

## MÉMO B

# Les principales techniques d'extraction, de séparation et d'analyse

D'origine naturelle ou anthropique, les substances trouvées dans l'environnement requièrent l'usage de méthodes d'analyse polyvalentes – il s'agit à la fois de détecter et d'identifier des composés extrêmement diversifiés – et de grande sensibilité. Elles supposent également l'application de procédures rigoureuses opérant par étapes.

## Préparer rigoureusement les échantillons

Étape fondamentale du processus analytique, le **prétraitement des échantillons** consiste soit à pré-concentrer des substances en teneur trop faible pour pouvoir être détectées directement, soit à les séparer d'une matrice excessivement complexe. Si les chercheurs consacrent près de 60 % du temps requis pour réaliser une analyse globale à cette étape préliminaire, c'est parce que, selon plusieurs études, elle représente près de 30 % des erreurs dans les résultats. Aujourd'hui, ces chercheurs ont développé une palette de techniques rapides, économiques, automatisées et fiables pour traiter leurs échantillons selon leur nature ou le niveau de concentration recherché :

- L'**extraction en phase solide** (*Solid Phase Extraction / SPE*) permet d'isoler des substances chimiques présentes dans un liquide (l'eau, par exemple) grâce à l'utilisation d'un **polymère** absorbant conditionné généralement sous forme de cartouches filtrantes. Elle s'avère très efficace en matière de pré-concentration des **traces** dans des milieux très dilués ou pour la purification des échantillons.
- La **micro-extraction en phase solide sur fibre** (*Solid Phase Micro-Extraction / SPME*) s'utilise pour extraire des substances chimiques présentes dans un gaz ou un liquide (par exemple, l'air ou l'eau) et opère au moyen d'un polymère absorbant recouvrant une fibre de verre de quelques millimètres de long et mise en contact de l'échantillon. La SPME ne nécessitant ni solvants ni appareils spécifiques, elle s'avère donc simple à mettre en œuvre. Il s'agit d'une technique novatrice utilisée de plus en plus pour la surveillance de la qualité de l'air ou l'analyse de **micro-polluants organiques** dans les eaux.
- L'**extraction en phase solide déposée sur barreau d'agitation magnétique** (*Stirr*

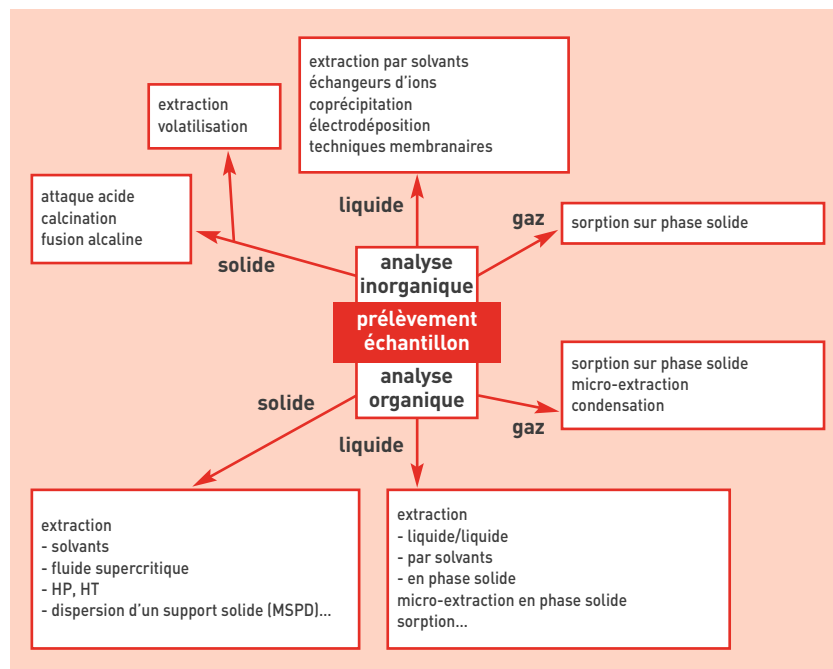


Figure 1. Exemples de techniques de prétraitement des échantillons environnementaux.

*Bar Sorptive Extraction / SBSE*) s'applique plus généralement à l'extraction des substances chimiques présentes dans un liquide (l'eau). Cette extraction s'effectue au moyen d'un polymère absorbant, recouvrant un barreau d'agitation (magnétique) mis en mouvement dans l'échantillon. Basée sur le même principe que la SPME, elle permet d'extraire de plus grandes quantités d'**analytes** et donc de gagner en sensibilité.

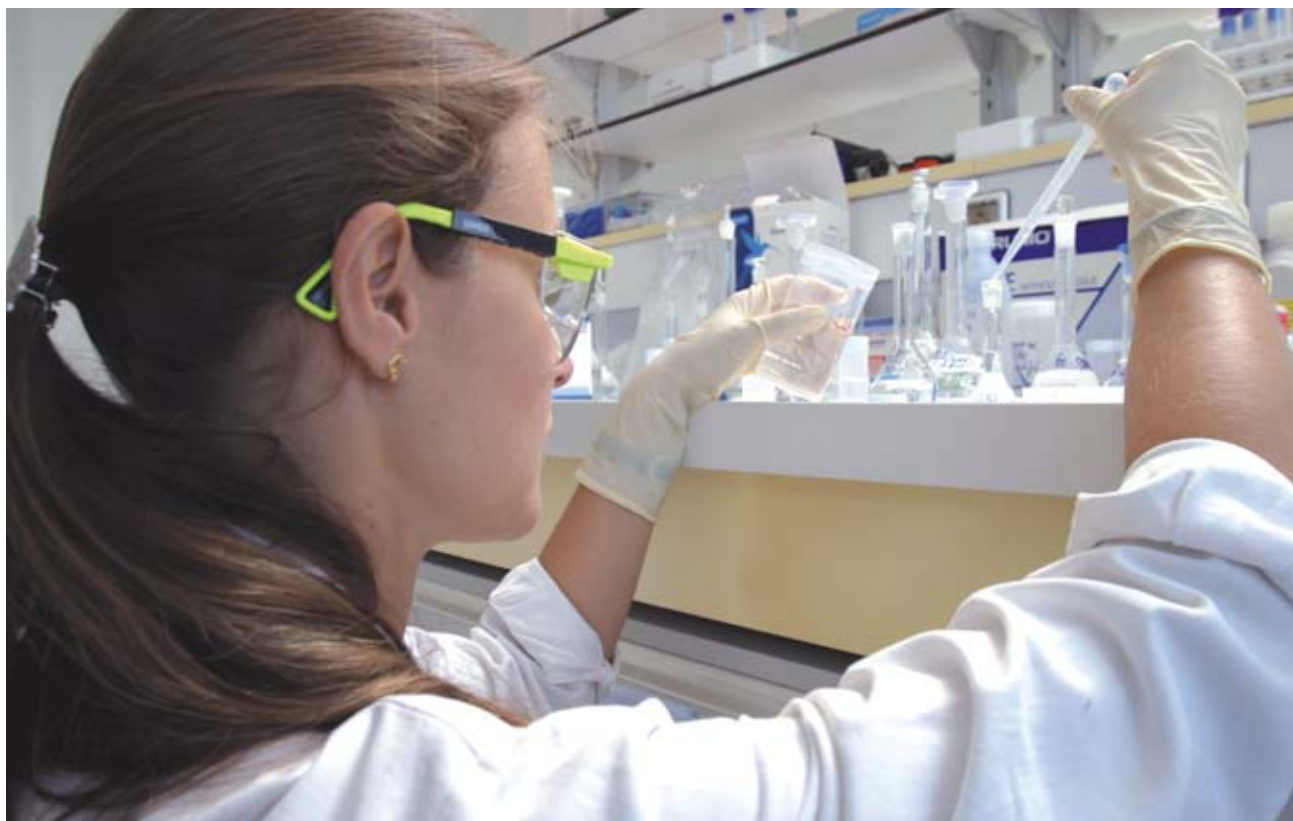
- L'**extraction par solvant**, généralement un solvant volatil peu soluble dans l'eau (alcane léger, acétate d'éthyle...) permet d'extraire des **molécules** à partir de milieux aqueux. La séparation solvant/eau s'effectue par simple décantation.
- La **chromatographie ionique préparative**, qui repose sur l'interaction d'espèces **ioniques** en milieu aqueux avec des **résines échangeuses d'ions**, permet d'extraire des substances inorganiques (**ions**) présentes à l'état de traces à partir d'une matrice environnementale complexe.

## Séparer pour sélectionner

Actuellement utilisée pour identifier ou doser les **composés chimiques** d'un mélange et déterminer leur concentration,

la **chromatographie** fut inventée, en 1906, par le botaniste russe Mikhail Tswett (1872-1919) qui cherchait à séparer différents pigments de plantes. Aujourd'hui, la technique consiste à laisser percoler une solution de la substance étudiée dans une colonne d'**adsorbants** : les composants, progressant chacun à des vitesses différentes, se répartissent en zones distinctes qu'il suffit de fractionner pour les analyser.

- La **chromatographie en phase liquide** (CPL ou HPLC) repose sur la séparation des substances présentes dans un mélange, par leur introduction, puis leur migration différentielle dans une colonne séparative (colonne chromatographique) parcourue par un liquide d'**élution** (par exemple, un mélange d'eau et de méthanol). Ensuite, une série d'interactions physico-chimiques entre les substances analysées et les deux phases séparatives (phase stationnaire et phase d'élution) permettra la séparation des composés. Le couplage du module de séparation chromatographique avec des détecteurs spécifiques (**spectromètre de masse**, **spectromètre d'absorption UV-Visible**...) conduit à des instrumentations analytiques diverses (HPLC-MS, HPLC-UV...).



C. Dupont/CEA

Laboratoire de chimie analytique. Séparation et purification de traces d'actinides dans des échantillons environnementaux, étapes préalables aux mesures de spectrométrie de masse.

- **L'électrophorèse capillaire (EC)**, comme toutes méthodes séparatives électrophorétiques, s'utilise pour séparer des particules (ions) chargées électriquement par migration différentielle sous l'action d'un champ électrique. Chaque espèce migre à une vitesse qui lui est propre, fonction de son rapport charge sur la taille. Concernant plus particulièrement l'électrophorèse capillaire, comme son nom le laisse supposer, le support de séparation est un capillaire rempli d'un milieu liquide (électrolyte) spécifique, dont les extrémités plongent dans des réservoirs d'électrolytes reliés entre eux par un générateur haute tension. L'échantillon s'intercale dans le flux d'électrolyte et les espèces constitutives de l'échantillon migrent à leur vitesse propre, laquelle dépend à la fois de la distance entre les points d'injection et de détection, et du temps de migration.
- La **chromatographie en phase gazeuse (CPG ou GC)** permet de séparer des substances volatiles ou semi-volatiles issues d'un mélange complexe. Elle repose sur l'introduction du mélange par vaporisation dans une colonne séparative (colonne chromatographique), puis sur la migration différentielle (élution) des substances sous l'effet

d'entraînement d'un gaz vecteur (par exemple, de l'hélium). Les colonnes chromatographiques sont de nos jours principalement constituées de tubes capillaires de 30 à 100 m de longueur, recouvertes intérieurement d'un polymère adapté aux substances analysées. Un système de détection positionné en sortie de colonne mesure les signaux émis par les différents composants, ce qui permet de les identifier et de les quantifier (par exemple **GC-MS**).

- La **chromatographie ionique (CI)** repose sur l'application des différentes méthodes de chromatographie en phase liquide à l'analyse des ions (**anions** ou **cations**) organiques ou inorganiques.

### Analyser pour savoir

Pour déterminer la composition d'un échantillon, les chercheurs disposent de la palette des différentes méthodes spectrométriques, c'est-à-dire de méthodes d'analyse spectrale permettant d'accéder à la composition et à la structure de la matière. Ces méthodes peuvent s'ordonner en deux catégories : la **spectrométrie des rayonnements** et la **spectrométrie de masse** au sein desquelles on distingue généralement la **spectrométrie atomique** et la **spectrométrie moléculaire**.

### La spectrométrie des rayonnements

La **spectrométrie des rayonnements** se base sur l'interaction de rayonnements électromagnétiques avec la matière. Elle utilise des processus aussi variés que l'émission, l'absorption, la **fluorescence** et la diffusion de rayonnements visibles ou invisibles. Qu'elle soit à l'état atomique ou moléculaire, chaque substance présente un spectre caractéristique, tant en émission qu'en absorption (ou éventuellement en diffusion ou en fluorescence) ; il suffit donc de reconnaître la présence de ce spectre pour avoir la preuve de la présence de la substance correspondante.

- La **spectrométrie d'absorption atomique** repose sur le principe selon lequel des **atomes** peuvent absorber des **photons** d'une certaine longueur d'onde (caractéristique de l'élément analysé). Le nombre de photons absorbés étant relié au nombre d'atomes qui les absorbent, on peut ainsi en déduire la concentration de l'élément.

- La **spectrométrie d'émission** est basée sur l'émission de photons caractéristiques émis par les atomes excités par apport d'énergie. Cette énergie peut être apportée, par exemple, au moyen d'une source à **plasma**

Suite page 54

## MÉMO B

Suite de la page 53

d'argon généré par couplage inductif ; cela permet la mesure de teneurs en **éléments** (cuivre, **plomb**, étain, arsenic, nickel...) mais ne renseigne pas sur la forme chimique sous laquelle se trouvent ces éléments dans l'échantillon.

- La **spectrométrie à décharge lumineuse (SDL)** fait intervenir le phénomène de pulvérisation **cathodique** de l'échantillon à analyser, celui-ci étant placé dans une source fonctionnant sur le principe d'un tube cathodique. Les éléments pulvérisés dans la lampe à décharge se trouvent alors identifiés par leur spectre d'émission lumineuse. La source à décharge **luminescente** peut également s'associer à un spectromètre de masse.

- La **spectroscopie d'émission optique sur plasma produit par ablation laser** (*Laser Induced Breakdown Spectroscopy/LIBS*) utilise l'interaction d'un faisceau **laser** pulsé avec un matériau, ce qui provoque sa vaporisation sous forme d'un plasma. Les atomes et les ions éjectés émettent, en se désexcitant, un **spectre UV** et visible constitué de raies dont la longueur d'onde permet d'identifier et de quantifier les éléments présents dans l'échantillon.

- La **spectrométrie de fluorescence X** consiste à bombarder la matière avec ces rayons, laquelle réémet de l'énergie, entre

autres, sous forme de rayons X ; en analysant le spectre, on peut déduire, qualitativement et quantitativement, la composition élémentaire de l'échantillon.

- La **spectrométrie d'absorption UV-Visible** repose sur l'absorption des radiations lumineuses par la matière. Cette technique permet principalement de mesurer des concentrations d'espèces chimiques en solution aqueuse ou autres.

- La **spectrométrie infrarouge (IR)** permet, par absorption moléculaire de rayonnement IR, de déterminer la nature des liaisons chimiques composant une molécule et donc d'échafauder des hypothèses structurales. Un spectre IR s'avérant parfois très complexe, il peut ainsi constituer une véritable carte d'identité moléculaire.

- La **spectrofluorimétrie laser à résolution temporelle (SLRT)** est une technique analytique ultrasensible utilisée pour la détermination de certains **actinides** et **lanthanides** fluorescents en solution. Son principe repose sur une excitation réalisée par un laser pulsé suivie de la résolution temporelle (positionnement d'une porte de mesure quelques  $\mu$ s après l'impulsion laser) du signal de fluorescence permettant l'élimination des fluorescences parasites à temps de vie courts. Les développements actuels de cette technique portent sur la

**spéciation** (détermination des espèces chimiques) et sur l'analyse déportée *via* fibres optiques dans le nucléaire et dans l'environnement.

- La **spectrométrie de diffusion Raman** se pratique pour connaître la structure chimique et la composition moléculaire d'un échantillon en le soumettant à un rayonnement laser et en analysant la lumière diffusée. Il s'agit d'une méthode non-destructive complémentaire de la spectroscopie infrarouge. La spectroscopie Raman est une technique de mesure locale : en focalisant le faisceau laser sur une petite partie du milieu, on peut sonder les propriétés de ce milieu sur un volume de quelques **microns** cube. On parle alors de micro-Raman.

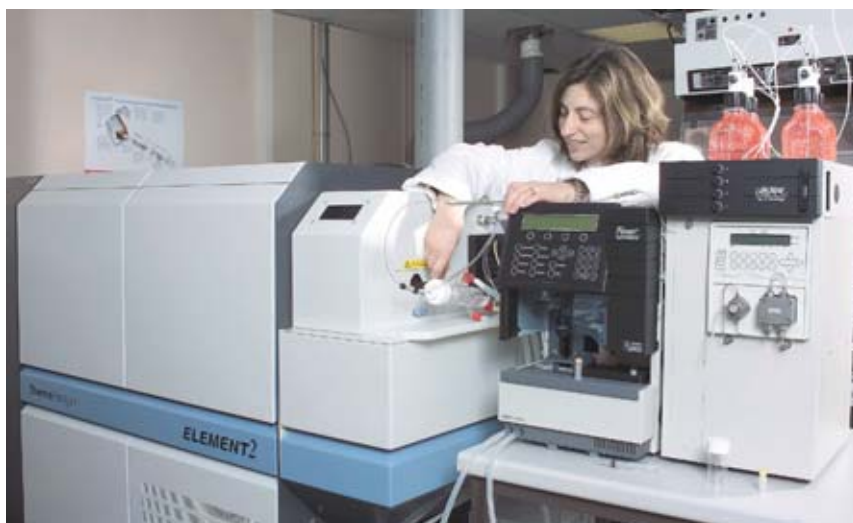
- La **spectrométrie de résonance magnétique nucléaire (RMN)** base son principe sur l'orientation des **spins** de certains **noyaux** d'atomes sous l'effet d'un champ magnétique intense. Ceux-ci peuvent alors interagir avec des **ondes radio** pour émettre des signaux qui permettront d'identifier la structure moléculaire des composés présents.

- L'**analyseur de traces par piégeage "d'atomes froids"** (*Atom Trap Trace Analysis/ATTA*) est une technique exploitant le piégeage magnéto-optique d'atomes



Préparation d'échantillons pour une analyse radiologique. Traitement d'échantillons environnementaux : chromatographie en vue de l'extraction de **radionucléides**.

C. Dupont/CEA



CEA/DR

Couplage chromatographie liquide – spectromètre de masse à source plasma à couplage inductif (ICP-MS).

froids permettant d'atteindre la détection d'atomes uniques et de quantifier des rapports **isotopiques** sur quelques milliers d'atomes. Complexe, l'ATTA figure actuellement parmi les techniques les plus sensibles et les plus sélectives existantes.

### La spectrométrie de masse

La **spectrométrie de masse** et la **spectrométrie de mobilité ionique** constituent un ensemble de techniques d'analyse permettant de détecter, mais aussi d'identifier finement, soit les éléments (**spectrométrie de masse inorganique**) soit différentes molécules (**spectrométrie de masse organique ou moléculaire**). Dans ce dernier cas il est possible de caractériser la structure chimique des molécules en les fragmentant ou en mesurant, avec une extrême précision, leur masse moléculaire. Pour ce faire, un spectromètre de masse comprend d'abord un système d'introduction d'échantillon, soit direct (échantillon solide, liquide ou gazeux), soit indirect (couplage avec une technique séparative comme la chromatographie ou l'électrophorèse capillaire). Il comprend également une source d'**ionisation** pour atomiser et ioniser les éléments (ou vaporiser et ioniser les molécules), un analyseur de masse qui va séparer les ions en fonction de leur rapport masse sur charge ( $m/z$ ) et enfin, un ou plusieurs détecteurs.

De nombreuses méthodes existent pour ioniser les atomes ou les molécules.

La **spectrométrie de masse organique** présente de nombreuses combinaisons entre les différentes sources d'ionisation et les

différents analyseurs. Certaines sources sont plus fréquentes.

- La **source par impact électronique** reposant sur le bombardement des molécules par un faisceau d'**électrons** (généralement d'une énergie de 70 eV) et sur la formation d'ion chargé positivement.
- La **source par ionisation chimique** s'appuie sur l'ionisation négative des molécules par capture d'électrons de faible énergie (1 à 2 eV) issus de l'ionisation primaire d'un gaz réactant (**méthane, ammoniac...**) soumis préalablement à un bombardement électronique.
- L'**ionisation chimique à pression atmosphérique (APCI)** où les échantillons liquides sont d'abord nébulisés (formation d'un nuage de gouttelettes) à l'aide d'un jet d'air ou d'**azote**. Un chauffage assure ensuite la désolvatation des composés. Ces derniers sont ensuite ionisés chimiquement à pression atmosphérique : en général, la phase mobile vaporisée joue le rôle de gaz d'ionisation et les électrons sont obtenus à partir de décharges d'**électrode** couronne. L'APCI est une technique analogue à l'ionisation chimique (CI) : elle fait appel à des réactions ions-molécules en phase gazeuse, mais à pression atmosphérique.
- La **source électrospray (Electro Spray Ionization /ESI)** est une source de formation d'ions issus d'une solution liquide, par vaporisation et nébulisation de cette solution, en présence d'un champ électrostatique intense. Comme pour l'APCI, l'avantage de cette méthode d'ionisation réside dans l'obtention d'ions multichargés, particulièrement intéressants pour caractériser les **macromolécules**. Cette méthode permet

également de générer une ionisation "douce" qui forme majoritairement des ions moléculaires.

- La **désorption ionisation par électrospray (Desorption Electrospray Ionization/DESI)** repose sur l'utilisation d'un solvant nébulisé, contenant des molécules dans un état électronique excité qui transfèrent leur énergie aux substances recherchées puis conduisent à leur ionisation et à leur **désorption** à partir d'un échantillon solide ou liquide déposé sur un substrat.

En ce qui concerne la **spectrométrie de masse inorganique**, de nombreuses combinaisons existent également, mais les sources d'ionisation s'avèrent plus énergétiques qu'en spectrométrie de masse organique afin d'assurer une atomisation complète des échantillons.

- Le **plasma à couplage inductif** est une source d'atomisation et d'ionisation extrêmement énergétique qui, associée à un **spectromètre de masse (Inductively Coupled Plasma Mass Spectrometry/ICP-MS)**, constitue une technique d'analyse des éléments parmi les plus sensibles. Elle permet notamment de mesurer le **plutonium** à des niveaux inférieurs au **femtogramme**.
- La **spectrométrie de masse d'ions secondaires (Secondary Ions Mass Spectrometry/SIMS)**, en bombardant un échantillon solide par un faisceau d'ions, pourra caractériser finement sa surface, d'où la possibilité d'analyser, par exemple, des particules micrométriques contenant des quantités infimes d'un élément.
- La **spectrométrie de masse à thermoionisation (Thermal Ionization Mass Spectrometry/TIMS)** consiste à coupler une source d'atomisation et d'ionisation des éléments déposés sur une surface, portée à très haute température avec un spectromètre de masse. Cette technique permet de mesurer, avec une excellente précision, les rapports isotopiques des éléments ainsi que leur concentration en utilisant des traceurs.
- La **spectrométrie de mobilité ionique (Ion Mobility Spectrometry/IMS)**, technique d'analyse chimique en phase gazeuse, consiste à soumettre des molécules à un champ électrique dans un courant de gaz. L'ionisation se trouve généralement produite par une source lumineuse (**ultra-violet**) ou **radioactive** (émetteurs alpha ou bêta).
- la **spectrométrie de masse à ionisation résonante (Resonance Ionization Mass**

Suite page 56

## MÉMO B

Suite de la page 55



C. Dupont/CEA

Spectromètre de masse à thermo-ionisation, qui permet l'analyse des isotopes de l'**uranium** et du plutonium avec une très grande précision.

*Spectroscopy/RIMS*), technique d'analyse élémentaire extrêmement sélective (grâce à la possibilité d'opérer une sélectivité élémentaire parfaite au niveau de l'ionisation), vise à éviter de nombreuses séparations chimiques. Le principe consiste à "irradier" un mélange d'atomes en phase vapeur par un rayonnement laser pour exciter, puis ioniser sélectivement, les seuls atomes dont la transition électronique correspond à la longueur d'onde laser. L'utilisation d'un système dispersif en masse (analyseur magnétique, spectromètre à temps de vol) permet d'obtenir une double sélectivité, élémentaire et isotopique.

La **séparation des ions** s'opère au moyen d'analyseurs qui se différencient par leur technologie et peuvent être couplés entre eux pour déterminer la structure des molécules.

- L'**analyseur quadripolaire** consiste à forcer les ions à circuler dans un champ électrostatique complexe le long de barreaux métalliques et à traverser, ou non, cette zone d'espace selon la valeur de leur rapport masse sur charge.
- Le **piège ionique quadripolaire** repose sur le piégeage des ions dans une zone

d'espace définie, sous l'effet d'un champ électrostatique complexe, et l'envoi séquentiel de ces ions vers un détecteur, suivant leur rapport masse sur charge.

- Le **spectromètre à temps de vol** vise à mesurer la vitesse des ions introduits, de manière contrôlée, dans une zone d'espace soumise à un champ électrique, le temps nécessaire aux ions pour parcourir une distance donnée étant relié à leur rapport masse sur charge.
- L'**analyseur à secteur magnétique** consiste à contraindre les ions à suivre une trajectoire spécifique (dépendant de leur rapport masse sur charge), principalement sous l'effet d'un champ magnétique parfaitement contrôlé, avant d'atteindre un détecteur qui en assure la détection et la quantification.
- La **résonance cyclotronique ionique (ICR)** permet de maintenir des ions dans une zone d'espace où siège un champ magnétique intense et où chaque ion décrit des trajectoires circulaires dont les caractéristiques (rayon) dépendent de leur rapport masse sur charge. La fréquence de rotation de chacun de ces ions se mesure par une interrogation électromagnétique et permet, par **transformée de Fourier**, de déterminer très précisée-

ment la valeur du rapport masse sur charge de chaque ion.

- L'**orbitrap** consiste à faire tourner et osciller des ions, sous l'action d'un champ électrique complexe, autour d'une électrode en forme de fuseau musculaire. Les fréquences de rotation et d'oscillation de chacun de ces ions sont mesurées par une interrogation électromagnétique et permettent, par transformée de Fourier, de déterminer très précisément la valeur du rapport masse sur charge de chaque ion.
- Le **spectromètre de mobilité d'ions** repose sur la mesure de la vitesse de déplacement des ions soumis à l'action accélératrice d'un champ électrique et à l'effet freinant d'un gaz à pression atmosphérique. La mesure du temps de transit des ions entre la zone d'introduction et le détecteur d'ions permet de déterminer leur nature chimique (avec plus ou moins de justesse selon la précision des mesures de temps).

Dans chacun des cas présentés précédemment, un détecteur transformera *in fine* les ions en signal électrique, lequel sera amplifié avant d'être traité par informatique.