NACE). Dans le cadre du couplage CE/MS, il avait été montré que le liquide d'appoint et le gaz de nébulisation pouvaient induire des phénomènes d'aspiration au sein du capillaire de séparation. Nous avons donc étudié l'influence des paramètres intrinsèques au couplage CE/MS sur la performance et la sensibilité de détection en nous basant sur une séparation modèle réalisée en CZE sur un mélange de parahydroxybenzoates de méthyle et d'éthyle.

Nous avons tout d'abord réalisé un plan à deux facteurs afin de vérifier l'importance d'une part du débit du liquide d'appoint et d'autre part de la différence de hauteur entre la sortie et l'entrée du capillaire de séparation ( $\Delta h_{E-S}$ ) sur le volume d'échantillon injecté ( $V_{inj}$ ). Nous avons pu montrer, grâce à ce plan, que seule la différence de hauteur avait une influence significative sur le volume de l'échantillon et nous avons modéliser cette influence sous forme :

$$V_{inj} = 1,929 + 0,055\Delta h_{E-S}.$$

Ce premier résultat nous a alors permis d'envisager, dans un deuxième temps, un plan d'expériences (plan factoriel complet de précision uniforme) mais cette fois-ci en étudiant 4 facteurs pouvant avoir un effet sur la performance et la sensibilité de détection, à savoir :

- la position du capillaire de séparation à l'extrémité de l'aiguille de nébulisation,
- le débit du liquide d'appoint,
- la pression du gaz de nébulisation,
- la tension appliquée pour l'ionisation par électrospray et le transfert des ions.

Nous avons étudié l'influence de ces paramètres non seulement sur l'efficacité et le rapport Signal/Bruit (S/B) obtenus par spectrométrie de masse, mais également

sur le temps de migration des solutés. Après le traitement des résultats expérimentaux avec le logiciel JMP, il est alors apparu que le positionnement de l'extrémité du capillaire de séparation à l'extrémité de l'aiguille de nébulisation était absolument crucial en terme de sensibilité de détection, du fait de son influence sur la formation du cône de Taylor. Ainsi une variation de ce positionnement de 0,04 mm entraînait une variation de 5% du rapport Signal/Bruit. De plus, nous avons démontré que le phénomène d'aspiration, responsable de la déformation de la bande échantillon, était principalement lié à la pression du gaz de nébulisation alors que le débit du liquide d'appoint n'avait quasiment aucune influence sur les temps de migration ou encore sur l'efficacité. Il convient de noter que la dégradation de l'efficacité résultant de l'effet d'aspiration, qui est donc lié à la pression du gaz de nébulisation, est très dépendante du positionnement du capillaire de séparation dans l'aiguille de nébulisation. Un exemple des représentations obtenues est donné au travers des figures 17 et 18 page suivante.

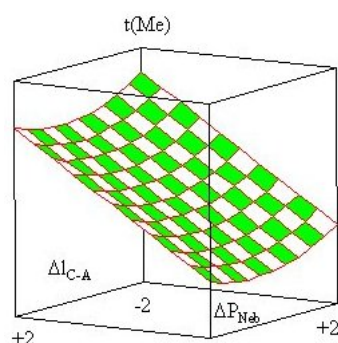


FIGURE 17 – Évolution du temps de migration du parahydroxybenzoate de méthyle ( $t(\text{Me})$ ) en fonction de la pression du gaz de nébulisation ( $\Delta P_{\text{Neb}}$ ) et du positionnement du capillaire de séparation dans l'aiguille de nébulisation ( $\Delta l_{\text{C-A}}$ ), les coordonnées  $x$  et  $y$  étant données en coordonnées réduites (sans dimension).

Une fois les paramètres influents et leurs interactions déterminés, ainsi que l'évolution de chacune des réponses modélisée, nous nous sommes attachés à trouver les conditions optimales pour chacun des paramètres afin d'obtenir la meilleure sensibilité de détection (un rapport S/B au moins égal à 30) et la meilleure efficacité (au minimum 130000 plateaux théoriques/mètre, en moins de 7 minutes). Ceci a été possible en superposant les courbes d'isoréponse obtenues pour chacun des facteurs influents. À la vue des résultats (un exemple est rapporté sur la figure 19), il



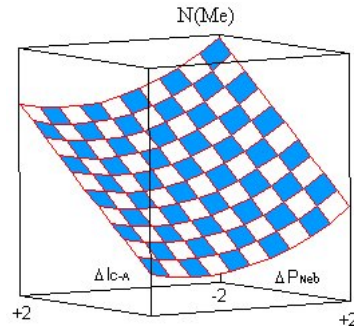


FIGURE 18 – Évolution de l'efficacité en fonction de la pression du gaz de nébulisation ( $\Delta P_{Neb}$ ) et du positionnement du capillaire de séparation dans l'aiguille de nébulisation ( $\Delta l_{C-A}$ ), les coordonnées x et y étant données en coordonnées réduites (sans dimension).

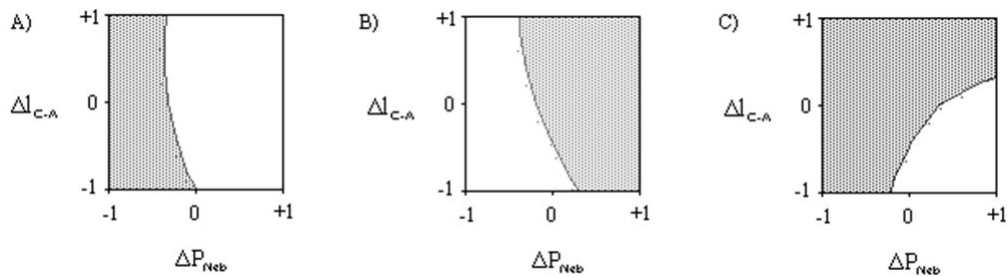


FIGURE 19 – Courbes d'isoresponse correspondant aux limites acceptables pour chacune des réponses étudiées en fonction des paramètres influents  $\Delta l_{C-A}$  (positionnement du capillaire par rapport à l'extrémité de l'aiguille de nébulisation) et  $\Delta P_{Neb}$  (pression du gaz de nébulisation), les coordonnées x et y étant toujours rapportées en coordonnées réduites (sans dimension).

A) Zone blanche :  $t \leq 7$  minutes.

B) Zone blanche :  $N \geq 130000$  plateaux théoriques/mètre.

C) Zone blanche :  $S/B \geq 30$ .

a été clairement montré, comme on pouvait s'y attendre, que seul un compromis était alors possible pour obtenir une efficacité acceptable ( $N \approx 110000$  plateaux théoriques/mètre) avec une bonne sensibilité ( $S/B \approx 25$ ). Cependant un inconvénient majeur pour la zone d'expérience retenue au final, le domaine de travail étant très réduit, ces conditions opératoires se révélaient peu robustes.

Cependant grâce à cette étude nous avons pu cerner les exigences requises, en terme de précision, au niveau de chacun des dispositifs expérimentaux utilisés pour réaliser le couplage CE/MS, afin que les analyses réalisées s'avèrent le plus reproductible possible.

- Les plans d'expériences et l'énantioséparation par électrophorèse capillaire.

Lors de l'étude de l'énantioséparation par électrophorèse capillaire des binols (structures des binols étudiés présentées dans le tableau 2.2, page 22) en présence de cyclodextrines (CD-CZE) correspondant pour partie aux travaux de Thèse du Dr. H. Krajian, nous voulions voir si l'ajout de liquides ioniques chiraux dans l'électrolyte de séparation pouvait avoir un effet de synergie sur cette énantioséparation. En effet P. Gareil et al.<sup>15</sup> ont montré, dans des travaux récents portant sur l'énantioséparation d'acides 2-arylpropioniques en CD-CZE, un effet synergique (effet positif de complémentarité). Nous avons donc étudié cette énantioséparation par l'intermédiaire de plans d'expériences en faisant varier la nature et la concentration du liquide ionique chiral. Nous avons donc réalisé 3 plans d'expériences (plan factoriel complet à 2 facteurs) afin d'appréhender l'influence de la nature du liquide ionique chiral, de sa concentration et de la concentration en cyclodextrines. Les autres paramètres expérimentaux étant fixés ( $\gamma$ -CD, phosphate 80 mM, pH 11,5, 25°C, 10 kV, 214 nm), nous avons utilisé deux liquides ioniques chiraux : l'éthylcholine  $NTf_2$  (énantiomère R) et l'énantiomère S du camphorsulfonate de tétrabutylammonium (S-tb-Camphor), ainsi qu'un sel de lithium ( $LiNTf_2$ ) non chiral à titre de référence. L'énantiosélectivité obtenue est représentée sur la figure 20 page suivante. Comme le met doucement en évidence la comparaison des trois diagrammes rapportés, aucun effet des liquides ioniques chiraux utilisés n'a pu être relevé au niveau de l'énantiosélectivité dans le cas de la résolution du racémique du binaphthol, quelle que soit sa concentration, la concentration en  $\gamma$ -CD et la nature de l'ion du liquide ionique (cation ou anion) portant la chiralité.

Ces travaux sont rapportés, à la fin de ce mémoire, au travers des publications :

- Analysis of neutral surfactants by non-aqueous medium capillary electrophoresis hyphenated to mass spectrometry (ion trap). Morin C.J., Geulin L., **Mofaddel N.**, Desbene A.M., Desbene P.L., *Journal of Chromatography A*, 1198-1199, 226-231, 2008.
- Enantioseparation of binaphthol and its mono derivatives by cyclodextrin-modified capillary zone electrophoresis. **Mofaddel N.**, Krajian H., Villemin D., Desbène P.L., *Journal of Chromatography A*, 1211, 142-150, 2008.

15. François Y., Varenne A., Juillerat E., Villemin D., Gareil P., *Evaluation of chiral ionic liquids as additives to cyclodextrins for enantiomeric separations by capillary electrophoresis*. *J. Chromatogr. A*, 1155, 134-141, 2007

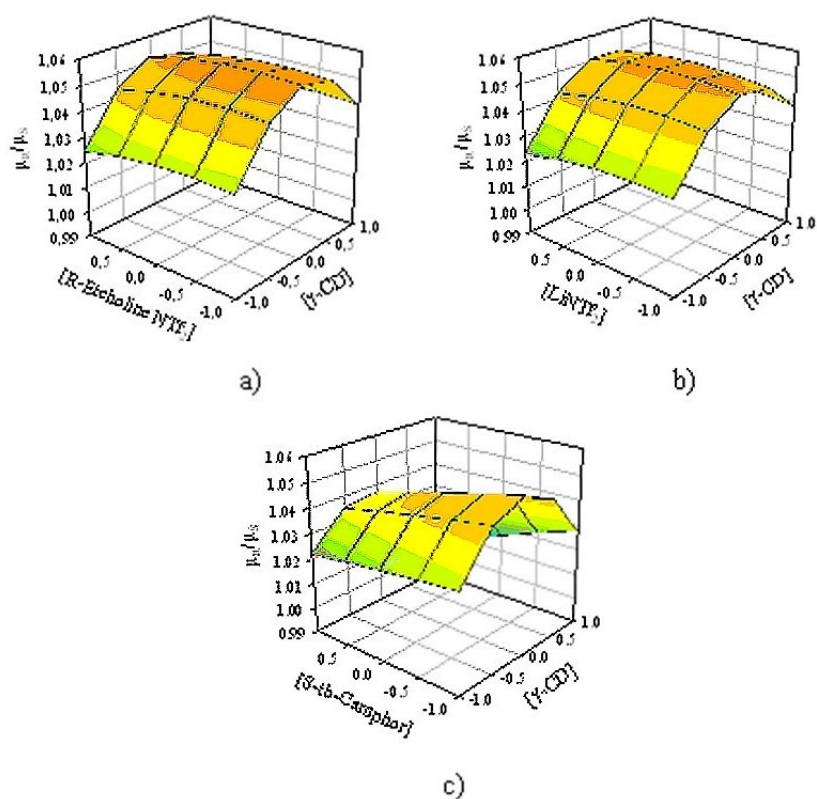


FIGURE 20 – Surfaces de réponse pour l'énantiosélectivité du racémate du binaphtol en fonction de la concentration de la  $\gamma$ -CD et de la concentration en liquide ionique : a) R-éthylcholine  $NTf_2$ ; b)  $LiNTf_2$ ; c) S-tb-Camphor

## 2.6 Conclusion

Ce mémoire illustre l'évolution de mes activités de recherche au sein du laboratoire LASOC. Tout au long de ces années, je me suis attachée à acquérir une expertise dans le domaine de l'électrophorèse capillaire et plus particulièrement pour la détermination des constantes physico-chimiques et la rationalisation des comportements électrocinétiques, bien que le développement de nouveaux milieux électrophorétiques, tels que les liquides ioniques, figure également au rang de mes priorités.

Toutefois, suite à mon goût prononcé pour la découverte de nouveaux horizons acquis en partie lors de ma formation initiale en chimie du solide (représentation des diagrammes d'équilibres d'ordre 3 ou 4, modélisation cristallographique, découverte de la Chimie Analytique et de la chromatographie en particulier) j'ai appris à maîtriser de nouveaux outils tels que la chimiométrie mettant en oeuvre divers plans d'expériences ou la mécanique moléculaire pour tenter de comprendre certains faits observés.

Ces derniers axes ne correspondent pas à des thématiques de recherche en soi car nous ne sommes pas un laboratoire dédié à la modélisation moléculaire ou à la chimiométrie. Mais ce sont des aides précieuses, aujourd'hui voire des outils incontournables, lorsque l'on désire soit comprendre les phénomènes observés dans des domaines aussi différents, mais intercorrélés, que la chimie ou la biologie (constantes physico-chimiques, modélisation moléculaire), soit optimiser des analyses plus ou moins complexes (nombreux paramètres expérimentaux interagissant) en un minimum de temps mais avec un maximum de résultats (chimiométrie).

C'est dans cet esprit que je compte poursuivre mes activités de recherche, mettant à profit mon expertise dans ces divers domaines, contribuant ainsi au développement des Sciences Séparatives tant au sein de mon laboratoire d'accueil qu'à l'Université de Rouen en synergie avec mes collègues organiciens.

## 2.7 Développements et Perspectives

Comme je viens de le dire ci-dessus, les travaux de recherche réalisés jusqu'à ce jour m'ont permis d'acquérir une certaine expertise dans quelques domaines susceptibles d'intéresser la communauté des Chimistes de l'Université de Rouen. Croyant fermement à la synergie entre Chimistes organiciens et Chimistes analytiques, c'est autour de ces thématiques que je souhaite vivement développer mes perspectives de Recherches. Le premier axe s'oriente vers l'électrophorèse capillaire en milieu non aqueux, le deuxième s'articule autour des Liquides Ioniques et le troisième à pour plaque tournante la Chimométrie.

### 2.7.1 Les Constantes d'Acidité en milieu non aqueux

La détermination des constantes d'acidité en milieu non aqueux me semble une problématique intéressante dans l'optique de la synergie entre Chimistes analytiques et Chimistes organiciens répondant ainsi à une attente des chimistes rouennais et caennais. Le point essentiel pour cet axe de recherche est la maîtrise parfaite des électrolytes de séparation en milieu non aqueux utilisables en électrophorèse capillaire.

En ce qui concerne la détermination de ces constantes d'acidité en milieu non aqueux, des travaux ont été réalisés, récemment<sup>16 17 18</sup>, mais uniquement pour quelques composés bien définis et par potentiométrie.

Quand à l'utilisation de solvants organiques en électrophorèse capillaire (NACE), ceci a déjà fait l'objet d'une publication de synthèse bibliographique au laboratoire<sup>19</sup>. Les solvants organiques permettent en général non seulement d'augmenter la solubilisation des molécules hydrophobes mais encore de modifier la sélectivité du système. De plus, l'emploi de tels solvants a des implications en terme de détection U.V.

Les solvants organiques ont des propriétés physico-chimiques très différentes les uns des autres comme le montre le tableau 2.3 page suivante, où l'eau est mentionnée à titre de référence.

---

16. Ertekin K., Alp S., Yalc I., *Determination of pKa values of azlactone dyes in non-aqueous media. Dyes and Pigments*, 65, 33-38, 2005.

17. Carabias-Martinez R., Rodriguez-Gonzalo E., Dominguez-Alvarez J., Miranda-Cruz E., *Development of a chemometric correlation technique to estimate acid-base descriptors for cationic acids in non-aqueous media. Analytica Chimica Acta*, 584, 410-418, 2007.

18. Gurzynski L., Puszek A., Chmurzynski L., *Basicity comparison for di-substituted 4-nitropyridine derivatives in polar non-aqueous media. Journal of Chemical Thermodynamics*, 39, 1667-1674, 2007.

19. Desbène-Monvernay A.M., Mofaddel N., *L'Électrophorèse Capillaire en milieux non aqueux. Analisis*, 27, 144-148, 1999.

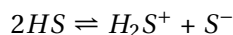
<b>Solvant</b>	$\epsilon$	$\eta(cP)$	$\epsilon/\eta$
Acétonitrile	37,5	0,37	101,6
Chloroforme	4,8	0,57	8,4
Dichlorométhane	9,1	0,43	21,1
<i>Eau</i>	78,4	0,89	88,1
Ethanol	24,3	1,07	22,6
Formamide	111,0	3,30	34,0
Méthanol	32,7	0,54	60,0
N-méthylformamide	182,4	1,65	110,0
Propan-2-ol	18,3	2,04	9,0
Tétrahydrofurane	7,6	0,46	16,5

TABLE 2.3 – Propriétés de quelques solvants usuels.  
(avec  $\epsilon$  la constante diélectrique du solvant et  $\eta$  sa viscosité à 25°C)

Les solvants présentés sont potentiellement intéressants pour l'analyse en NACE car le flux électroosmotique, présent en général en électrophorèse capillaire, dépend du rapport ( $\epsilon/\eta$ ). Ainsi la large gamme du rapport  $\epsilon/\eta$  accessible à l'aide de ces solvants induit un domaine étendu au niveau de la valeur du flux électroosmotique même si cette dernière valeur dépend aussi de la pureté du solvant, de la nature et de la concentration de l'électrolyte utilisé pour la séparation. Par suite, tout solvant présentant un rapport  $\epsilon/\eta$  supérieur à l'eau ( $\epsilon/\eta=88$ ) donc générant un flux électroosmotique plus important, conduit à des analyses plus rapides. Malheureusement, excepté lors de l'utilisation du N-méthylformamide et de l'acétonitrile, l'électroosmose en milieu non aqueux est systématiquement plus faible qu'en milieu aqueux. Par ailleurs, la conductivité des solvants organiques étant plus petite que celle de l'eau, la chaleur produite par effet Joule s'avère réduite. Une telle situation est des plus favorables car elle permet soit d'augmenter la tension de séparation et donc de réduire sensiblement la durée de l'analyse, soit d'accéder à des concentrations plus élevées en électrolyte de séparation, afin d'adapter la valeur de la force ionique. Cependant l'emploi de certains solvants organiques peut se révéler problématique à cause de leur faible tension de vapeur. Une telle situation se caractérise alors par un manque de répétabilité. Enfin il faut utiliser des solvants stables à la température de travail et éviter d'employer des solvants toxiques.

La connaissance de certaines propriétés des solvants utilisés dans la veine liquide, comme leur caractère protique ou aprotique ou bien encore leur caractère donneur ou accepteur est essentielle, en vue d'appréhender les constantes d'acidité. Quelques valeurs

sont données dans le tableau 2.4, les solvants amphiprotiques ayant pour particularité de pouvoir subir le phénomène d'autosolvolyse, le solvant amphiprotique type étant l'eau, en accord avec l'équation suivante :



Solvant	$pK_{auto}$	Accepteur	Donneur	Type
Eau	14,0	+++	+++	amphiprotique
Méthanol	17,2	+++	+++	amphiprotique
Ethanol	18,2	+++	+++	amphiprotique
Formamide	16,8	+++	+	amphiprotique basique
N-méthylformamide	10,7	+++	+	amphiprotique basique
Diméthylformamide	29,4	+++	+	amphiprotique basique
Diméthylacétamide	24,0	+++	+	amphiprotique basique
Diméthylsulfoxyde	33,3	+	-	aprotique
Acétonitrile	> 33	+	-	aprotique

TABLE 2.4 – Caractère protique ou aprotique de quelques solvants usuels.

Par analogie avec l'eau,  $S^-$  est la base la plus forte qui puisse coexister dans le solvant HS, toute autre base, présumée plus forte, étant totalement solvolysée. Quel que soit le solvant considéré, la définition du pH est la même :

$$pH = -\log a_{H^+} = \frac{\mu_{H^+}^o - \mu_{H^+}}{2,3 \times RT}$$

Le potentiel chimique de  $H^+$  dépend de son état de solvation. Son potentiel chimique sera d'autant plus faible, et donc le solvant d'autant plus basique que sa désolvation est plus énergétique. Dans le cas des solvants amphiprotiques, l'échelle de pH est comprise entre 0 et  $pH = pK_{auto}$ . Le pH du solvant pur est alors égal à  $1/2 pK_{auto}$ . L'échelle dépend de chaque solvant comme le montre la figure 21 page suivante.

Par suite, un acide faible dans l'eau peut se révéler un acide fort dans un autre solvant et de façon identique, un acide fort dans l'eau peut devenir un acide faible dans un autre solvant. Il va de soi qu'un changement similaire est observé au niveau des bases. Par suite, la nature du solvant a une influence directe sur les charges et les cages de solvation du sel de fond et du soluté. Ainsi les solvants amphiprotiques mentionnés dans le tableau 2.4 ont tendance à augmenter la charge des composés à caractère basique et à diminuer celle des composés de type acide. A l'inverse, les solvants répertoriés comme amphiprotiques basiques, tendent à diminuer la charge des composés à caractère basique et à augmenter celle des composés de type acide.

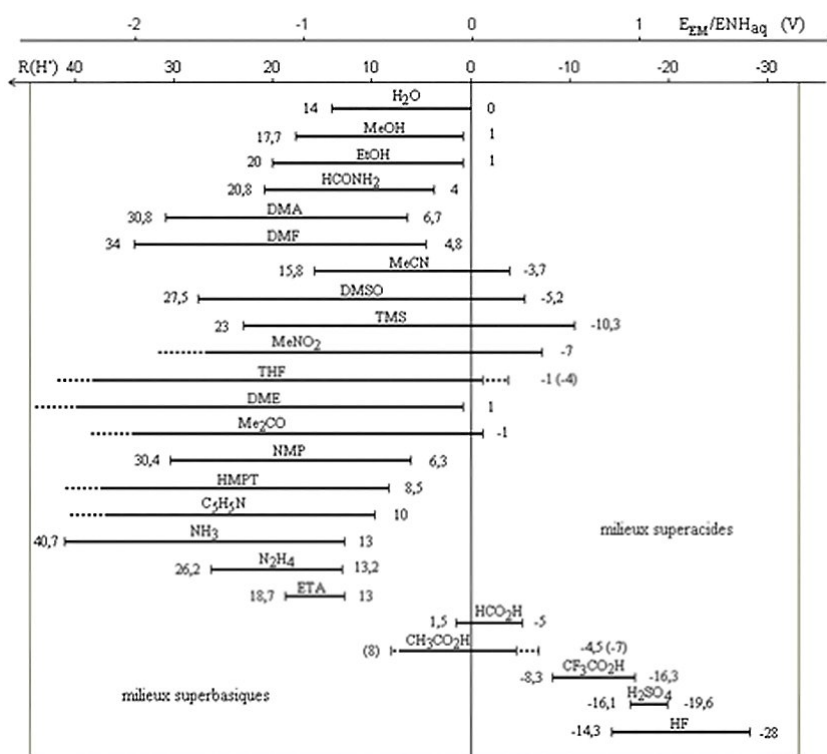


FIGURE 21 – Echelle d'acidité relative de divers solvants selon B. Tremillon *Électrochimie analytique et réaction en solution*, Masson, Paris, 1993.

Enfin en ce qui concerne la détection U.V., le domaine de longueur d'onde compatible avec la détection des solutés peut être réduit en raison de l'absorption des solvants organiques. En effet il faut impérativement se placer à une longueur d'onde supérieure à la longueur d'onde seuil (ou "cut off") du solvant organique utilisé, longueurs d'onde seuil regroupées dans le tableau 2.5 page suivante pour quelques solvants classiques.

Intégrant l'ensemble de ces données, nous nous proposons de construire une base de données d'électrolytes en milieu non aqueux (solvants, concentrations et natures des sels, pH\*, force ionique\*), l'électrophorèse en milieu non aqueux (NACE) conduisant à des sélectivités différentes de celles relevées en milieu aqueux et s'avérant par suite très complémentaire. Une fois cette base de données, portant sur les électrolytes en milieu non aqueux obtenue, il sera alors possible de procéder à la détermination de constantes d'acidité de molécules organiques en milieu non aqueux.



Solvant	Cut Off (nm)
Acétonitrile	190
Chloroforme	245
Dichlorométhane	228
Eau	190
Ethanol	210
Formamide	260
Méthanol	205
N-méthylformamide	260
Propan-2-ol	205
Tétrahydrofurane	212

TABLE 2.5 – Longueur d'onde seuil en détection U.V. pour quelques solvants usuels.

### 2.7.2 Les Liquides Ioniques

#### ★ Liquides Ioniques et Constantes de Complexation

Dans le cadre d'une collaboration avec l'équipe du Pr. G. Gouhier (UMR 6014, EFAOC), nous pourrions mettre en commun nos compétences afin de mieux cerner les phénomènes de complexation au moyen des cyclodextrines. En effet, le Pr. G. Gouhier développe, actuellement, une thématique de recherche centrée sur la complexation entre de nombreux composés, dont des liquides ioniques originaux, avec les cyclodextrines. Ces études sont, jusqu'à présent, appréhendés par résonance magnétique nucléaire<sup>20</sup>. Cependant il est actuellement impossible par cette approche de quantifier ces phénomènes de complexation. Grâce à la technique d'électrophorèse capillaire, que nous avons déjà mise en oeuvre notamment lors de l'énantioséparation des binols, nous allons pouvoir déterminer les constantes de complexation entre les nouveaux liquides ioniques synthétisés dans leur laboratoire et la  $\beta$ -cyclodextrine diméthylée avec laquelle leurs investigations ont été réalisées. Une première étude est en cours avec le liquide ionique dont la structure est représentée sur la figure 22 page suivante. Ce liquide ionique a été synthétisé afin de tenter de réaliser une pince moléculaire "greffable" sur une  $\beta$ -cyclodextrine diméthylée, produite également au laboratoire du Pr. G. Gouhier<sup>21</sup>. Ainsi une fois la pince "installée" sur la cyclodextrine, la cage de la CD sera ouverte, afin d'y introduire une autre unité glucose. Puis la cage de la CD sera refermée pour former ainsi une  $\gamma$ -CD diméthylée. Sans la présence de

20. Grandeur, A., Condamine, E., Hilfert, L., Gouhier, G., Petit, S., Coquerel, G. *Chiral discrimination in host-guest supramolecular complexes. Understanding enantioselectivity and solid solution behaviours by using spectroscopic methods and chemical sensors. J. Phys. Chem. B.* 111, 7017-7026, 2007.

21. Il est impossible d'obtenir actuellement une  $\beta$ -cyclodextrine diméthylée pure dans le commerce.

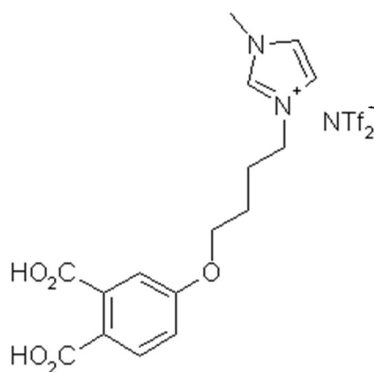


FIGURE 22 – Liquide ionique original synthétisé au le laboratoire du Pr. G. Gouhier.

la pince, il est très difficile, voire impossible, de refermer la CD car la chaîne d'unités glucose se déplie. C'est afin de connaître tous les phénomènes pouvant entrer en compétition lors de ce greffage du LI sur la CD, que la détermination des constantes de complexation présente le plus grand intérêt.

Dans le même ordre d'idées, nous aimerions étudier l'influence de la nature du contre ion (ici les anions  $Cl^-$ ,  $Br^-$ ,  $I^-$ ,  $PF_6^-$  et  $NTf_2^-$ ) d'une série de liquides ioniques de type 1-dodécyl-3-méthylimidazolium ( $C_{12}mim$ ) sur le phénomène de complexation par les cyclodextrines. Une étude sur l'effet de la longueur de la chaîne alkyl a été réalisée par l'équipe de Pr. Gareil<sup>22</sup> mais l'effet de la nature de l'anion n'a pas été envisagé. Or d'après une première ébauche d'étude, que nous venons de réaliser, il semble que cet effet soit non nul. Une telle étude peut être envisagée, bien que de telles séries n'existent pas dans la chimiothèque commerciale, grâce à l'expertise du laboratoire du Pr. G. Gouhier dans la synthèse des liquides ioniques. Ainsi nous pourrions peut-être mettre à jour une corrélation entre contre-ion du liquide ionique et complexation.

#### ★ Liquides Ioniques et Enantioséparation

Les liquides ioniques ont montré, au cours de cette dernière décennie, de nombreuses potentialités dans divers domaines de la Chimie et en particuliers en chimie analytique. Leur utilisation en électrophorèse capillaire, comme électrolyte de séparation est encore toute récente, et n'a pas, à mon avis, offert toutes ses possibilités.

22. François Y., Varenne A., Siriex-Plenet J., Gareil P., *Determination of aqueous inclusion complexation constants and stoichiometry of alkyl(methyl)-methylimidazolium-based ionic liquid cations and neutral cyclodextrins by affinity capillary electrophoresis. J. Sep. Sci.* 30, 751-760, 2007.

Les travaux récents de C.D. Tran et al.<sup>23</sup> ont montré la possibilité d'utiliser un liquide ionique (LI original synthétisé par l'équipe de Chan) non seulement comme électrolyte de séparation mais également comme sélecteur chiral. La séparation des acides aminés non dérivés est encore aujourd'hui un défi qu'il est difficile de relever, les acides aliphatiques ne comportant pas de chromophore vraiment compatible avec les détecteurs classiques utilisés en électrophorèse capillaire. Calquant ma démarche sur celle que nous avons utilisée pour l'analyse des cations inorganiques, j'envisage de recourir à un liquide ionique qui permettra non seulement leur détection en détection U.V. indirecte, mais également leur séparation et pourquoi pas leur énantioséparation sous réserve que le liquide ionique présente une chiralité adaptée. Pour ce faire il faudra de nouveau se rapprocher des Chimistes organiciens pour concevoir ce "liquide ionique" à partir de schémas de synthèse relativement directe. Les nombreuses collaborations que nous avons eues avec l'Équipe du Pr. D. Villemin doivent nous permettre d'atteindre, de façon relativement réaliste, cet objectif ambitieux. Par ailleurs l'énorme travail de synthèse bibliographique<sup>24</sup> réalisé au laboratoire sur les liquides ioniques, devrait nous aider à mener à bien notre réflexion. Enfin si l'utilisation du seul liquide ionique chiral ne permet pas la résolution énantiomérique des différents racémiques, le recours à l'adjonction de cyclodextrine constituera toujours une alternative intéressante. Dans cette ultime approche l'étude des phénomènes de complexation par les CDs constituera alors une aide précieuse.

#### ★ Liquides Ioniques et Extraction

Dès 1997, les travaux de R.D. Rogers et al.<sup>25</sup> présentaient les liquides ioniques comme une nouvelle classe de solvants pour les techniques d'extraction. Ceux-ci ont été largement utilisés depuis, dans un grand nombre d'extractions liquide-liquide telle que, par exemple, la microextraction en phase liquide (LPME). Récemment a été rapporté<sup>26</sup> l'utilisation de solutions aqueuses de liquides ioniques pour la technique d'extraction assistée par micro-ondes (MAE).

23. Tran C.D., Mejac I., *Chiral ionic liquids for enantioseparation of pharmaceutical products by capillary electrophoresis. Journal of Chromatography A*, 1204, 204-209, 2008.

24. Travail faisant l'objet d'un article de revue dans *Spectra Analyse*, avril 2009.

25. Huddleston J.G., Willauer H.D., Swatoski R.P., Visser A.E., Rogers R.D., *Room temperature ionic liquids as novel media for "clean" liquid-liquid extraction. Chem. Commun.*, 1765-1766, 1998.

26. Du F.Y., Xiao X.H., Li G.K., *Application of ionic liquids in the microwave-assisted extraction of trans-resveratrol from Rhizma Polygoni Cuspidati. Journal of Chromatography A*, 1140, 56-62, 2007.

Parallèlement l'utilisation des liquides ioniques pour l'extraction des hydrocarbures aromatiques polycycliques (HAPs) a été réalisée par l'équipe de Zhao<sup>27</sup> en SPMD (semi-permeable membrane devices).

L'idée est donc, dans le cadre du Pôle "Environnement" de l'Université de Rouen, projet porté par le Dr. F. Koltalo, de tenter une extraction de ces HAPs, présents dans les sols, en utilisant des liquides ioniques en phase aqueuse, en présence ou non de cosolvant organique, soit avec la technique d'extraction assistée par micro-ondes (MAE) soit avec la technique d'extraction en solvant par chauffage sous pression (ASE). Étant donné le nombre de paramètres à étudier pour les deux techniques d'extraction (MAE : temps d'extraction, nature du liquide ionique, concentration en LI et volume de solution aqueuse, puissance du rayonnement micro-onde,... ; ASE : température d'extraction, pression, nature et composition du mélange de solvants contenant entre autres un liquide ionique,...), une étude par plan d'expériences semble une bonne stratégie, ainsi qu'une étude par plan de mélanges afin de déterminer, si nécessaire, la composition du mélange de solvants optimale.

### 2.7.3 Plans d'expériences et Analyses en Composantes Principales

Dans le cadre d'un des projets du laboratoire portant sur l'identification rapide de bactéries par analyse de leurs protéines de surface au moyen de laboratoires sur puce développés par notre Équipe, projet porté par les Drs. J. Vieillard et C. Morin dans le cadre du Pôle "Sécurité Sanitaire" de l'Université de Rouen, je pense mettre mes compétences au service de cette thématique.

- D'une part en l'abordant par une approche chimiométrique par plans d'expériences. En effet vu le nombre important de paramètres qui vont devoir être optimisés dans cette technique miniaturisée d'électrophorèse capillaire sans compter ceux liés au mode de détection mis en jeu au sein des laboratoires sur puce, une telle étude me semble intéressante, voire indispensable, si l'on veut parvenir à une technique véritablement optimisée, les interactions entre les paramètres expérimentaux étant en nombre non négligeable.
- D'autre part, j'aimerais également pouvoir étudier les résultats obtenus, à l'issue de

27. Zhao W., Han M., Dai S., Xu J., Wang P., *Ionic liquid-containing semipermeable membrane devices for monitoring the polycyclic aromatic hydrocarbons in water. Chemosphere*, 62, 1623-1629, 2006.

cette étude, par une analyse en composantes principales (ACP).

En effet, l'ACP est la plus simple et la plus connue des techniques d'Analyse de Données multivariées. Étant donné un ensemble d'observations décrites par des variables exclusivement numériques  $(x_1, x_2, \dots, x_p)$ , l'ACP a pour objectif de décrire ce même ensemble de données par de nouvelles variables en nombre réduit. Ces nouvelles variables sont des combinaisons linéaires des variables originales, et portent le nom de Composantes Principales (CP). En général, la réduction du nombre de variables utilisées pour décrire un ensemble de données provoque une perte d'information. L'ACP procède de façon à ce que cette perte d'information soit la plus faible possible. L'utilisation la plus commune de l'ACP est de fournir, à partir de données décrites par un grand nombre de variables quantitatives, des représentations planes (et donc interprétables visuellement) aussi fidèles que possible. Pour cela, on projette ces données sur des plans factoriels, chaque plan étant défini par une paire de Composantes Principales prises parmi les premières CP. De l'examen de ces projections, l'analyste tente de retirer des informations sur la structure des données, par exemple :

- l'existence et la localisation d'observations "exceptionnelles" ou "aberrantes", c'est à dire très éloignées de l'ensemble des autres observations ;
- l'existence de regroupements bien marqués ("classes" ou "clusters"), suggérant l'existence de plusieurs sous-populations au sein de l'ensemble des observations.

Ainsi d'après le profil électrophorétique correspondant aux peptides obtenus par digestion enzymatique des bactéries et après détermination des paramètres caractérisant le plus précisément ce profil, tels que les temps de migration, les hauteurs de pics, les distances entre pics..., il sera, nous l'espérons, possible d'identifier rapidement la famille à laquelle appartient la bactérie analysée grâce aux laboratoires sur puce.

## Liste des travaux

**3.1 Publications**

- P1 **Mofaddel N.**, Bouaziz R., Mayer M., Le polymorphisme du sulfate de sodium anhydre et les phases intermédiaires, glasérite et aphtitalite, dans le binaire  $Na_2SO_4 - K_2SO_4$ .  
*Thermochimica Acta*, 185, Issue 1, 21, 141-153, 1991
- P2 Coquerel G., **Mofaddel N.**, Petit M.N., Bouaziz R., Stoechiométries, comportements et caractérisations de sels diastéréoisomères en milieu fondu. Cas des camphorates (d) de la (+) et (-) fenfluramine.  
*Bull. Soc. Chim. Fr.*, 128, 418-422, 1991.
- P3 **Mofaddel N.**, Bouaziz R., Réduction de la consommation en agent chiral lors de la cristallisation fractionnée de sels diastéréoisomères. Cas favorable du camphorate droit de S(+)-fenfluramine.  
*Bull. Soc. Chim. Fr.*, 128, 773-786, 1991.
- P4 Desbène A.M., Morin C.J., **Mofaddel N.**, Groult R., Utilization of fluorescein sodium salt in laser-induced indirect fluorimetric detection II. Application to organic anions.  
*Journal of Chromatography A*, 716, Issues 1-2, 279-290, 1995.
- P5 **Mofaddel N.**, Desbène-Monvernay A.M., L'Analyse des acides gras en Électrophorèse Capillaire.  
*Analisis*, 27, 120-124, 1999.
- P6 Desbène-Monvernay A.M., **Mofaddel N.**, L'Électrophorèse Capillaire en milieux non aqueux.  
*Analisis*, 27, 144-148, 1999.
- P7 Morin C.J., **Mofaddel N.**, Desbène A.M., Desbène P.L., Utilization of fluorescein sodium salt for the indirect fluorimetric detection in micellar electrokinetic chromatography.

*Journal of Chromatography A*, 872, Issues 1-2, 247-258, 2000.

- P8 **Mofaddel N.**, Bar N., Villemin D., Desbène P.L., Determination of acidity constants of enolisable compounds by capillary electrophoresis.  
*Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 380, 4, 664-668, 2004.
- P9 Morin C.J., Carli M., **Mofaddel N.**, Al Rifai R., Jaffres P.A., Villemin D., Desbène P.L., Determination of complexation selectivity of aromatic phosphonic acids by ammonium and potassium cations using CE.  
*Chromatographia*, 62, 139-143, 2005.
- P10 Morin C.J., Geulin L., **Mofaddel N.**, Desbène A.M., Desbène P.L., Analysis of neutral surfactants by non-aqueous medium capillary electrophoresis hyphenated to mass spectrometry (ion trap).  
*Journal of Chromatography A*, 1198-1199, 226-231, 2008.
- P11 **Mofaddel N.**, Krajian H., Villemin D., Desbène P.L., Enantioseparation of binaphthol and its mono derivatives by cyclodextrin-modified capillary zone electrophoresis.  
*Journal of Chromatography A*, 1211, 142-150, 2008.
- P12 Aït Adoubel A., Morin C.J, **Mofaddel N.**, Dupas G., Desbène P.L., Enantioseparation of underivatized amino acids by ligand exchange capillary electrophoresis in a counter-electroosmotic mode.  
*Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 394, 597-608, 2009.
- P13 **Mofaddel N.**, Krajian H., Villemin D., Desbène P.L., New Ionic Liquid For Inorganic Cations Analysis By Capillary Electrophoresis : 2-Hydroxy-N,N,N-Trimethyl-1-Phenylethanaminium Bis(Trifluoromethylsulfonyl) Imide (Phenylcholine NTf2).  
*Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 393, 1545-1554, 2009.
- P14 **Mofaddel N.**, Krajian H., Villemin D., Desbène P.L., Enantioseparation of binaphthol and its mono derivatives by CD-CZE : Mathematical approach.  
*Talanta*, 78, 631-637, 2009
- P15 Krajian H., **Mofaddel N.**, Villemin D., Desbène P.L., A new example of reversal of enantiomers migration order as a function of the cyclodextrin concentration and pH, in CD-CZE enantioseparation of 6,6'-dibromo-1,1'-binaphthyl-2,2'-diol.  
*Acceptée à Analytical and Bioanalytical Chemistry*, juin 2009.
- P16 Aït Adoubel A., Morin C.J, **Mofaddel N.**, Dupas G., Desbène P.L., Molecular Modeling of complexes between two amino acids and Copper(II). Correlation with Ligand Exchange Capillary Electrophoresis.  
*Soumise à Journal of Molecular Structure : Theochem*, juin 2009.
- P17 Desbène P.L., Yver B., Koltalo F., **Mofaddel N.**, Identification of cyclic and linear oligomers of siloxane polymers and copolymers by on-line supercritical fluid chromatography and Fourier transform infrared spectroscopy coupling.  
*Soumise à Analyst*, juin 2009.
- P18 **Mofaddel N.**, Krajian H., Desbène P.L., Liquides ioniques et Sciences analytiques.  
*Spectra Analyse*, n°268, juin-juillet 2009.

### 3.2 Brevet

BRE1 **Mofaddel N.**, Bouaziz R. (1993). Procédé de séparation des énantiomères d'un mélange racémique de molécules ou ions présentant une activité optique. Brevet d'invention n° 91 01513 (n° publication : 2 672 285) du 11 Juin 1993.

### 3.3 Conférences invitées

INV1 Mise en œuvre du couplage CE/ESI/MS (trappe ionique). Influence des paramètres spécifiques au couplage sur la migration de la bande d'échantillon, C.J. Morin, L. Geulin, **N. Mofaddel**, A. Desbène, P.L. Desbène, *6<sup>e</sup> Journée d'Électrophorèse Capillaire de Xavier Bichat, Paris, 2000.*

INV2 L'Électrophorèse Capillaire : chromatographie sans pression, C. Morin, **N. Mofaddel**, P.L. Desbène, *12<sup>e</sup> Journée d'Électrophorèse Capillaire de Xavier Bichat, Paris, 2006.*

INV3 Enantioséparation d'atropoisomères par Électrophorèse Capillaire, **N. Mofaddel**, H. Krajian, P.L. Desbène, D. Villemin, *13<sup>e</sup> Journée d'Électrophorèse Capillaire de Xavier Bichat, Paris, 2007.*

INV4 La modélisation moléculaire appliquée à la rationalisation des phénomènes observés en Électrophorèse Capillaire, **N. Mofaddel**, *1<sup>e</sup> Journée de Modélisation Moléculaire, Reims, 2007.*

### 3.4 Communications par voie d'affiche

COM1 Stœchiométrie de sels diastéréoisomères formés par l'acide + camphorique et la  $\pm$  fenfluramine, R. Bouaziz, G. Coquerel, **N. Mofaddel**, M.N. Petit, S. Ammor, *XVI<sup>e</sup> Journées des équilibres entre phases, Marseille, 1990.*

COM2 Les sulfates stoechiométriques  $NaKSO_4$  (l'aphtitalite) et  $NaK_3(SO_4)_2$  (la glasérite), **N. Mofaddel**, M. Mayer, R. Bouaziz, *XVI<sup>e</sup> Journées des équilibres entre phases, Marseille, 1990.*

COM3 Les équilibres ternaires entre énantiomères de la RS fenfluramine, M.N. Petit, G. Coquerel, R. Bouaziz, **N. Mofaddel**, *AFCAT, Chatenay-Malabry, 1991.*

COM4 Indirect fluorimetric detection of organic anions separated by CZE, P.L. Desbène, C.J. Morin, **N. Mofaddel**, R. Groult, *7<sup>th</sup> International Symposium on High Performance Capillary Electrophoresis, HP-CE'95, Würzburg (Allemagne), 1995.*

COM5 Optimisation de la détection fluorimétrique indirecte en chromatographie électrocinétique micellaire,



- C.J. Morin, **N. Mofaddel**, P.L. Desbène,  
*Congrès SEP'97, Paris, 1997.*
- COM6 Apport des plans d'expériences en électrophorèse capillaire : exemple de l'optimisation de la sensibilité en détection fluorimétrique indirecte,  
C.J. Morin, **N. Mofaddel**, L. Geulin, P.L. Desbène,  
*Congrès SEP'99, Lyon, 1999.*
- COM7 Détermination de points isoélectriques élevés par électrophorèse capillaire de zone,  
C.J. Morin, L. Courvoisier, **N. Mofaddel**, P.L. Desbène,  
*Congrès SEP'99, Lyon, 1999.*
- COM8 Influence sur la migration de la bande échantillon et sur la sensibilité de détection des paramètres opératoires intrinsèques au couplage CE/ESI/MS,  
**N. Mofaddel**, L. Geulin, C.J. Morin, P.L. Desbène,  
*Congrès SEP'01, Paris, 2001.*
- COM9 Effect of the specific parameters used for the hyphenation of capillary electrophoresis to mass spectrometry (ion trap). Influence on the sample zone migration and detection threshold,  
C.J. Morin, L. Geulin, **N. Mofaddel**, P.L. Desbène,  
*25<sup>th</sup> International Symposium on High Performance Liquid Chromatography and Related Techniques, Maastricht (Pays-Bas), 2001.*
- COM10 Determination of physico-chemical properties of ionic liquids using capillary electrophoresis instrumentation,  
Y. François, K. Zhang, A. Varenne, P. Gareil, **N. Mofaddel**, A. Desbène, L. Leroy, D. Villemin,  
*ISC, Paris, 2004.*
- COM11 Chiral and structural separation by capillary electrophoresis of native amino acids by using cyclodextrins derived or not,  
A. Aït-Adoubel, **N. Mofaddel**, P.L. Desbène, C. Elfakir, M. Dreux,  
*11<sup>e</sup> Journée Scientifique de l'IFRMP23, Mont Saint Aignan, 2005.*
- COM12 Nouveau liquide ionique pour l'analyse des cations inorganiques en Electrophorèse Capillaire - Concept du "tout en un",  
H. Krajian, **N. Mofaddel**, D. Villemin, P.L. Desbène,  
*Congrès SEP'07, Grenoble, 2007.*
- COM13 Enantioseparation of binaphthol and its mono or disubstituted derivatives by CD-CZE,  
H. Krajian, **N. Mofaddel**, D. Villemin, P.L. Desbène,  
*HPLC 2007, Ghent (Belgique), 2007.*

## CHAPITRE 4

---

### Sélection de publications

---

Une sélection de publications, ayant trait aux travaux présentés dans ce mémoire, est présentée ci-après, dans l'ordre suivant :

1. DETERMINATION OF ACIDITY CONSTANTS OF ENOLISABLE COMPOUNDS BY CAPILLARY ELECTROPHORESIS. **Mofaddel N.**, Bar N., Villemin D., Desbène P.L., *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 380, 4, 664-668, 2004.
2. ENANTIOSEPARATION OF BINAPHTHOL AND ITS MONO DERIVATIVES BY CYCLODEXTRIN-MODIFIED CAPILLARY ZONE ELECTROPHORESIS. **Mofaddel N.**, Krajian H., Villemin D., Desbène P.L., *Journal of Chromatography A*, 1211, 142-150, 2008.
3. ENANTIOSEPARATION OF BINAPHTHOL AND ITS MONO DERIVATIVES BY CD-CZE : MATHEMATICAL APPROACH. **Mofaddel N.**, Krajian H., Villemin D., Desbène P.L., *Acceptée à Talanta*, décembre 2008. DOI : 10.1016/j.talanta.2008.12.027.
4. NEW IONIC LIQUID FOR INORGANIC CATIONS ANALYSIS BY CAPILLARY ELECTROPHORESIS : 2-HYDROXY-N,N,N-TRIMETHYL-1-PHENYLETHANAMINIUM BIS(TRIFLUOROMETHYLSULFONYL) IMIDE (PHENYLCHOLINE NTf<sub>2</sub>). **Mofaddel N.**, Krajian H., Villemin D., Desbène P.L., *Acceptée à Analytical and Bioanalytical Chemistry*, décembre 2008. DOI : 10.1007/s00216-008-2582-y.
5. ENANTIOSEPARATION OF UNDERIVATISED AMINO ACIDS BY LIGAND EXCHANGE CAPILLARY ELECTROPHORESIS IN A COUNTER-ELECTROSMOTIC MODE. Aït Adoubel A., Morin C.J, **Mofaddel N.**, Dupas G., Desbène P.L., *Acceptée à Analytical and Bioanalytical*

*Chemistry, décembre 2008.*

6. DETERMINATION OF COMPLEXATION SELECTIVITY OF AROMATIC PHOSPHONIC ACIDS BY AMMONIUM AND POTASSIUM CATIONS USING CE. Morin C.J., Carli M., **Mofaddel N.**, Al Rifai R., Jaffres P.A., Villemin D., Desbène P.L., *Chromatographia*, 62, 139-143, 2005.
  
7. ANALYSIS OF NEUTRAL SURFACTANTS BY NON-AQUEOUS MEDIUM CAPILLARY ELECTROPHORESIS HYPHENATED TO MASS SPECTROMETRY (ION TRAP). Morin C.J., Geulin L., **Mofaddel N.**, Desbène A.M., Desbène P.L., *Journal of Chromatography A*, 1198-1199, 226-231, 2008.