THÈSE

Présentée

Devant l'UNIVERSITÉ CLAUDE BERNARD – LYON 1

ÉCOLE DOCTORALE DE CHIMIE

En vue de l'obtention du

DIPLOME DE DOCTORAT

(arrêté du 7 août 2006)

Spécialité : CHIMIE ANALYTIQUE

Présentée et soutenue publiquement le 18 Octobre 2012

Par

Anthony BRUCHET

Miniaturisation de la séparation Uranium / Plutonium / Produits de Fission : conception d'un microsystème « Lab-on-cd » et application

JURY :

Président	Pr. Didier LEONARD	(Université Lyon 1)
Rapporteur	Pr. Chantal LARPENT	(Institut Lavoisier, Versailles)
Rapporteur	DR. Jean-Louis VIOVY	(Institut Curie, Paris)
Examinateur	Dr. Catherine LANDESMAN	(SUBATECH, Nantes)
Directeur de thèse	Pr. Jérôme RANDON	(Université Lyon 1)
Examinateur	Dr. Vincent DUGAS	(Université Lyon 1)
Examinateur	Dr. Clarisse MARIET	(CEA, Saclay)

Directeur de thèse : Jérôme RANDON

Co-encadrants : Clarisse MARIET (CEA, Saclay), Florence GOUTELARD (CEA, Saclay) et Vincent DUGAS (Université Lyon 1)

"La théorie, c'est quand on sait tout et que rien ne fonctionne. La pratique, c'est quand tout fonctionne et que personne ne sait pourquoi. Si la pratique et la théorie sont réunies, rien ne fonctionne et on ne sait pas pourquoi."

Albert Einstein

Remerciements

Illustration parfaite de l'interdisciplinarité inhérente aux études microfluidiques, ce travail a pu être mené grâce à une étroite collaboration entre quatre laboratoires : le Laboratoire de développements Analytiques Nucléaires, Isotopiques et Elémentaires (LANIE), le Laboratoire d'Analyse et Soutien aux Exploitants (LASE) appartenant tous deux au même service du CEA Saclay, le Service d'Etudes Analytiques et de Réactivité des Surfaces (SEARS), l'Equipe TECHnique de SEParations de l'Institut des Sciences Analytiques de Lyon (ISA), et le laboratoire Macromolécules et Microsystèmes en Biologie et Médecine (MMBM) de l'Institut Curie.

Je tiens à remercier Jérôme Randon, Florence Goutelard, Thomas Vercouter et Jean-Louis Viovy, respectivement directeurs de l'équipe TECHSEP à l'ISA, et des laboratoires LASE, LANIE et MMBM pour m'avoir accueilli au sein de leur équipe et donné les moyens scientifiques et financiers de mener ce travail dans les meilleures conditions.

Je pense aussi aux responsables du Département de Physico-Chimie du CEA-Saclay : Stéphane Sarrade, Xavier Vitart, Frédéric Chartier ainsi qu'aux Chefs de service Thierry Advocat et Gilles Moutiers.

J'exprime également toute ma reconnaissance aux professeurs Chantal Larpent (Institut Lavoisier, Université de Versailles) et Jean Louis Viovy pour avoir accepté d'évaluer ce travail en tant que rapporteurs. Je tiens également à remercier Monsieur Didier Léonard et Madame Catherine Landesman d'avoir accepté de faire partie du jury respectivement en tant que président et examinateur.

Je remercie Messieurs Jérôme Randon et Vincent Dugas pour leurs conseils durant ces trois années de thèse. Je tiens également à remercier madame Florence Goutelard pour m'avoir fait confiance quant à la conduite de cette thèse mais également pour sa présence et son soutien. Enfin, je tiens à remercier chaleureusement Madame Clarisse Mariet, leader de la « microfluidic' team » du LANIE, pour son investissement, son soutien et sa pugnacité à défendre ce travail. Un grand Merci pour tout Clarisse.

Je tiens à associer à ce travail l'ensemble des personnes avec qui j'ai eu la chance de travailler, dans un premier temps à Lyon : merci à Monsieur Yoann Ladner pour nos discussions passionnées au sujet des monolithes et notre travail en commun, grâce auquel un second brevet a pu être déposé, suite à sa rédaction par Madame Karine Faure, que je tiens à remercier par la même occasion. J'exprime aussi tous mes remerciements à Monsieur Laurent Malaquin et Madame Stéphanie Descroix du MMBM pour m'avoir fait profiter de leurs

connaissances des techniques de micro-fabrication et pour leur intérêt constant pour ce projet ainsi qu'aux personnels de l'atelier du laboratoire pour leur remarquable travail. À quand les lab-on-CD à l'Institut Curie ? Une mention spéciale pour Vélan, mon coach en « hot-embossing », grâce à qui j'ai pu maîtriser la fabrication des microsystèmes en COC. J'espère vraiment pouvoir un jour retravailler avec vous. Mes remerciements s'adressent aussi à tout le personnel du LASE pour m'avoir accueilli, aidé et prêté une Sorbonne (malgré un planning souvent serré, merci Laurence), je pense notamment à Monsieur Thomas Grangeon, Mademoiselle Christelle Colin, Monsieur Pascal Fichet et Mademoiselle Elodie Laporte.

Merci également à Madame Céline Caussignac du LANIE pour avoir pris de son temps pour faire des mesures TIMS, à Monsieur Romain Dagnélie et Mademoiselle Leslie Lestini du L3MR pour m'avoir permis de réaliser des mesures BET ainsi qu'à Monsieur Hervé Delépine pour les mesures Infra-Rouge.

« Le petit Bruchet » tient aussi à remercier Ginette Merchiers, secrétaire du LASE, ainsi que Martine Rousseau et Maryline Bonnefoi, secrétaires du LANIE et du LSA.

Un grand merci aussi au personnel du LANIE et du LSA, Gérard Crétier, Claire Demesmay, Alain Berthod, Florence Lagarde, Sabine Heinisch, René Brennetot, Guillaume Stadelmann, Hélène Isnard, Anthony Nonell et Michel Aubert.

J'aimerais exprimer toute ma reconnaissance à Monsieur Ivan Laszak, mon prof' personnel d'Anglais, pour son aide et son soutien, sans lesquels je n'aurai très certainement pas la chance de découvrir l'Université de Berkeley : Tony Montana is waiting for you in SF !

Au moment où je termine ce manuscrit j'aimerais aussi remercier les stagiaires avec qui j'ai eu la chance de travailler : Marion, Bruno, Patxi et plus spécialement Gwen qui a su résister à un an et demi de synthèse de monolithes et surtout à la benzophénone. Je lui souhaite une grande réussite dans sa thèse.

Dans un registre plus personnel, je tiens particulièrement à remercier mes amis doctorants du LSA : Lolo, Yoann, Naz' et Thuy avec qui j'ai passé de mémorables moments dans nos fameuses soirées Berthom / Tex Mex. Merci pour leur gentillesse, leur générosité et leur joie de vivre. Merci aussi à l'ensemble des doctorants et postdoc que j'ai côtoyé au LSA comme au LANIE, Richard, Magguy, Joseph, Racha, Amélie, Pauline, Sandrine, Sacha, Leslie et biensûr Alex (mon « professeur » d'ICP-MS, à quand le « ppQuem » ?).

Enfin, j'ai une pensée toute particulière pour mes parents, mon frère et surtout Mélanie pour son soutien au quotidien, ses précieux conseils et, de temps en temps, ses petits plats. J'aimerais terminer ces remerciements en ayant une pensée pour mon grand-père, que de chemin parcouru depuis mes premiers bulletins de notes …

Principales notations

Notations et acronymes

ACN	Acétonitrile
AGX	Résines d'échange d'anions (Biorad)
AIBN	2,2'-azobisisobutyronitrile
BP	Benzophénone
CPL	Chromatographie en Phase Liquide
COC	Copolymères d'Oléfines Cycliques
CV	Coefficient de variation
DEA	Diéthylamine
DMSO	Diméthyl sulfoxide
DVB	DiVinyl Benzène
EDMA	Ethylène glycol DiMéthacrylate
FTIR - ATR	Spectroscopie Infra-rouge à Transformée de Fourier en mode Réflexion Totale Atténuée
GMA	Glycidyl Méthacrylate
HCl	Acide chlorhydrique
HI	Acide iodhydrique
HNO_3	Acide nitrique
ICP-MS	Spectrométrie de masse à ionisation plasma par couplage inductif
MEB	Microscopie Electronique à Balayage
PC	PolyCarbonate
PDMS	PolyDiMéthyl Siloxane
PE	PolyEthylène
PEEK	PolyEther Ether Ketone
PEGMA	Polyéthylène glycol Méthacrylate
PF	Produits de Fission (incluant principalement les lanthanides)
PMMA	PolyMéthyl Méthacrylate
PS	Polystyrène
σ	Ecart type
TEA	Triéthylamine
TIMS	Spectrométrie de Masse multi-collection à thermo-ionisation
THF	Tétrahydrofurane
UOx	Combustible nucléaire composé d'oxydes d'Uranium

Quantités

K_0	Perméabilité	m²
K_F	Perméabilité spécifique	m²
ε_{ext}	Porosité externe	
ε_T	Porosité totale	
ρ_{app}	Masse volumique apparente du monolithe	$g.mL^{-1}$
υ_0	Vitesse linéaire déterminée avec un soluté non-retenu	$mm.s^{-1}$
V_m	Volume mort d'une colonne chromatographique	nL ou µL
D	Débit	$nL.min^{-1}$
ρ	Masse volumique	$g.mL^{-1}$
η	Viscosité dynamique	Pa.s
ΔP	Perte de charge au travers d'une colonne chromatographique	Pa ou bar
$F_{centrifuge}$	Force centrifuge	
$F_{coriolis}$	Force de Coriolis	
ω	Vitesse angulaire	$tr.min^{-1}$ ou $rad.s^{-1}$
D_h	Diamètre hydraulique	m
r_h	Rayon hydraulique	m
CE_a	Capacité d'Echange d'Anions	$\mu mol.g^{-1}$ ou $nmol.\mu L^{-1}$
K_D	Coefficient de distribution	$mL.g^{-1}$
k'	Facteur de rétention	
$n_{inj}(X)$	Quantité injectée d'élément X	nmol
$n_{inj,max}$ (X)	Quantité injectée maximale d'élément X	nmol
n_{TIMS} (X)	Quantité minimale analysable en TIMS d'élément X	ng
[X]	Concentration d'élément X	$mol.L^{-1}$ ou $g.L^{-1}$
$[X]_{max}$	Concentration maximale injectable d'élément X	$mol.L^{-1}$ ou $g.L^{-1}$
V_{inj}	Volume d'injection	µL
$V_{inj,\ min}$	Volume minimum à injecter	µL
$V_{inj,\ limite}$	Volume d'injection limite	µL
$V_{inj,\ max}$	Volume maximal injectable	µL
HEPT	Hauteur Equivalent à un Plateau Théorique	µm
H_{min}	Hauteur minimale Equivalente à un Plateau Théorique	µm
k	Constante cinétique de réaction	s^{-1}
E_a	Energie d'activation de la réaction	$kJ.mol^{-1}$

Table des matières

1 CONTEXTE ET ENJEUX DU PROJET 13

2 ETUDE BIBLIOGRAPHIQUE 19

2.1 Séparation « Uranium / Plutonium / Produits de fission » 20
2.1.1 Séparation U/Pu/PF par chromatographie d'échange d'anions 21
2.1.2 Evolutions apportées à la séparation U/Pu/PF 28
2.1.3 Choix de la méthode chromatographique adaptée à l'implantation de la séparation U/Pu/PF en microsystème 32

2.2 Microsystèmes séparatifs 33
2.2.1 Historique 33
2.2.2 Microsystèmes séparatifs appliqués à la radiochimie 34
2.2.3 Microsystèmes à base de silicium et de verre 35
2.2.4 Microsystèmes en plastiques 37
2.2.5 Choix du matériau plastique adapté à la fabrication du microsystème séparatif 42
2.2.6 Gestion fluidique 43
2.2.7 Phases stationnaires intégrées en microsystèmes 45
2.2.8 Choix relatifs à la conception et la fabrication du microsystème de séparation U/Pu/PF 50

2.3 Phases stationnaires monolithiques 52
2.3.1 Propriétés générales des monolithes 52
2.3.2 Définition du monolithe adapté au projet 54
2.3.3 Composition chimique et voies de synthèse des monolithes organiques 55
2.3.4 Optimisation de la synthèse des monolithes polyméthacrylates pour la chromatographie liquide 60
2.3.5 Optimisation de la synthèse des monolithes polyméthacrylates pour la chromatographie liquide 76
2.3.6 Fonctionnalisation des monolithes polyméthacrylates 76

2.4 Conclusion et axes de développement 82

3 DEVELOPPEMENT DE LA PHASE STATIONNAIRE MONOLITHIQUE 85

3.1 Les monolithes polyméthacrylates en chromatographie d'échange d'ions : méthodologie de développement 86

3.2 Matériels et méthodes 87
3.2.1 Réactifs chimiques 87
3.2.2 Monolithes au format « macro » : synthèse et fonctionnalisation 87
3.2.3 Monolithe au format « macro » : caractérisations 88
3.2.4 Colonnes capillaires monolithiques : synthèse et fonctionnalisation 89
3.2.5 Colonnes capillaires monolithiques : caractérisations 89

3.3 Optimisation de la structure poreuse du monolithe poly(GMA-co-EDMA) 92
3.3.1 Méthodologie 92
3.3.2 Optimisation de l'initiation photochimique de la polymérisation du monolithe poly(GMA-co-EDMA) 93

3.4 Fonctionnalisation du monolithe poly(GMA-co-EDMA) 99
3.4.1 Réactivité « époxy – amine » : étude comparative des greffages de la DEA et de la TEA 100
3.4.2 Réactivité « époxy – amine » : optimisation du greffage de la TEA 105
3.4.3 Conclusions 107

3.5 Synthèse et fonctionnalisation du monolithe en colonnes capillaires. Application à la chromatographie d'échange d'anions 108
3.5.1 Capacité d'échange anionique (CE_a) obtenue en colonne capillaire 108
3.5.2 Performances des colonnes capillaires monolithiques fonctionnalisées en nano-chromatographie d'échange d'anions 109

3.6 Résistance chimique du monolithe poly(GMA-co-EDMA) fonctionnalisé 111

3.7 Conclusions 114

4 APPLICATION DES COLONNES CAPILLAIRES MONOLITHIQUES A LA SEPARATION U/PU/PF EN MILIEU CHLORHYDRIQUE 115

4.1 Objectifs 116

4.2 Matériels et méthodes 116
4.2.1 Réactifs chimiques 116
4.2.2 Préparation des échantillons 116
4.2.3 Mesure des coefficients de distribution (K_D) des éléments d'intérêt sur le monolithe et sur les résines AGX 117
4.2.4 Mise en œuvre de la séparation U/Pu/PF en colonnes capillaires monolithiques 118
4.2.5 Quantification de l'Europium et de l'Uranium 119
4.2.6 Quantification du Plutonium 119

4.3 Application du protocole de séparation U/Pu/PF actuel sur les colonnes capillaires monolithiques 120
4.3.1 Etude du comportement chromatographique du Plutonium (III) et (IV) 122
4.3.2 Etude du comportement chromatographique des PF 125
4.3.3 Etude du comportement chromatographique de l'U (VI) 126
4.3.4 Conclusion : développement d'une nouvelle stratégie de séparation 128

4.4 Etude du profil d'élution de l'Uranium (VI) en milieu HCl 9,5 M sur les colonnes capillaires monolithiques 129
4.4.1 Expression de la rétention de l'U (VI) et mise en place d'un calcul de simulation du profil d'élution 129
4.4.2 Validation du calcul de simulation et limites du modèle 132
4.4.3 Influence du volume d'injection sur la co-élution PF – U (VI) 134

4.5 Domaine d'utilisation des colonnes capillaires monolithiques pour la séparation U/Pu/PF 135
4.5.1 Qualification de la co-élution U (VI) – PF (III) 135
4.5.2 Calcul des limites du domaine d'utilisation 136
4.5.3 Compatibilité de la dimension des colonnes capillaires monolithiques avec la séparation U/Pu/PF sur échantillon réel 139

4.6 Faisabilité de la séparation U/Pu/PF en colonne capillaire monolithique 140

4.7 Conclusion 144

5 INTEGRATION DE LA PHASE STATIONNAIRE MONOLITHIQUE A L'INTERIEUR DE MICRO-CANAUX EN COC 146

5.1 Matériels et méthodes 147
5.1.1 Fabrication des microsystèmes en COC (microsystèmes M1) 147
5.1.2 Fabrication du moule 147
5.1.3 Fabrication du microsystème par pressage à chaud 148
5.1.4 Usinage et connexions 149
5.1.5 Etape de fermeture des micro-canaux (collage d'un capot) 150
5.1.6 Photopolymérisation du monolithe à l'intérieur des micro-canaux des microsystèmes M1 150
5.1.7 Caractérisation du monolithe 151
5.1.8 Fonctionnalisation du monolithe et mesure de la capacité d'échange d'anions 151

5.2 Etat de l'art des méthodes de synthèse de monolithes organiques à l'intérieur de micro-canaux en COC 152

5.3 Conception d'une nouvelle méthode pour l'ancrage et la synthèse simultanée du monolithe poly(GMA-co-EDMA) à l'intérieur des micro-canaux en COC 155
5.3.1 Vérification de la réactivité de l'AIBN vis-à-vis du COC 156
5.3.2 Développement du protocole de synthèse et d'ancrage simultané du monolithe 158
5.3.3 Impact de la géométrie du micro-canal sur la qualité de la synthèse du monolithe 161

5.4 Fonctionnalisation du monolithe synthétisé à l'intérieur des microsystèmes M1 162

5.5 Conclusion 163

6 MICROSYSTEME « LAB-ON-CD » DEDIE A LA SEPARATION U/PU/PF 165

6.1 Historique et intérêts des lab-on-CD 166

6.2 Ecoulements induits par centrifugation 167
6.2.1 Expression du débit induit par la force centrifuge à l'intérieur d'un canal vide de section rectangulaire 168
6.2.2 Expression du débit induit par la force centrifuge à l'intérieur d'un canal de section rectangulaire, rempli de particules poreuses 170

6.3 Opérations fluidiques intégrables sur lab-on-CD 172

6.3.1 Contrôle de l'écoulement par l'intermédiaire de vannes 172
6.3.2 Mesure volumétrique (injection calibrée en volume) 174
6.3.3 Mélangeur 174
6.3.4 Orientation de l'écoulement des liquides....175
6.3.5 Conclusions....176

6.4 Conception du prototype lab-on-CD.... 176
6.4.1 Choix du moteur et conception de la plateforme lab-on-CD 176
6.4.2 Conception des microsystèmes lab-on-CD (prototypes M2) : dimensionnement..178
6.4.3 Fonctionnement des microsystèmes lab-on-CD....182

6.5 Matériels et méthodes.... 183
6.5.1 Fabrication des microsystèmes lab-on-CD (prototypes M2) 183
6.5.2 Synthèse et fonctionnalisation du monolithe au sein des microsystèmes M2.....184
6.5.3 Mesure du débit induit par la force centrifuge au travers de la colonne monolithique187

6.6 Synthèse localisée du monolithe et fonctionnalisation.... 187

6.7 Modélisation de l'écoulement induit par la force centrifuge au travers de la colonne monolithique.... 190
6.7.1 Cas du monolithe non-fonctionnalisé 190
6.7.2 Cas du monolithe fonctionnalisé....194
6.7.3 Conclusions....195

6.8 Mise en œuvre des lab-on-CD 196

6.9 Conclusion.... 198

7 CONCLUSIONS ET PERSPECTIVES.... 200

8 REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES.... 204

9 ANNEXES.... 226

***9.1 Etude et optimisation de la réaction d'addition nucléophile de la TriEthylAmine sur les fonctions époxy du monolithe poly(GMA-co-EDMA)*.... 227**

***9.2 Mesures par spectrométrie de masse à ionisation plasma par couplage inductif (ICP-MS)* 232**

***9.3 Mesures radiométriques* 235**

***9.4 Simulation du profil d'élution de l'U (VI) en milieu HCl 9,5 M sur les colonnes monolithiques (capillaires et microsystèmes)*.... 237**

BREVETS, PUBLICATIONS ET COMMUNICATIONS 242

RESUME 244

ABSTRACT.... 245

Chapitre

1 Contexte et enjeux du projet

L'analyse de la composition chimique d'un combustible nucléaire permet d'alimenter et/ou préciser les données nucléaires de base telle que la section efficace de capture neutronique des radionucléides nécessaires aux codes de calculs neutroniques. L'objectif est l'amélioration continue des performances des combustibles nucléaires UOx et MOx actuellement utilisés dans le parc de réacteurs à eau pressurisée (REP) mais aussi l'étude du comportement de nouveaux combustibles ou de cibles de transmutation. Ainsi, le Laboratoire de développement Analytique Nucléaire, Isotopique et Elémentaire (LANIE) apporte son expertise à l'analyse de la composition élémentaire et isotopique des combustibles nucléaires usés.

Dans ce cadre, la justesse des résultats et l'incertitude analytique associée doivent être continuellement améliorées, aussi le LANIE s'est inscrit dans une démarche de mise au point continuelle de techniques et de protocoles analytiques de pointe. Ces exigences sont atteintes grâce à l'utilisation de spectromètres de masse à multi-collection. La spécificité de tels appareils est de pouvoir enregistrer simultanément le signal correspondant à plusieurs isotopes d'un même élément (différence en masse), quand les appareils plus conventionnels enregistrent ces signaux de manière séquentielle (spectromètre quadripolaire par exemple). La multi-collection permet alors d'obtenir des incertitudes sur la quantification de chaque isotope de l'ordre du pour-mille (‰), compatibles avec les incertitudes nécessaires aux codes de calculs neutroniques.

Néanmoins, de telles analyses ne peuvent être conduites que sur des échantillons mono-élémentaires afin de s'affranchir de l'éventuelle contribution au signal enregistré d'interférents dits isobariques, c'est-à-dire de radionucléides de natures chimiques différentes mais présentant la même masse. C'est pourquoi la fiabilité des résultats de spectrométrie de masse reste aujourd'hui garantie par la mise en œuvre, au préalable, de techniques séparatives poussées afin d'obtenir des échantillons mono-élémentaires de grande pureté. Or, qu'il soit à base d'oxyde d'Uranium (UOx) ou d'oxydes mixtes Uranium-Plutonium (MOx), le combustible nucléaire dit « usé » présente à l'issue de son séjour en réacteur, une diversité chimique extrême : la transformation de l'Uranium et du Plutonium, suite aux réactions nucléaires de capture et de fission, conduit respectivement à la formation de radionucléides dits transuraniens (de numéro atomique supérieure à celui de l'Uranium : Pu, Am, Cm, Np) et

de radionucléides appelés produits de fission (lanthanides, Cs, Sr, etc…). Par ailleurs, la gamme dynamique de concentrations des divers radionucléides présents s'étend de quelques grammes par litre (pour l'Uranium) à quelques dizaines ou centaines de microgrammes par litre (pour certains produits de fission). Le Plutonium est situé dans une gamme intermédiaire de concentrations, variant, suivant le type de combustible, de quelques milligrammes par litre à quelques dizaines de milligrammes par litre. L'enjeu est donc de mettre au point des techniques séparatives permettant de composer à la fois avec la complexité chimique de l'échantillon mais aussi avec la gamme dynamique de concentrations rencontrée.

L'analyse du combustible nucléaire usé débute tout d'abord, après un séjour plus ou moins long au sein d'un réacteur de recherche ou de production électrique, par son refroidissement en piscine. Par la suite certains barreaux de combustibles sont choisis et transférés à l'installation ATALANTE du CEA – Marcoule où ils sont alors découpés en tronçons de quelques centimètres de longueur (environ 16 g). Effectuée en cellule blindée, cette opération est suivie de la mise en solution de ces tronçons métalliques dans un milieu acide afin d'obtenir des échantillons contenant les actinides majeurs (U, Pu) et mineurs (Am, Cm, Np), les produits de fission et certains produits d'activation. Finalement, le LANIE reçoit entre 4 et 6 flacons contenant chacun quelques milli-litres d'échantillon en milieu acide nitrique. Le processus analytique global fait intervenir trois étapes principales (figure 1.1) :

1. la séparation, par chromatographie gravitaire d'échange d'anions, et la collection de trois fractions contenant respectivement : l'Uranium, le Plutonium et l'ensemble des autres éléments présents : lanthanides, actinides mineurs (Am, Cm, Np) et différents autres produits de fission comme le Cs ou le Sr. Dans la suite du manuscrit, et afin de simplifier la compréhension, cette séparation sera nommée « séparation U/Pu/PF »,
2. la séparation par chromatographie en phase liquide d'échange de cations, puis la collecte des éléments constituant la troisième fraction,
3. l'analyse isotopique par spectrométrie de masse à thermo-ionisation (TIMS) des fractions mono-élémentaires recueillies.

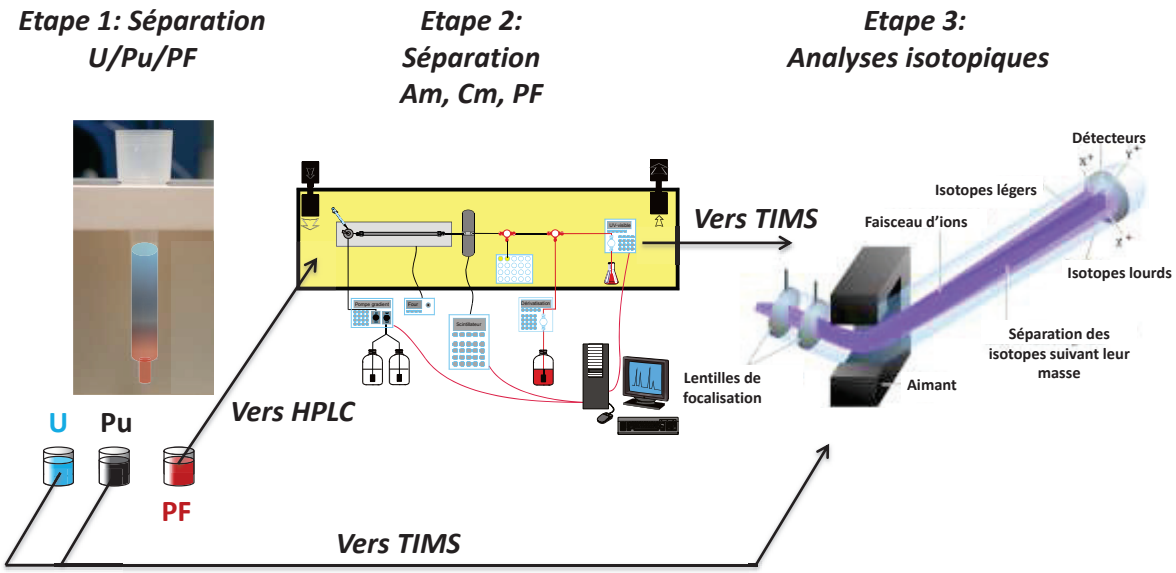


Figure 1-1 : Processus analytique d'analyse d'un échantillon de combustible nucléaire usé

Si le protocole développé par le LANIE est satisfaisant d'un point de vue analytique, il s'accompagne d'une succession d'étapes de préparation de l'échantillon et de séparations chimiques présentant un nombre important de contraintes spécifiques liées à l'échantillon (très irradiant), à la précision exigée sur les résultats (contamination croisée) ou à la gestion de la quantité et de la nature des déchets produits (suivant leur activité et le type de radionucléides). Par ailleurs, ces étapes, essentiellement manuelles, impliquent la présence prolongée (quelques heures pour les séparations chromatographiques) d'un expérimentateur, qui est alors soumis à une irradiation significative malgré un travail en boite à gants (notamment aux rayonnements gamma). C'est pourquoi le LANIE s'est engagé dans la conception d'outils analytiques miniaturisés, simples d'utilisation, automatisables et jetables. L'utilisation de tels outils permettrait en effet de réduire le temps global d'analyse (avec par exemple la parallélisation des analyses), d'envisager des gains analytiques, mais aussi de diminuer la consommation d'échantillons radioactifs et la production de déchets solides et liquides en fin de cycle analytique [1] (permettant de réduire le coût de fonctionnement du laboratoire). Du point de vue de la radioprotection, la diminution du volume d'échantillon à traiter d'un facteur 1000 par exemple conduirait à la diminution quasi-proportionnelle de l'activité manipulée par l'expérimentateur et donc d'envisager l'utilisation de dispositifs de protection moins contraignants : en passant d'une boite à gants à une hotte ventilée [2].

Ce projet fait suite à deux précédentes thèses soutenues respectivement en 2010 et 2011 par Laurent Vio [3] et Sébastien Mialle [4] et s'inscrit dans une démarche du LANIE visant à miniaturiser l'ensemble des séparations chimiques du processus d'analyse des combustibles usés. Ainsi, Laurent Vio a conçu une plateforme jetable basée sur l'isotachophorèse (ITP) pour la séparation et la caractérisation isotopique des lanthanides par

spectrométrie de masse à ionisation plasma (figure 1-1, étape 2). Sébastien Mialle a quant à lui démontré la faisabilité de la réduction des quantités minimales analysables par TIMS (figure 1-1, étape 3) jusqu'à quelques nanogrammes pour les éléments de la série des lanthanides et quelques dizaines de nanogrammes pour l'Uranium.

Notre étude concerne, cette fois, la première étape du processus d'analyse du combustible usé : la séparation chromatographique de l'Uranium et du Plutonium, du reste des éléments présents dans l'échantillon. L'enjeu est de concevoir un dispositif miniaturisé jetable (permettant d'éviter les contaminations croisées) assurant la séparation puis la collecte des trois fractions d'intérêt, purifiées, en tenant compte des contraintes imposées à la fois par l'échantillon, par les performances analytiques souhaitées et par la gestion des déchets produits. Le microsystème développé devra permettre de réduire le volume de déchets solides et surtout liquides produits au cours du processus analytique.

L'étude commence par une partie bibliographique (chapitre 2) détaillant dans un premier temps la chimie de séparation U/Pu/PF la plus adaptée à la miniaturisation. Les contraintes imposées par cette chimie permettront dans un second temps de dégager les solutions technologiques les plus pertinentes pour à la fois la fabrication du microsystème et l'intégration d'une phase stationnaire en micro-canal.

Finalement, la conception du microsystème a été abordée suivant trois axes :

1. le développement d'une phase stationnaire d'échange d'anions intégrable au sein d'un système miniaturisé,
2. le développement de la chimie de séparation U/Pu/PF en utilisant une colonne de séparation miniaturisée contenant la nouvelle phase stationnaire,
3. la conception du microsystème (choix du matériau, géométrie des micro-canaux, etc …).

Ces trois axes de développement sont amenés à évoluer continuellement, en fonction des choix effectués par rapport au cahier des charges établi, au fur-et-à-mesure de la conception du microsystème comme l'illustre la figure 1.2.

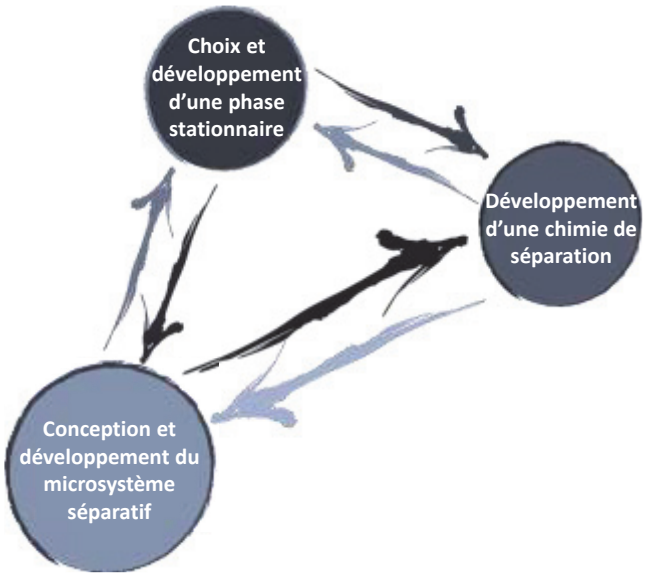


Figure 1-2 : Méthodologie de développement du microsystème de séparation U/Pu/PF

La seconde partie détaille plus spécifiquement les développements réalisés pour la conception du microsystème. Tout d'abord le chapitre 3 présente le développement d'une phase stationnaire échangeuse d'anions de type monolithique, facilement intégrable en micro-colonnes. La mise en œuvre de la séparation U/Pu/PF sur ces colonnes est démontrée au chapitre 4, suite à une première étude des propriétés rétentives du monolithe vis-à-vis des divers éléments d'intérêts. Les chapitres 5 et 6 présentent finalement la conception du microsystème de séparation U/Pu/PF avec dans un premier temps l'intégration de la phase stationnaire monolithique, puis dans un second temps, la conception et la fabrication d'un microsystème mettant en œuvre une gestion originale des fluides et permettant de conduire, de façon automatisable et simultanée, la séparation de certains produits de fission d'une matrice Uranium typique d'un combustible UOx.

Chapitre

2 Etude bibliographique

Basée sur un cahier des charges établi au début de chaque partie, l'étude bibliographique suivante a pour objectif de définir les orientations stratégiques de la thèse concernant les trois axes de développement :

- chimie de séparation U/Pu/PF,
- conception du microsystème séparatif,
- intégration d'une phase stationnaire échangeuse d'anions en microsystème.

2.1 Séparation « Uranium / Plutonium / Produits de fission »

La séparation U/Pu/PF constitue la première étape du processus d'analyse global d'un combustible usé. L'objectif est d'isoler l'Uranium et le Plutonium des différents produits de fission et d'activation afin :

- d'avoir des fractions mono-élémentaires ne contenant pas de produit de fission pouvant fausser l'analyse isotopique par spectrométrie de masse à thermo-ionisation [4],
- de s'affranchir des interférences isobariques Uranium / Plutonium (par exemple ^{238}U et ^{238}Pu) faussant l'analyse isotopique.

Les protocoles de séparation actuellement utilisés sont longs et font intervenir plusieurs étapes de préparation de l'échantillon (traitements chimiques, changements de milieux), avant la séparation proprement dite ; ceci en raison des contraintes suivantes :

- la complexité extrême de l'échantillon : Uranium, Plutonium, Actinides mineurs (Am, Cm), produits de fission (Lanthanides, Cs, Sr, …) et d'activation (Fe, Ni, …),
- la gamme dynamique de concentrations rencontrées : de plusieurs g/L jusqu'à 10^{-4} µg/L,
- la diversité des degrés d'oxydation en équilibre pour de nombreux éléments (notamment Plutonium),
- les milieux de séparation utilisés : milieux acides nitrique ou chlorhydrique plusieurs fois molaires,
- la diversité des espèces complexées (anioniques et/ou cationiques) de ces éléments, rencontrées en solution acide,
- les contraintes chimiques imposées pour la gestion des déchets : le principe CHON impose de n'utiliser que des molécules constituées de Carbone, Hydrogène, Oxygène et Azote, facilement incinérables et le principe ALARA pour « As Low As Reasonably Achievable » impose de n'utiliser que les quantités minimales de réactifs.

Les premiers travaux présentant la mise en œuvre de procédés de séparation similaires concernaient la purification du Plutonium dans une matrice chargée d'Uranium dans le but d'obtenir une quantité suffisante de Plutonium pour la fabrication de bombes nucléaires (projet Manhattan). C'est à partir de cette période (début des années 1940) et jusqu'au milieu des années 1960 que les techniques de séparation se sont fortement développées, accompagnées de nombreuses avancées dans la compréhension de la chimie de ces éléments dans les milieux acides fortement concentrés. La technique de choix qui a alors émergé est la

chromatographie d'échange d'anions [5], avec l'utilisation de résines ammonium quaternaire de type Dowex (commercialisées par la société Dow Chemical), puis de type AGX (Bio-Rad). Il a alors été possible d'isoler deux fractions d'Uranium et de Plutonium d'une troisième fraction regroupant les produits de fission et d'activation (séparation nommée dans la suite du manuscrit « séparation U/Pu/PF »). Le principe de séparation repose sur la formation spécifique de complexes anioniques de nitrates ou de chlorures d'Uranium et de Plutonium en milieux acides fortement concentrés (plusieurs moles par litre) quand les autres éléments sont sous formes cationiques [6].

A l'échelle analytique, comme à l'échelle industrielle, la séparation U/Pu/PF est le plus souvent conduite en milieu nitrique [7], en raison du caractère corrosif de l'acide chlorhydrique. C'est du reste sur la formation de complexes de nitrates d'Uranium et de Plutonium que repose le procédé PUREX utilisé à l'usine de la Hague pour le recyclage des combustibles UOx [8]. Néanmoins, dans certains cas, la chimie en milieu est préférable (notamment à l'échelle analytique) afin d'obtenir une plus grande pureté des différentes fractions [9].

Lors de la séparation, l'adsorption puis l'élution successives des différentes espèces sont contrôlées par la nature de l'acide utilisé, sa concentration, mais aussi par le degré d'oxydation de l'élément considéré [10, 11]. C'est pourquoi, seule la compréhension poussée de la chimie en solution de l'Uranium, du Plutonium, mais aussi celle des différents produits de fission et d'activation dans les milieux nitriques et chlorhydriques permet de définir le protocole de séparation adéquat. Dans le cadre de cette thèse, le protocole doit satisfaire non seulement aux contraintes de puretés de fractions exigées pour les analyses par spectrométrie de masse mais aussi aux contraintes imposées par une mise en œuvre à une échelle miniaturisée. Ainsi, après avoir détaillé la chimie en solution acide des différents éléments d'intérêt, cette partie permettra de dégager le protocole de séparation le plus adapté à l'étude.

Dans la suite du texte, et afin de simplifier l'écriture, nous utiliserons les termes « milieu HNO_3 » et « milieu HCl » pour qualifier les milieux acide nitrique et acide chlorhydrique respectivement.

2.1.1 Séparation U/Pu/PF par chromatographie d'échange d'anions

De nombreux protocoles de séparation de l'Uranium et du Plutonium par chromatographie d'échange d'anions ont été décrits dans la littérature, en milieu HNO_3 ou en milieu HCl, comme l'illustre la revue de Vajda *et al.* [12]. Les paragraphes suivants s'attachent à décrire les chimies séparatives les plus fréquemment mises en œuvre jusqu'à aujourd'hui.

2.1.1.1 Préparation de l'échantillon avant séparation

Il est très souvent nécessaire d'effectuer des traitements chimiques de l'échantillon de combustible usé préalablement à toute séparation chromatographique. Ces traitements font intervenir des changements de milieux et visent principalement à maîtriser les degrés d'oxydation des éléments présents dans l'échantillon.

a. Lanthanides, actinides mineurs, produits d'activation

En milieu aqueux HNO_3 ou HCl, le degré d'oxydation stable des lanthanides ainsi que des actinides mineurs (Am, Cm) est le degré (III). Ces cations ne formant de complexe anionique, ni en milieu nitrique, ni en milieu chlorhydrique [6], ne sont pas retenus par chromatographie d'échange d'anions, sont élués directement, et récupérés dans une seule et même fraction [13]. Il en va de même pour les autres cations métalliques (autres produits de fission et produits d'activation) présents aux degrés d'oxydation (I) et (II). Dans le cas de l'analyse d'un combustible au laboratoire, la fraction collectée fera par la suite l'objet d'une seconde séparation chimique (étape 2, figure 1-1) afin d'isoler certains éléments d'intérêt pour leur analyse élémentaire et isotopique (Eu, Nd, Gd, Sm, Sr, Cs, Am et Cm) [3] par spectrométrie de masse.

b. Uranium

L'Uranium en solution aqueuse acide peut se trouver aux degrés d'oxydation (III) à (VI). Néanmoins, les degrés d'oxydation stables sont (IV) et (VI) avec la formation des ions aquo $U(H_2O)_n^{4+}$ et oxo UO_2^{2+} respectivement [14]. Le degré oxydé (V) ne présente qu'une faible stabilité en milieu aqueux du fait de sa forte tendance à se dismuter pour former les degrés (IV) et (VI) [15]. Le degré d'oxydation (VI) de l'Uranium est prépondérant en solution aqueuse fortement acide (formation de l'ion uranyle UO_2^{2+}) notamment car l'ion U^{4+} a tendance à s'oxyder de façon significative au contact de l'air [16]. Par conséquent, les échantillons étant généralement en solution d'acide concentré, aucun traitement spécifique n'est nécessaire pour l'Uranium avant séparation chromatographique.

c. Plutonium

Les degrés d'oxydation du Plutonium en solution vont de III à VII [17]. Néanmoins, et à l'inverse des éléments précédents, les degrés (III) (IV) et (VI) peuvent coexister simultanément en solution acide [18, 19], (le degré d'oxydation (V) n'est pas stable et se dismute rapidement pour former les degrés IV et VI [20]).

Les complexes de Plutonium formés en milieu acide dépendent de son degré d'oxydation en solution. Ainsi, avant d'effectuer une séparation chromatographique, il est

nécessaire de déplacer les équilibres rédox afin de privilégier la formation d'un degré d'oxydation particulier :

- Degré d'oxydation (III) : le degré d'oxydation (III) du Plutonium est en général obtenu par réduction. Il est possible d'utiliser de nombreux agents réducteurs tels que l'acide iodhydrique [9], le peroxyde d'hydrogène [21], l'hydroxylamine [22, 23], l'hydroquinone [24] ou l'acide ascorbique [24] par exemple. L'acide iodhydrique est reconnu néanmoins comme étant l'agent le plus efficace, notamment aux fortes concentrations d'acides utilisées [9] (plusieurs moles par litre). D'une façon générale, l'efficacité de la réduction du Pu décroit lorsque la concentration d'acide augmente [24].
- Degré d'oxydation (IV) : le degré d'oxydation (IV) du Plutonium est obtenu par oxydation douce, à partir du degré (III). L'ajout de nitrite de sodium ou un simple chauffage en milieu HNO_3 concentré [25] sont généralement utilisés pour cette étape [18].
- Degré d'oxydation (VI) : la formation du degré d'oxydation (VI) n'est observée qu'en conditions fortement oxydantes : en présence d'un excès d'acide perchlorique $HClO_4$ [26] ou plus simplement en milieu acide nitrique concentré à chaud [27]. En effet, les réactions d'oxydation du Pu(IV) en Pu (V) et Pu (VI) sont cinétiquement défavorables en raison de la création de liaisons Métal-oxygène pour la formation des cations PuO_2^+ et PuO_2^{2+}. C'est pourquoi les degrés d'oxydation (III) et (IV) sont prédominants en milieux HNO_3 et HCl [28].

d. Conclusions

Que l'échantillon de combustible soit destiné à une séparation par échange d'anions en milieu HNO_3 ou en milieu HCl, il est, après traitement, majoritairement constitué de : cations trivalents (lanthanides, Am, Cm), d'Uranium (VI) et de Plutonium (IV) ou (VI). Ainsi, leur séparation est basée sur : i) l'élution des cations (III) (non-retenus) et ii) sur l'adsorption puis les élutions successives de l'Uranium et du Plutonium sous formes de complexes anioniques, en fonction de l'acide utilisé et de sa concentration, comme les paragraphes suivants le détaillent.

2.1.1.2 Séparation U/Pu/PF en milieu acide nitrique

a. Complexation par les ions nitrates

La complexation de l'ion uranyle UO_2^{2+} par les ions nitrates en milieu HNO_3 conduit à la formation de complexes de la forme $[UO_2(NO_3)_x]^{(2-x)}$ ($1 \leq x \leq 3$). Les complexes anioniques ne sont majoritaires qu'à partir d'une concentration d'acide supérieure à 8 M [16].

La complexation du Plutonium dépend de son degré d'oxydation :

- Degré (III) : le Pu (III) ne forme pas de complexe anionique avec les nitrates (mais seulement les espèces $Pu(NO_3)^{2+}$, $Pu(NO_3)_2^{+}$ et $Pu(NO_3)_3$) [27].
- Degré (IV) : le degré (IV) forme, à l'image de l'Uranium, une série de complexes de nitrates de la forme $Pu(NO_3)_x^{(4-x)}$ ($1 \leq x \leq 6$) en fonction de la concentration d'acide [11]. Les complexes anioniques chargés -1 et -2 ne sont formés qu'au-dessus d'une concentration d'acide de 8 M [21, 29].
- Degré VI : les complexes anioniques de Pu (VI) restent aujourd'hui encore peu décrits même si la présence du complexe $PuO_2(NO_3)_3^-$ est suspectée pour des concentrations d'acide supérieures à 8 M [25].

Lors de la séparation en milieu nitrique, le Plutonium est donc généralement stabilisé au degré (IV) car il facilite la formation de complexes anioniques.

b. Protocole de séparation

L'obtention d'une première fraction pure, constituée de cations, repose sur une forte rétention des formes complexées (anioniques) de l'Uranium et du Plutonium. Le choix de la phase mobile adéquate est alors basé sur l'étude préalable de l'évolution de la rétention de ces éléments sur la résine échangeuse d'anions en fonction de la concentration d'acide (nitrique ici). On évalue alors la rétention par l'intermédiaire des coefficients de distribution K_D calculé par le rapport des quantités en élément adsorbé sur la phase stationnaire et en solution à l'équilibre. Pratiquement, la valeur de K_D est déterminée par mesures en « batch » (bécher contenant la résine et une solution d'acide nitrique contenant l'élément d'intérêt), et calculés par la relation suivante :

$$K_D(x) = \left(\frac{c_{0,x} - c_{eq,x}}{c_{eq,x}}\right).\left(\frac{V}{m}\right) \quad en\ mL.g^{-1} \qquad \textbf{2.1}$$

avec $c_{0,x}$ la concentration de l'élément x en solution au départ, $c_{eq,\,x}$ la concentration de l'élément x en solution à l'équilibre, V le volume de solution utilisé pour la mesure et m la masse de résine utilisée pour la mesure. La valeur de K_D indique, pour des conditions données

Dans la suite du manuscrit, nous considèrerons qu'une valeur de K_D élevée (> 500 $mL.g^{-1}$) caractérisera une forte rétention en chromatographie d'échange d'anions, et inversement.

La figure 2-1, représente la tendance générale observée pour l'évolution de la rétention de l'Uranium et du Plutonium sur une résine échangeuse d'anions (de type Dowex). L'augmentation progressive de la concentration d'acide nitrique jusqu'à 8 M permet de

déplacer les équilibres, en solution, vers la formation majoritaire des complexes anioniques $UO_2(NO_3)_3^-$ et $Pu(NO_3)_6^{2-}$ et donc l'obtention d'une rétention maximale. En dessous et au-dessus de cette concentration optimum, la formation compétitive de complexes cationiques ou neutres entraîne la diminution de la rétention de l'Uranium. De ce fait, son élution spécifique est réalisée par un abaissement de la concentration d'HNO_3 dans la phase mobile depuis 8M vers 3 à 4M [13] afin de déplacer les équilibres vers la formation d'espèces neutres et/ou cationiques. A cette concentration, le K_D de l'Uranium est très faible (autour de 1 $mL.g^{-1}$) tandis que celui du Plutonium reste très élevé (supérieur à 500 $mL.g^{-1}$). Ceci est dû à la formation préférentielle de complexes de nitrates d'Uranium neutres ou cationiques. Finalement, le Plutonium est élué à l'aide d'une ultime diminution de la concentration d'HNO_3 afin de déplacer les équilibres de formation des complexes de nitrates de Plutonium vers des formes, là-aussi, neutres ou cationiques.

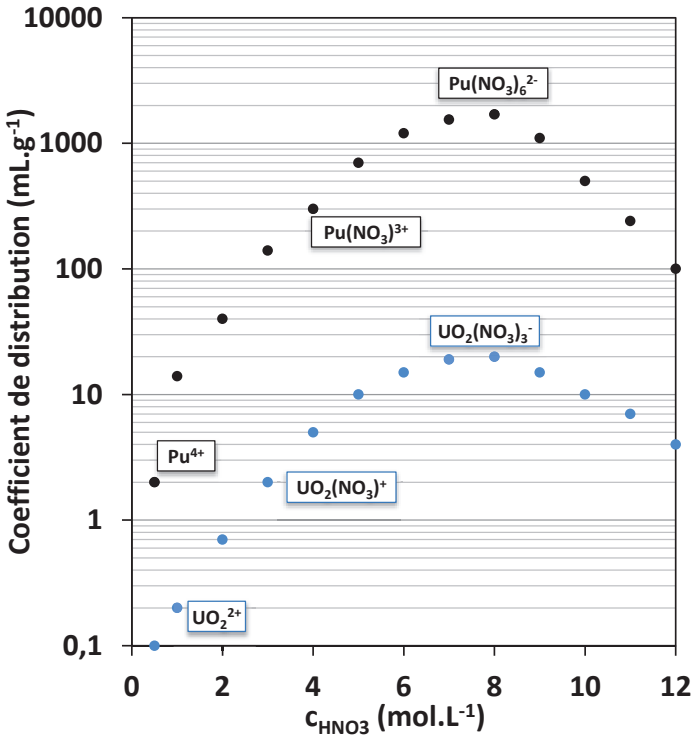


Figure 2-1 : Allures générales des coefficients de distribution (K_D) de l'U (VI) et du Pu (IV) sur une résine échangeuse d'anions ammonium quaternaire en milieu nitrique, d'après [30-33].

2.1.1.3 Séparation U/Pu/PF en milieu acide chlorhydrique

Bien que la séparation en milieu HNO_3 soit majoritairement utilisée dans le milieu nucléaire pour des raisons pratiques et historiques, il a souvent été constaté que la fraction correspondant au Plutonium reste contaminée par des traces d'Uranium [18]. La chimie séparative en milieu chlorhydrique se caractérise par une sélectivité accrue (apportée par l'élution spécifique du Pu à l'état (III)), et permet donc d'obtenir de meilleures puretés de fraction [24].

a. Complexation par les ions chlorures

La complexation de l'ion uranyle UO_2^{2+} par les ions chlorures en milieu HCl conduit à la formation de complexes de la forme $UO_2Cl_x^{(2-x)}$ ($1<x<3$) [34]. Les complexes anioniques ne sont, là-aussi, majoritaires qu'à partir d'une concentration d'acide supérieure à 8 M (figure 2-1).

La complexation du Plutonium dépend de son degré d'oxydation :

- Degré (III) : il n'existe pas de preuve formelle de l'existence de complexes anioniques de Pu (III), même si leur présence est suspectée pour des concentrations d'acide proches de 12 M [35].
- Degré (IV) : la formation des différents chloro-complexes du Pu(IV) dépend de la concentration d'HCl comme l'illustre le tableau 2-1 [10]. Le Pu(IV) forme très facilement des chloro-complexes très petits et donc très stables, de la forme $PuCl_6^{2-}$ [16]. En effet dans un milieu HCl 12 M, au moins 75% du Pu est présent sous cette forme (seulement 8% à une concentration de 9 M) [25].
- Degré (VI) : les chloro-complexes anioniques de Pu (VI) sont encore aujourd'hui, tout comme ceux de nitrates, peu décrits même si les présences des complexes $PuO_2Cl_3^-$ et $PuO_2Cl_4^{2-}$ sont suspectées pour des concentrations élevées d'acide [17].

De la même façon qu'en milieu nitrique, le Plutonium est généralement fixé au degré (IV) car il est stable et forme facilement des complexes anioniques.

Tableau 2-1 : Formes prépondérantes des chloro-complexes de Pu(IV) formés en milieu acide chlorhydrique, d'après [10].

c_{HCl} en mol.L^{-1}	Chloro-complexes de Pu(IV)
1	Pu^{4+}
3	$PuCl^{3+}$
4	$PuCl_2^{2+}$
8-10	$PuCl_3^+$
12	$PuCl_6^{2-}$
Résine ammonium (R) – HCl 12M	$R_2PuCl_6^{2-}$

b. Protocole de séparation

La figure 2-2, représente la tendance générale observée pour l'évolution de la rétention de l'Uranium et du Plutonium sur une résine échangeuse d'anions (de type Dowex) en milieu acide chlorhydrique. L'augmentation progressive de la concentration d'HCl jusqu'à 8 M pour l'Uranium et 12 M pour le Plutonium permet la formation majoritaire des complexes anioniques $UO_2Cl_3^-$ et $PuCl_6^{2-}$ et donc l'obtention d'une rétention maximale. Parce que la

rétention de l'Uranium diminue au-dessus de 9-10 M, le meilleur compromis pour séparer U et Pu est de déposer l'échantillon en milieu HCl 9-10 M (en effet, d'après Ryan *et al.*, à HCl 12 M, on a 40 fois plus de Plutonium fixé que d'Uranium [16]).

Les chloro-complexes d'Uranium et de Plutonium formés présentent une affinité pour les résines d'échanges d'anions supérieure à celle des complexes de nitrates, et ce, en raison de leurs plus petites tailles [36]. Ainsi, l'élution du Plutonium ne peut se faire simplement en diminuant la concentration d'HCl (élution très tardive). C'est pourquoi, le Pu est élué sélectivement sous sa forme (III) (ne formant pas de complexes anioniques) suite à sa réduction en milieu HCl 9-10 M, sur la colonne, à l'aide d'agents réducteurs tels que l'hydroxylamine, l'hydroquinone, l'acide ascorbique ou l'acide iodhydrique. Certaines de ces réductions n'étant pas toujours quantitatives, l'acide iodhydrique est généralement préféré afin d'obtenir de meilleurs rendements d'extraction [9]. Basée sur l'élution spécifique du Plutonium suite à sa réduction au degré (III), la sélectivité de la séparation U/Pu/PF en milieu chlorhydrique est supérieure à celle conduite en milieu nitrique et de meilleurs facteurs de décontamination sont obtenus.

Finalement, l'uranium est élué en diminuant la concentration d'acide chlorhydrique [36, 37], afin de déplacer les équilibres de formation des complexes vers les formes chargées positivement.

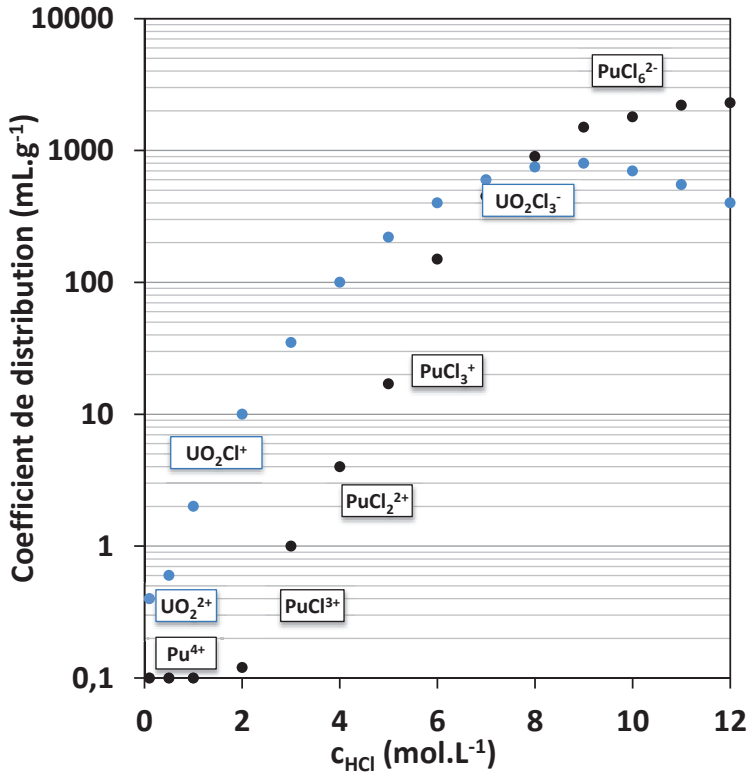


Figure 2-2 : Allures générales des coefficients de distribution (K_D) de l'U (VI) et du Pu (IV) sur une résine échangeuse d'anions ammonium quaternaire Dionex 1 en milieu chlorhydrique, d'après [24, 33].

2.1.2 Evolutions apportées à la séparation U/Pu/PF

Les protocoles de séparation U/Pu/PF ont évolué à partir du milieu des années 1990 selon deux axes :

- l'utilisation de nouvelles phases stationnaires extractantes et donc plus sélectives (on parle alors de chromatographie d'extraction),
- l'automatisation et/ou la réduction d'échelle.

2.1.2.1 Séparation par chromatographie d'extraction

La chromatographie d'extraction est apparue à la fin des années 1980 sous l'impulsion des travaux d'Horwitz et al. [38-40] et n'a cessé de se développer depuis [13, 41-44]. Elle met en œuvre une phase stationnaire particulaire inerte, imprégnée par une fine pellicule de solvant organique, dans lequel est solubilisée une molécule ayant des propriétés extractantes pour un élément ou une famille d'éléments (figure 2-3). De cette façon, il est possible de tirer avantage à la fois de la sélectivité des molécules extractantes (développées au départ pour l'extraction liquide-liquide), tout en bénéficiant de l'efficacité de séparation de la chromatographie liquide.

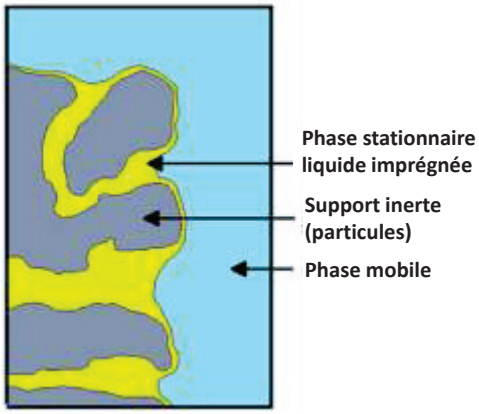
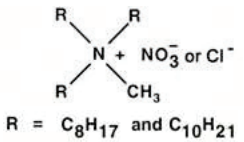
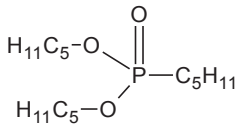
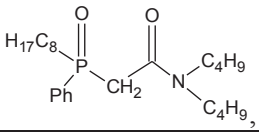


Figure 2-3 : Interface entre la phase stationnaire liquide imprégnée (contenant la molécule extractante) et la phase mobile en chromatographie d'extraction (adaptée de www.eichrom.com).

Il existe aujourd'hui trois résines commerciales sélectives des actinides : TEVA®, UTEVA® et TRU® distribuées par la société Eichrom (aux USA) ou Triskem (en Europe). Chacune présente une sélectivité particulière qui repose, là-aussi, sur la formation ou non de complexes ioniques en fonction de l'acide utilisé, du ou des éléments considérés ainsi que leurs degrés d'oxydation [13]. Le tableau 2-2 regroupe les molécules extractantes utilisées ainsi que les spécificités de ces trois résines.

Tableau 2-2 : Résines spécifiques d'extraction des actinides : molécules extractantes utilisées et sélectivités associées, d'après www.eichrom.com.

Résine	Molécule extractante	Sélectivité de la résine
TEVA®	Trialkyl methylammonium  R = C_8H_{17} and $C_{10}H_{21}$	*Rétention* d'U (VI) et Pu (IV) et (VI) en milieu nitrique *Elution* d'U (VI) dans HCl 6 M puis de Pu(IV) dans HCl 0,5 M
UTEVA®	Diamylamyl Phosphonate 	*Rétention* des actinides (IV) et (VI) en milieu nitrique *Elution* du Plutonium dans HNO_3 après sa réduction au degré (III)
TRU®	Oxyde d'octyl (phenyl)-N,N-diisobutylcarbamoyl methylphosphine solubilisé dans du tributylphophate (TBP) 	*Rétention* des actinides (III), (IV) et (VI) en milieu nitrique *Elution* des actinides (III) dans HCl 4 à 6 M, puis du Plutonium après sa réduction au degré (III) dans le même milieu

C'est principalement grâce à l'utilisation combinée de ces résines (colonnes montées en série) que des fractions pures d'Uranium et/ou de Plutonium sont obtenues [45-50], même si quelques essais ont été réalisés pour une séparation U/Pu/PF sur une seule et même colonne UTEVA® [44, 51].

2.1.2.2 Comparaison des chromatographies d'échange d'anions et d'extraction

Très peu de travaux ont cherché à comparer les performances analytiques des différentes méthodes de séparation chimique. Les deux principaux critères de comparaison sont la pureté des fractions et les rendements d'extraction. La pureté des fractions est souvent exprimée par le facteur de décontamination (FD) comme étant [52] :

$$FD = \frac{[Impureté]_{init} / [Produit]_{init}}{[Impureté]_{fin} / [produit]_{fin}} \qquad \textbf{2.2}$$

avec, $[impureté]_{init}$ et $[produit]_{init}$ les concentrations de l'impureté et de l'élément à purifier dans l'échantillon de départ et $[impureté]_{fin}$ et $[produit]_{fin}$ les concentrations de l'impureté et de l'élément à purifier dans la fraction de récupération du produit, après séparation. La séparation est d'autant plus efficace que ce rapport est élevé.

Les performances analytiques des deux techniques chromatographiques d'échange d'anions et d'extraction sont comparées dans le tableau 2-3. La disparité des rendements d'extraction obtenus en chromatographies d'échange d'anions ou d'extraction démontre qu'ils dépendent très fortement de l'échantillon de départ et/ou du protocole de séparation utilisé et non réellement de la méthode mise en œuvre. Néanmoins le couplage de plusieurs colonnes (souvent employé en chromatographie d'extraction), entraîne l'obtention de rendements d'extraction plus faibles (notamment pour le Plutonium).

Tableau 2-3 : Comparaison des facteurs de décontamination (FD) et des rendements d'extraction obtenus, pour le Plutonium, lors de séparation U/Pu/PF réalisées par chromatographie d'échange d'anions et chromatographie d'extraction, adapté de [44].

	Échange d'anions	Extraction	Extraction (plusieurs colonnes)
FD (Pu) par rapport à l'U	10^4 - 10^5	10^4 - 10^5	10^4 - 10^5
Rendement d'extraction	54 – 99%	46 – 80%	≈ 40 %

2.1.2.3 Augmentation de la cadence d'analyse et réduction d'échelle

En 1955, Kraus [5], lors de la Conférence Internationale sur l'Utilisation Pacifique de l'Energie Atomique avait émis l'idée de réduire les quantités nécessaires pour l'analyse d'échantillons radioactifs, tout comme celle d'une automatisation accrue des étapes de séparation. Néanmoins, étant donnée la complexité des chimies séparatives nécessaires et la difficulté de manipulation d'échantillons radioactifs, très peu de développements sont depuis allés dans ce sens.

A notre connaissance très peu de travaux montrent l'utilisation de dispositifs de séparation automatisés ou parallélisés. Néanmoins, Guerin *et al.* [53] ont récemment mis en œuvre un dispositif permettant l'injection automatisée de l'échantillon et des différentes phases mobiles pour la séparation par chromatographie d'extraction de l'Uranium et du Neptunium. Ce dispositif permet en outre de coupler deux colonnes chromatographiques d'extraction en-ligne, sur le même montage (figure 2-4).

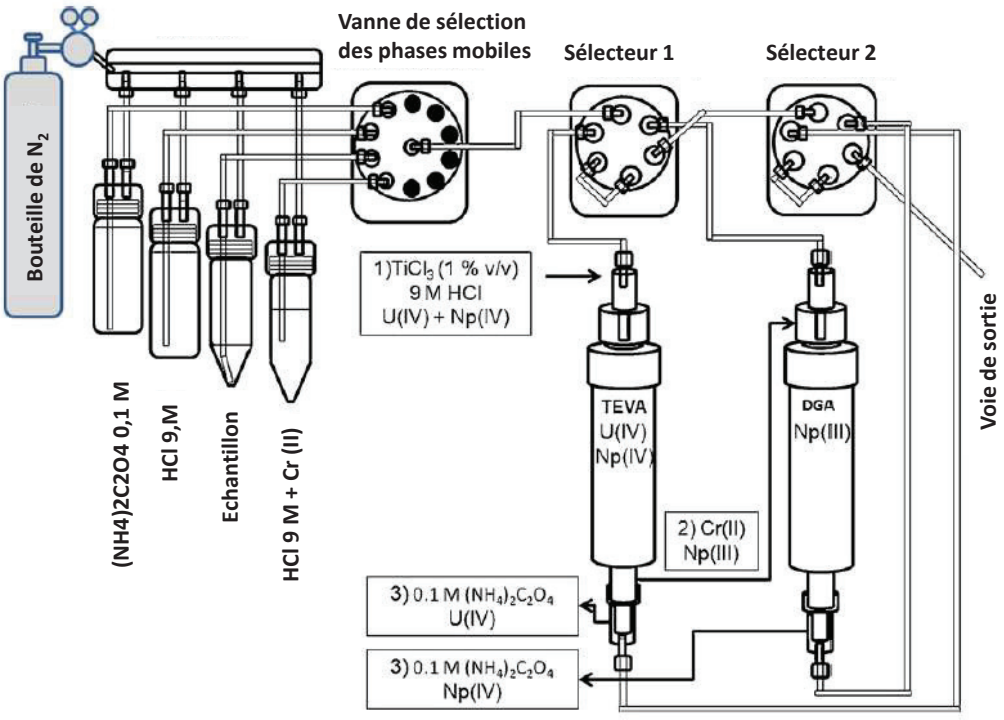


Figure 2-4 : Dispositif expérimental utilisé par Guérin *et al.* [53] pour l'automatisation de la séparation du Np (III) et de l'U (VI) par chromatographie d'extraction.

Les développements récents se sont davantage concentrés sur la réduction de la taille des colonnes séparatives (par extraction principalement) (dimensions usuelles : 1 cm de diamètre x 7-8 cm de long, soit ≈ 6 mL pour ≈ 1 g de résine). En 1999, Warwick *et al.* [48] ont séparé l'Uranium et le Plutonium d'un échantillon aqueux au moyen d'une première colonne d'échange d'anions couplée à une seconde remplie de résine UTEVA® de seulement

0,6 cm de long pour un diamètre de 0,5 cm. Plus récemment Tsai *et al.* [54] ont extrait l'Uranium d'une matrice environnementale aqueuse à l'aide d'une « micro-colonne » d'extraction contenant seulement un volume de résine correspondant à 2 mL (comparativement très faible par rapport aux colonnes d'échange d'anions contenant 20 mL).

2.1.3 Choix de la méthode chromatographique adaptée à l'implantation de la séparation U/Pu/PF en microsystème

La séparation U/Pu/PF pour un échantillon de combustible nucléaire peut être réalisée par chromatographie d'échange d'anions ou par chromatographie d'extraction. La comparaison des performances analytiques ne permet pas de définir la méthode de séparation la plus adaptée au projet (tableau 2-3). En revanche, leur compatibilité avec une mise en œuvre en microsystème est un critère déterminant. Ainsi, l'utilisation de la chromatographie d'extraction nécessite le plus souvent l'utilisation d'une combinaison de résines (généralement UTEVA® et TRU®) pour obtenir des fractions élémentaires pures. Un tel couplage de colonnes séparatives peut s'avérer délicat à mettre en place sur un dispositif séparatif miniaturisé. Pour cette raison, la chromatographie d'échange d'anions a été choisie pour conduire la séparation U/Pu/PF sur microsystème séparatif.

La mise en œuvre d'une séparation chromatographique utilisant des phases mobiles acides fortement concentrées n'a, à notre connaissance, jamais été décrite sur microsystème. Aussi, le développement d'un système adapté implique d'identifier, parmi les solutions technologiques disponibles, les choix les plus pertinents pour :

- le matériau constitutif du microsystème,
- la fabrication du microsystème,
- la gestion des écoulements,
- l'intégration d'une phase stationnaire.

2.2 Microsystèmes séparatifs

Les nombreux avantages détaillés dans l'introduction illustrent le potentiel des microsystèmes séparatifs dans le domaine de l'analyse d'échantillons radioactifs. Toutefois, le développement du système adapté à la séparation U/Pu/PF par chromatographie d'échange d'anions (dépôt de l'échantillon, séparation, collecte de fraction purifiée), impose d'apporter des solutions innovantes pour :

- l'injection de faibles volumes d'échantillons radioactifs,
- l'intégration d'une phase stationnaire d'échange d'anions dans des colonnes miniaturisées de diamètre interne de l'ordre de la centaine de microns,
- l'obtention d'une capacité d'échange compatible avec les concentrations d'Uranium et de Plutonium dans les échantillons de combustibles (> $g.L^{-1}$),
- la gestion précise des écoulements des phases mobiles acides au sein des micro-colonnes,
- la collecte de fractions pures d'un volume de l'ordre de quelques µL,
- la conception d'un système séparatif miniaturisé : de fabrication simple et peu coûteuse, utilisant un matériau compatible avec les milieux acides.

Après un bref historique retraçant l'apparition des microsystèmes séparatifs, l'étude bibliographique suivante permet de dégager les solutions technologiques adaptées à la conception du microsystème répondant au cahier des charges ainsi défini.

2.2.1 Historique

Les premiers microsystèmes séparatifs sont apparus dans les années 1970 avec pour objectif l'amélioration des performances analytiques en chromatographie en phase gazeuse. Un des premiers exemples, présenté en 1975, incorporait une vanne d'injection et une colonne de séparation miniaturisées sur un seul et même substrat de silicium de quelques centimètres carré. Couplé à un détecteur à conductivité thermique, ce premier microsystème permettait la séparation d'un mélange simple de molécules en quelques secondes [55]. Ce n'est que 15 ans plus tard que le concept général de « système miniaturisé d'analyse chimique totale » (µTAS) a été introduit par Manz [56]. Il fut très vite constaté que l'utilisation de tels systèmes permettait, en plus du gain en performances analytiques, de réduire significativement la consommation d'échantillons, de réactifs et de solvants. Depuis, de nombreux exemples de microsystèmes séparatifs capables d'effectuer des séparations par chromatographies liquide [57] et gazeuse [58] ou par électromigration (électrophorèse capillaire [59-61], électrochromatographie [62]) ont été décrits.

Bien que la majorité des nouveaux développements soit réalisée dans le cadre d'applications biologiques (biologie moléculaire, biochimie, génétique, diagnostic, …), l'élaboration de microsystèmes d'analyse chimique est en plein essor avec par exemple l'apparition récente de plusieurs solutions commerciales pour la chromatographie liquide (Chip-MS d'Agilent ou cHiPLC d'Eksigent). Ces microsystèmes séparatifs ont un faible coût lié à une consommation de réactifs et d'échantillons limitée, et permettent, dans le cas d'un couplage avec la spectrométrie de masse, d'obtenir une sensibilité accrue [63].

La fabrication des microsystèmes séparatifs s'est, au départ, fortement inspirée des technologies utilisées dans l'industrie de la micro-électronique (masquage, dépôt, photolithographie, gravure). Les matériaux utilisés étaient alors le silicium, puis, très vite, le verre. La fin des années 1990 a vu l'introduction de l'utilisation des matériaux plastiques grâce à la mise en œuvre de procédés de fabrication issus du domaine de la plasturgie. L'utilisation intensive de matériaux tels que le polydiméthylsiloxane (PDMS), facilement structurable, peu coûteux et possédant des propriétés optiques et biologiques très intéressantes (transparent à la lumière visible et à une partie du spectre UV, biocompatible), s'est ensuite généralisée avec l'essor des microsystèmes pour la biologie. Depuis, d'autres plastiques ont été employés avec notamment le PolyCarbonate (PC), le PolyMéthylMéthAcrylate (PMMA), le PolyStyrène (PS) et plus récemment les Copolymères d'Oléfine Cyclique (COC) [62], certains fluoropolymères [64] ou le Polyimide [65].

Même s'il existe encore peu d'exemples, l'utilisation de microsystèmes séparatifs dédiés à la radiochimie offrirait de nombreux avantages comme le détaille le paragraphe suivant.

2.2.2 Microsystèmes séparatifs appliqués à la radiochimie

L'utilisation de microsystèmes séparatifs reste marginale pour la séparation de radionucléides. Pourtant, selon Janssens-Manheout [1] celle-ci favoriserait une automatisation accrue, la réduction des déchets radioactifs issus des procédés analytiques et enfin la diminution significative des doses de radiations reçues par l'expérimentateur grâce à la réduction de la quantité d'échantillon à analyser. Les mesures de radioprotection nécessaires à l'analyse des échantillons radioactifs s'en trouveraient simplifiées.

Parce que l'extraction liquide-liquide est une technique analytique de référence dans le cycle du combustible nucléaire notamment, le groupe de Kitamori a été le premier à montrer l'avantage des microsystèmes séparatifs pour l'extraction liquide-liquide des lanthanides [66, 67] ou de l'Américium [68]. Plus récemment, Kagawa *et al.* [69] ont utilisé un microsystème d'extraction liquide-liquide pour l'analyse d'aluminium avant analyse isotopique par spectrométrie de masse à haute résolution.

Plus récemment, Vio *et al.* [70] ont cette fois démontré les potentialités des techniques électrophorétiques pour la séparation en microsystème des lanthanides. Le microsystème développé a permis, après une séparation par isotachophorèse, l'analyse en ligne des rapports isotopiques entre lanthanides par l'intermédiaire d'un couplage avec la spectrométrie de masse à multi-collection. Ce travail constitue d'ailleurs la première référence d'un couplage direct, en boite à gants, d'un microsystème séparatif à un spectromètre de masse à multicollection pour l'analyse de radionucléides.

A notre connaissance, aucun travail portant sur le développement de microsystèmes séparatifs appliqués à la séparation chromatographique de l'Uranium et du Plutonium n'a été décrit dans la littérature, qui plus est, avec l'utilisation de phases mobiles acides, fortement concentrées (HNO_3 ou HCl plusieurs fois molaires).

Comme on peut le constater, le développement d'un microsystème est intimement lié à son domaine d'application. La conception du microsystème séparatif pour la séparation U/Pu/PF par chromatographie d'échange d'anions impose d'effectuer des choix concernant :

- le matériau utilisé pour la fabrication du microsystème en fonction de sa compatibilité chimique et de son procédé de structuration,
- la gestion des écoulements de phases mobiles acides,
- la conception d'une phase stationnaire d'échange d'anions facilement intégrable au microsystème.

Le microsystème séparatif développé devra ainsi former un ensemble cohérent, tourné vers l'automatisation (utilisation en boite à gants) et la parallélisation des analyses.

2.2.3 Microsystèmes à base de silicium et de verre

Le verre et le silicium sont encore aujourd'hui très utilisés, notamment par les industriels qui y trouvent la possibilité d'une production en masse maîtrisée et globalement peu coûteuse. La structuration de micro-canaux en silicium ou en verre est réalisée de deux façons : en gravant le matériau (« bulk machining ») ou inversement, en créant les micro-canaux par le dépôt localisé de couches successives à la surface du matériau (« surface machining ») [71]. La gravure chimique du substrat est la méthode la plus employée et le procédé de fabrication passe alors par une succession d'étapes (figure 2-5) :

a. dépôt métallique protecteur sur le substrat en verre
b. dépôt d'une couche de résine photosensible par spin-coating
c. exposition localisée de la résine à un rayonnement UV
d. élimination de la résine insolée par lavage
e. élimination de la couche métallique par gravure humide spécifique

f. élimination de la résine restante
g. gravure humide du verre
h. élimination de la couche métallique protectrice

La fermeture des micro-canaux ainsi gravés est réalisée par collage à chaud d'une seconde plaque de silicium ou de verre préalablement percée au niveau des entrées et sorties (le capot).

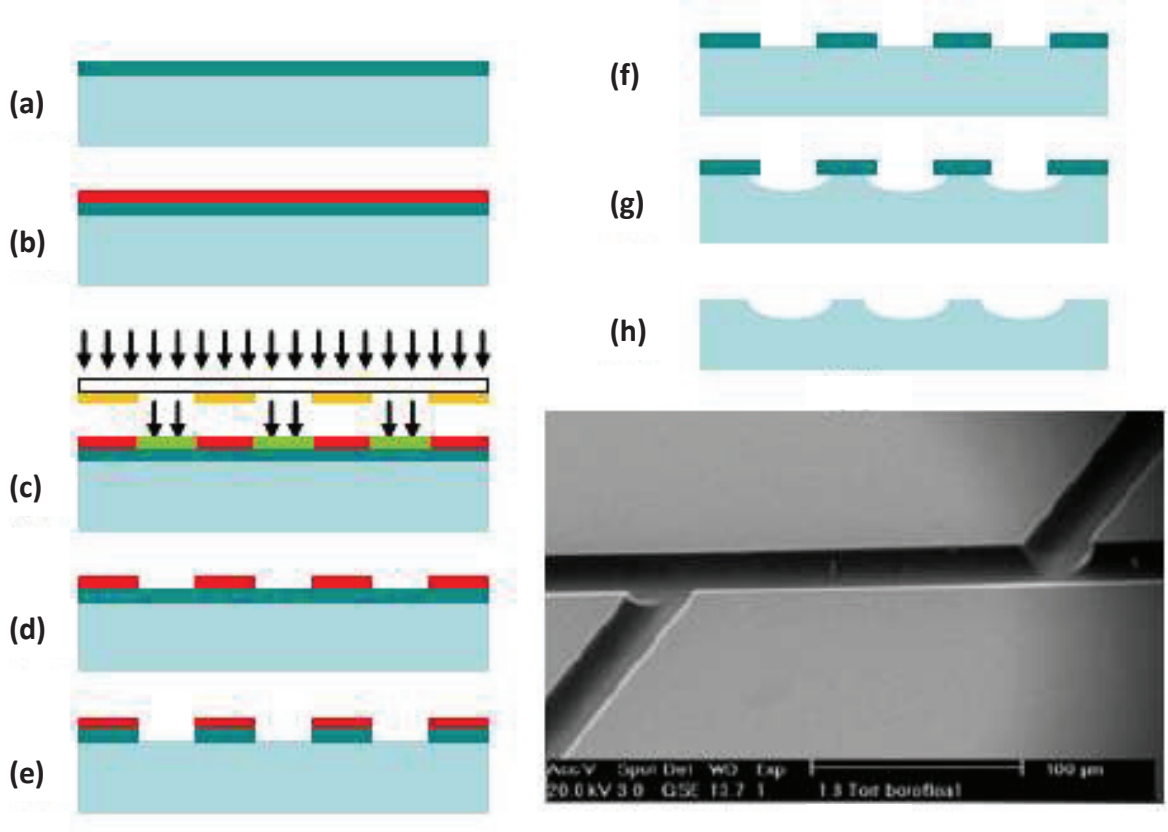


Figure 2-5 : Procédé de gravure humide pour la micro-fabrication de microsystèmes en verre (a-h) et cliché de Microscopie Electronique à Balayage (MEB) de micro-canaux obtenus par gravure humide d'un substrat en verre [71].

Plusieurs autres techniques de gravure du verre ont été introduites par la suite, comme l'ablation laser [72] ou la gravure par plasma [73], mais restent limitées en termes de rapidité, polyvalence et de rugosité des fonds de gravure (quelques µm contre quelques dizaines de nm par gravure humide).

La gravure de microsystèmes en silicium ou en verre comporte certains inconvénients. En effet, la gravure humide du verre étant isotrope, la largeur des canaux gravés dépend de leur profondeur, et la dimension maximale des micro-canaux est rapidement contrainte comme l'illustre la figure 2-6. De plus, le collage du capot nécessite un parfait alignement afin de ne pas boucher partiellement ou totalement les entrées et sorties du microsystème fluidique.

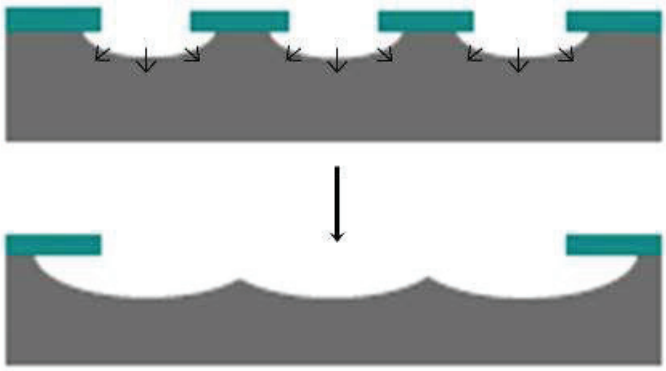


Figure 2-6 : Contrainte de dimensionnement des micro-canaux imposée par l'isotropie de gravure du verre par voie humide.

Les contraintes de fabrication ainsi que la difficulté et le coût d'un prototypage rapide rendent incompatible l'utilisation du silicium et du verre dans le cadre de la thèse. Aussi ces matériaux ont été écartés.

2.2.4 Microsystèmes en plastiques

Les microsystèmes plastiques (ou polymériques) sont aujourd'hui considérés comme plus attrayants en raison de leur facilité de réplication (prototypage rapide) et, de la même façon que les systèmes sur verre, de leur adéquation avec une production de masse [74]. Les polymères peuvent être classés en trois principales catégories selon leurs propriétés de moulage :

- les thermoplastiques (comme le PS, le PC, le PMMA, les COC, ou les fluoropolymères) : constitués de chaînes polymériques faiblement liées entre elles. Ces matériaux deviennent visqueux lorsqu'ils sont portés à une température supérieure à leur température de transition vitreuse, T_g et sont donc facilement modelables. Leur moulage permet, après refroidissement, une grande fidélité de réplication.
- les élastomères (comme le PDMS) sont aussi constitués de chaînes polymériques faiblement liées. Contrairement aux thermoplastiques, ils supportent de très grandes déformations mécaniques et possèdent la propriété de revenir ensuite à leur état d'origine.
- les thermodurcissables (Polyimide, PolyEster) sont constitués de chaînes polymériques fortement réticulées. Ils sont très durs, peu déformables et donc plus difficilement structurables.

Indépendamment du type de polymère utilisé, la réplication d'une structure nécessite, dans la majorité des cas, la fabrication d'un moule.

2.2.4.1 Fabrication du moule

Lorsque le microsystème plastique n'est pas fabriqué directement par ablation laser, gravure sèche ou lithographie par rayons X [75], sa structuration nécessite la fabrication d'un moule. Ce moule doit satisfaire à plusieurs conditions. Il doit avoir une rugosité de surface très faible (moins de 100 nm) afin de faciliter le démoulage [76]. De plus, le matériau utilisé doit être résistant et ductile afin de résister à plusieurs dizaines voire centaines de cycles de moulage/démoulage. Deux principales technologies sont à disposition pour la fabrication de tels moules, et le matériau utilisé dépend alors non seulement du choix de la méthode de fabrication mais aussi de l'utilisation à venir du moule (réplications intenses ou prototypage rapide).

Le plus souvent, les moules de réplication sont en nickel ou en alliage de nickel et sont obtenus par galvanoplastie [77]. Le procédé commence par une étape de photolithographie, dans laquelle un substrat conducteur revêtu de résine photosensible (résine dite « positive ») est exposé à une lumière UV. Cette résine est ensuite développée, de sorte à libérer les zones correspondant aux futurs micro-canaux. Cette structure est ensuite placée dans un bain galvanique, où, en raison de la migration des ions métalliques en solution (Ni^{2+} par exemple) vers le substrat métallique de départ, une couche de métal commence à croître dans les espaces laissés libres par la résine. Une fois l'épaisseur désirée de la couche métallique atteinte (les canaux apparaissent alors en surépaisseur sur le substrat métallique de départ), le moule est retiré du bain, puis la résine servant de masque est éliminée. Finalement, le moule est poli afin d'obtenir une hauteur de canal homogène. Des structures de l'ordre du µm, voire inférieures, peuvent être obtenues avec une rugosité de surface autour des 100 nm. Une méthode similaire consiste à créer directement les surépaisseurs correspondant aux micro-canaux à l'aide de résines de lithographie dites « négatives » [78]. A l'inverse des résines positives, leur insolation conduit à la formation de zones réticulées correspondant au dessin des micro-canaux. Néanmoins, le réseau obtenu n'est pas compatible avec une utilisation intensive du fait de sa faible résistance mécanique [79-81]. Ce procédé est notamment utilisé pour la fabrication de microsystèmes composés de micro-canaux de grandes dimensions (plusieurs centaines de microns).

Une seconde approche pour la fabrication de moule concerne le micro-usinage. S'appuyant sur le savoir-faire acquis pour les techniques d'usinage macroscopiques et au moyen d'outils adaptés, il est possible d'obtenir des structures de l'ordre de la dizaine de microns avec une rugosité de surface de l'ordre de 200 nm en fonction du matériau choisi

pour le moule (Aluminium, acier inoxydable, etc …). Des machines-outils de micro-usinage sont aujourd'hui commercialement disponibles et permettent le prototypage rapide des moules (http://www.aremac-polymer.com).

2.2.4.2 Fabrication des microsystèmes plastiques : structuration et capotage

Comme évoqué précédemment, les polymères sont classés en trois catégories : thermoplastiques, élastomères et thermodurcissables. Les thermodurcissables ne sont que marginalement utilisés (seule la société Agilent utilise le polyimide pour fabriquer son microsystème séparatif Chip-LC, voir par la suite), aussi nous décrirons uniquement la structuration des élastomères et des thermoplastiques.

Le procédé de fabrication de microsystèmes en PDMS est reconnu comme simple et permettant de répliquer avec fidélité des structures de faibles dimensions [80, 81]. Il enchaîne les étapes de fabrication du moule (a), dépôt d'une couche de PDMS liquide (b) qui après polymérisation peut être retirée facilement du moule (c). Les micro-canaux formés sont finalement fermés par le collage d'un capôt en PDMS ou en verre (e) (figure 2-7 (4)). Néanmoins, et depuis son introduction à la fin des années 1990 [82], le PDMS reste majoritairement employé pour la fabrication de microsystèmes appliqués à la biologie. En effet, ses propriétés optiques (transparent aux longueurs d'ondes supérieures à 280 nm), sa biocompatibilité, et sa chimie de surface connue [83] en font un matériau de choix pour les analyses biochimiques couplées à une détection optique (par fluorescence notamment). De plus, les propriétés mécaniques du PDMS (élastomère) permettent d'envisager l'élaboration de réseaux microfluidiques 3D incluant des vannes ou des pompes par exemple. En revanche, sa faible compatibilité chimique vis-à-vis de nombreux solvants organiques [84] ainsi que vis-à-vis de milieux fortement acides, et sa résistance mécanique limitée (quelques bars) restent problématiques quant à son utilisation pour la fabrication de microsystèmes séparatifs destinés à la séparation chromatographique U/Pu/PF.

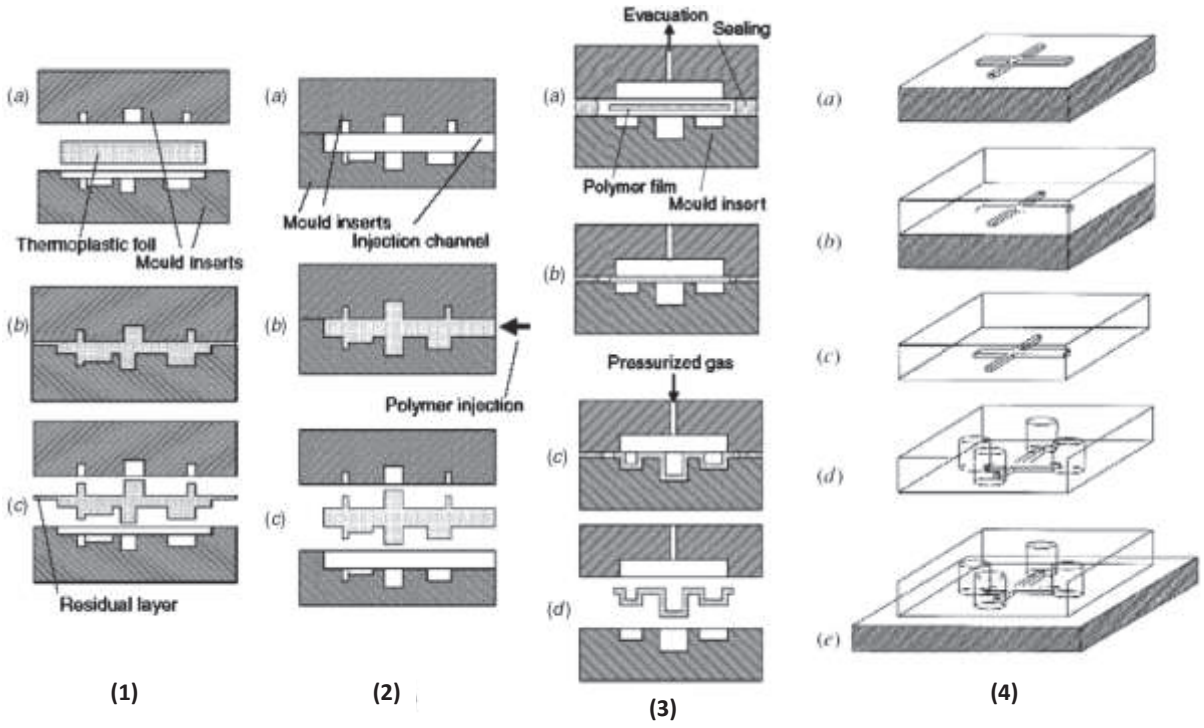


Figure 2-7 : Structuration des thermoplastiques par pressage à chaud (1), moulage par injection (2), thermoformage (3) et de l'élastomère PDMS par moulage à température ambiante (4).

Les polymères thermoplastiques ont aussi été largement utilisés. Leur structuration pour la fabrication de microsystèmes peut être réalisée à partir de grains de matière : par pressage à chaud (« hot-embossing ») ou par moulage par injection (« injection molding »), ou à partir de films plastiques : par thermoformage (« thermoforming »).

La technique de réplication la plus employée est le pressage à chaud notamment grâce à sa facilité de mise en œuvre [85]. Comme l'illustre la figure 2-7 (1), le thermoplastique est chauffé légèrement au-dessus de sa température de transition vitreuse T_g (a), pressé à chaud (b) et démoulé à froid (c). La pression exercée, le temps et la température lors du pressage permettent d'optimiser la qualité et la fidélité de réplication. En effet, les écarts de réplication (notion d'erreur relative de réplication [86]) sont minimisés lors d'un pressage à une température légèrement supérieure à celle de la T_g du matériau utilisé. Les chaînes macromoléculaires glissent ainsi les unes sur les autres permettant la structuration aisée du polymère mais évitant une trop grande réorganisation lors de la phase de refroidissement pouvant être à l'origine de phénomènes de retrait [87]. Tsao *et al.* [88] ont montré que la fidélité de réplication est ainsi liée au coefficient d'expansion thermique du matériau : plus sa valeur est faible, meilleure sera la qualité de réplication. Le COC, le PMMA et le PC ont ainsi une bonne prédisposition au pressage à chaud [88].

Le moulage par injection à chaud est la technique retenue par l'industrie pour la fabrication de pièces plastiques grâce à sa cadence de fabrication élevée. Le moule,

préalablement fermé et porté sous vide, est chauffé à une température légèrement supérieure à la T_g du matériau plastique à mouler (figure 2-7 (2)). Ce dernier est ensuite injecté dans le moule à l'état quasi-liquide avant d'être refroidi et la pièce est alors libérée (figure 2-7 (2-b, c)). Cette méthode particulièrement automatisable ne permet cependant pas d'atteindre la qualité de réplication du pressage à chaud [89] et est difficilement implantable en laboratoire de recherche.

L'utilisation du thermoformage est plus marginale et est surtout employée pour la structuration de films fins de thermoplastiques. En effet, le processus de moulage est plus complexe que le pressage à chaud ou le moulage par injection (figure 2-7 (3)), même si récemment Miserere *et al.* [90] ont introduit l'utilisation d'un thermoformage simplifié et en continu de films fins par « roll-embossing ».

Après la structuration du substrat plastique, les micro-canaux formés sont fermés à l'aide d'un capot constitué d'un matériau identique ou non : c'est l'étape de collage. Là-aussi plusieurs méthodes sont disponibles. Selon le matériau utilisé, le collage s'effectue par simple pressage à chaud des deux parties. Il est possible d'augmenter la force de collage grâce à l'utilisation de solvants. En effet, l'exposition des surfaces du substrat et du capot, directement au solvant ou à ses vapeurs, permet la solubilisation des chaînes macromoléculaires et leur entrelacement, grâce à leur mobilité à l'interface solvatée substrat/capot. Un collage de meilleure qualité résistant jusqu'à quelques dizaines de bar est ainsi obtenu. Le collage peut aussi être amélioré par une modification de surface du substrat, soit par exposition à un plasma d'oxygène (oxydation de surface), soit par modification chimique de surfaces [91] (collage par la formation de liaisons covalentes entre le substrat et le capot). Plus récemment Mair *et al.* [92] ont même démontré la résistance mécanique d'un microsystème en COC jusqu'à plus de 340 bars par l'utilisation d'un collage hybride en deux étapes : exposition du capot à des vapeurs de cyclohexane suivie, après mise en contact capot-microsystème, d'une étape d'irradiation UV à 260 nm. L'étape de collage est, au même titre que l'étape de structuration, critique lors de la fabrication d'un microsystème. Il faut notamment éviter toute déformation des micro-canaux provoquée par l'application d'une pression trop importante comme l'illustre la figure 2-8 pour un microsystème PMMA [93].

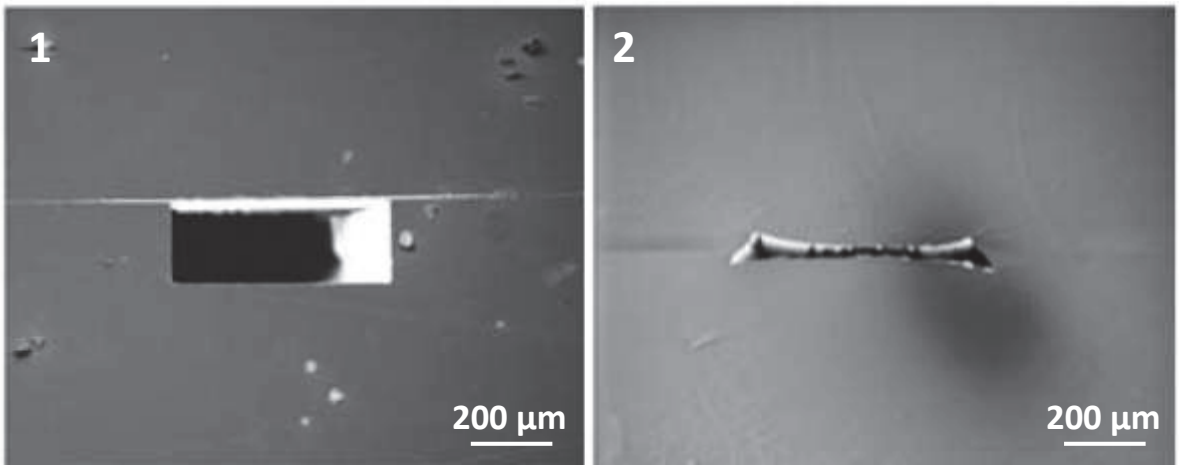


Figure 2-8 : Clichés MEB de micro-canaux en PMMA (180 x 500 µm) obtenus par collage après traitement plasma et collage à chaud (1) et par collage à chaud simple (2) [93].

2.2.5 Choix du matériau plastique adapté à la fabrication du microsystème séparatif

Grâce à leur facilité de structuration, d'usinage, leur bonne résistance mécanique et leurs très bonnes propriétés optiques, les polymères thermoplastiques apparaissent particulièrement adaptés à la fabrication de microsystèmes séparatifs. Néanmoins, comme l'illustre le tableau 2-4, le PMMA, le PC et le PS présentent des résistances chimiques assez limitées, notamment vis-à-vis de solvants organiques. C'est pourquoi, la fabrication de microsystèmes séparatifs à base de thermoplastiques s'oriente aujourd'hui vers le COC [75].

Tableau 2-4 : Comparaison qualitative de la résistance chimique des différents thermoplastiques utilisés pour la fabrication de microsystèmes séparatifs [77, 94] (+ signifie résistant, - non résistant (dissolution) et ■ résistance limitée (gonflement)).

Milieux	COC	PMMA	PC	PS
Acides (dilués ou faibles)	+	■	+	+
Acides (concentrés ou forts)	+	-	-	■
Alcools aliphatiques	+	-	■	+
Aldéhydes	■	■	■	-
Bases	+	■	-	+
Esters	+	-	-	-
Hydrocarbures aliphatiques	-	■	■	-
Hydrocarbures aromatiques	-	-	-	-
Cétones	■	-	-	-

D'après ce même tableau, le COC présente une excellente résistance chimique vis-à-vis de nombreux solvants ainsi qu'aux milieux acides forts (utilisés pour la séparation U/Pu/PF). De plus, le COC possède d'autres avantages [94], comme :

- des résistances thermique et mécanique élevées (en fonction des proportions des différents monomères constituant le COC), similaires au PC ou au PMMA,
- des propriétés optiques surpassant celles des autres thermoplastiques avec une quasi-transparence aux UV jusqu'à 300 nm (figure 2-9 courbe rouge).

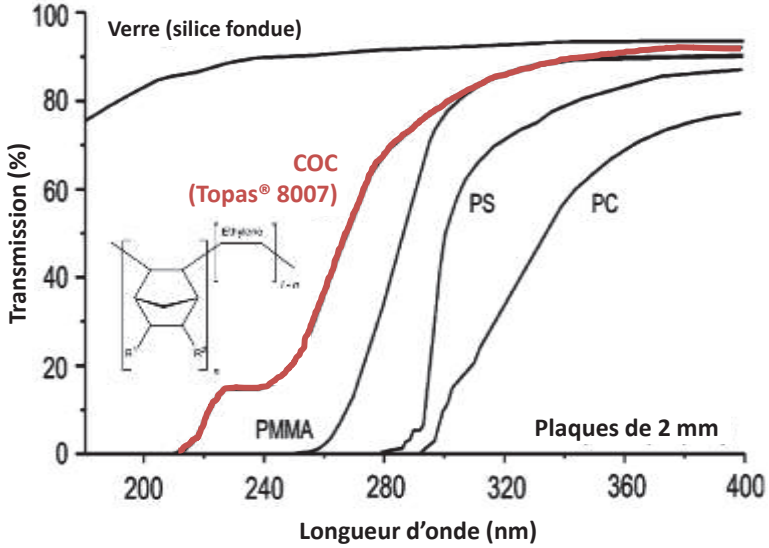


Figure 2-9 : Comparatif de la transmission optique du COC (type Topas® – 8007) avec les autres thermoplastiques couramment utilisés en microfluidique en prenant le verre comme référence [94] (Structure chimique du COC Topas, n variant suivant le type de COC).

Ses propriétés spécifiques font du COC un matériau très attractif pour la fabrication non seulement de microsystèmes séparatifs [62, 95, 96] mais aussi de colonnes chromatographiques capillaires pour la nano-chromatographie en phase liquide [97]. C'est pourquoi ce matériau est le plus pertinent dans le cadre de notre étude. En effet, ses qualités thermique, mécanique et chimique ainsi que de bonnes propriétés optiques sont autant de critères essentiels pour la fabrication d'un microsystème intégrant une phase stationnaire capable de séparer l'Uranium et le Plutonium en milieu acide fortement concentré.

Par ailleurs, parce que la structuration des thermoplastiques comme le COC par pressage à chaud est la plus adaptée à la fabrication rapide de nouveaux prototypes, les microsystèmes séparatifs développés dans le cadre du projet seront fabriqués par cette méthode. De plus, le collage du capot sera réalisé, suite à l'exposition du COC à un solvant, par pressage à chaud dans le but d'obtenir une force de collage compatible avec les pressions envisagées pour les séparations chromatographiques jusqu'à une dizaine de bars.

2.2.6 Gestion fluidique

Même s'il existe de nombreuses méthodes de mise en mouvement des fluides à l'intérieur de micro-canaux [98], la plupart ne sont pas applicables en microsystèmes

séparatifs chromatographiques. En effet, la présence d'une phase stationnaire induit notamment la création d'une contre-pression élevée. L'écoulement des fluides est alors principalement généré par création d'un gradient de pression (écoulement hydrodynamique) ou d'un gradient de champ électrique (écoulement électroosmotique) comme l'illustre la revue de Faure [99].

L'approche de type « top-down » consiste donc à utiliser un système de pompage externe afin de propulser les liquides à travers la phase stationnaire [57, 100]. C'est notamment la solution envisagée par les constructeurs Agilent et Eksigent. Il est important de comprendre qu'ici, le microsystème est nécessairement connecté à un système externe de pompage qui exige la fabrication de connexions adéquates, assurant une étanchéité parfaite. Ce type de connexion pose des problèmes d'ordre technologique que les grands constructeurs parviennent aujourd'hui à résoudre. Afin de ne pas utiliser de pompes, Kiplagat *et al.* [101] ont proposé un système original consistant à induire l'écoulement hydrodynamique au moyen d'une pression de gaz apportée par une micro-bombonne embarquée, intégrée à un système global portatif contenant le microsystème séparatif et un détecteur conductimétrique.

La seconde solution consiste à créer l'écoulement par le biais d'un flux électroosmotique. Dans une première approche, une « pompe électroosmotique » est implantée en tête de colonne chromatographique. Cette pompe électroosmotique est constituée d'un matériau chargé, qui sous l'effet d'un champ électrique, permet la mise en mouvement des fluides. Néanmoins, ce type de pompe ne permet d'atteindre que de très faibles contre-pressions, correspondant à de très faibles débits (de l'ordre de quelques dizaines de nanolitres par minute dans une colonne de dimensions 2,6 cm × 230 µm × 100 µm) [102]. Dans une seconde approche, l'écoulement électroosmotique est créé directement par la colonne chromatographique (électrochromatographie) [62]. Les débits restent là-aussi assez faibles, mais cette méthode apparaît plus simple à mettre en œuvre, à condition que la phase stationnaire présente des charges en surface permettant de générer la création d'un écoulement électroosmotique. Souvent, l'électrochromatographie permet la simplification du microsystème grâce à la suppression des vannes d'injection, remplacées par l'injection électrocinétique.

Malgré l'omniprésence de ces deux premières solutions technologiques pour l'écoulement de fluides au sein des microsystèmes séparatifs, aucune n'est apparue satisfaisante dans le cadre du projet. En effet, les phases mobiles utilisées pour la séparation U/Pu/PF sont incompatibles avec les écoulements électro-induits car la force ionique, très élevée, entraineraît la création immédiate d'un effet joule prohibitif. De plus, l'utilisation de systèmes externes de pompage (ou de pression de gaz) engendre un encombrement élevé, la présence de connexions et de vannes d'injection complexes, et reste difficilement compatible

avec une manipulation en environnement radioactif de fluides tels que les acides nitrique ou chlorhydrique (très fortement corrosif).

La solution originale qui a été finalement retenue est l'écoulement induit par la force centrifuge. Le principe, simple et donc particulièrement adapté au projet (mise en œuvre en boite à gants), fait intervenir un design particulier des microsystèmes définis alors par le terme général de laboratoires sur CD ou « Lab-on-CD » [103]. Les liquides sont dirigés depuis le centre, vers l'extérieur du disque, simplement sous l'effet de la force centrifuge. L'utilisation des Lab-on-CD, en tant que microsystème séparatif, n'a été que récemment décrite [104-106]. Pourtant, elle permet de combiner plusieurs avantages :

- dispense de l'utilisation d'appareils externes de pompage,
- ne dépend pas de la composition chimique du liquide à mettre en mouvement (à l'inverse de l'écoulement électroosmotique par exemple),
- permet un contrôle précis du débit au moyen du contrôle de la vitesse angulaire appliquée au microsystème,
- mise en œuvre simplifiée à l'extrême, sans connexion, vanne d'injection, etc…, particulièrement adaptée pour des séparations en milieu confiné hautement irradiant comme les boites à gants.

Les particularités de tels microsystèmes sur CD sont de réels avantages vis-à-vis des contraintes imposées par la séparation U/Pu/PF (début du paragraphe 2.2). C'est pourquoi, nous avons décidé de développer un microsystème de type Lab-on-CD dans cette thèse.

2.2.7 Phases stationnaires intégrées en microsystèmes

La miniaturisation de la séparation chromatographique U/Pu/PF implique l'utilisation d'une phase stationnaire facilement intégrable en microsystème, permettant la rétention des solutés par interactions électrostatiques, présentant une capacité d'échange maximale (surface d'échange analyte/phase stationnaire maximale) et une résistance élevée aux acides.

Parmi les technologies disponibles (revêtement de surface des micro-canaux, structuration spécifique du microsystème, remplissage des micro-canaux par des particules ou par une phase stationnaire synthétisée *in-situ),* les paragraphes suivants permettent de dégager la plus adaptée aux contraintes spécifiques de la séparation U/Pu/PF.

2.2.7.1 Chromatographie « en tube ouvert »

Le terme « en tube ouvert » regroupe les séparations chromatographiques en phase liquide utilisant les parois des micro-canaux en tant que phase stationnaire. Afin de maximiser les interactions solutés/phase stationnaire, il est alors nécessaire d'utiliser des canaux dont le

diamètre est proche d'une dizaine de microns [107]. Cette solution est aujourd'hui marginale et reste peu décrite. Ceci est principalement dû au manque significatif de rétention et donc de résolution propre à ce type de phase stationnaire (faible surface d'échange soluté/phase stationnaire). Afin d'augmenter la rétention des solutés, des micro-canaux ont été tapissés par des particules ou par une matrice tridimensionnelle de faible épaisseur [108]. Néanmoins, ces méthodes, difficiles à mettre en œuvre de façon reproductible et robuste, sont peu utilisées.

2.2.7.2 Structures micro-fabriquées (COMOSS)

La micro-structuration des microsystèmes en silicium, verre ou plastique rend possible la fabrication de micro-canaux « remplis » de piliers (figure 2-10). Ces structures, introduites par le groupe de Regnier [109], ont été nommées COMOSS pour « Collocated Monolithic Support Structure ». Les microsystèmes COMOSS ont d'abord été obtenus sur substrat en quartz avant une généralisation et une simplification de leur fabrication avec des matériaux plastiques comme le PDMS [110] ou le COC [111]. Ces structures présentent de nombreux avantages, comme de grandes efficacités de séparation et une reproductibilité quasi-parfaite des colonnes chromatographiques dues à l'homogénéité de la structure. Celle-ci est liée au procédé de fabrication.

On peut assimiler les COMOSS à une multitude de colonnes en tube ouvert implantées en parallèle dans le même microsystème. Malgré cela, ces microsystèmes souffrent d'un manque significatif de surface d'échange entre soluté et phase stationnaire. Ceci limite très fortement les applications envisageables, notamment pour des échantillons très concentrés. Néanmoins, et de la même façon que les parois des colonnes en tube ouvert, les piliers constituant les COMOSS peuvent être recouverts par des traitements chimiques ou par des nanotubes de carbone afin d'augmenter la rétention des solutés [112].

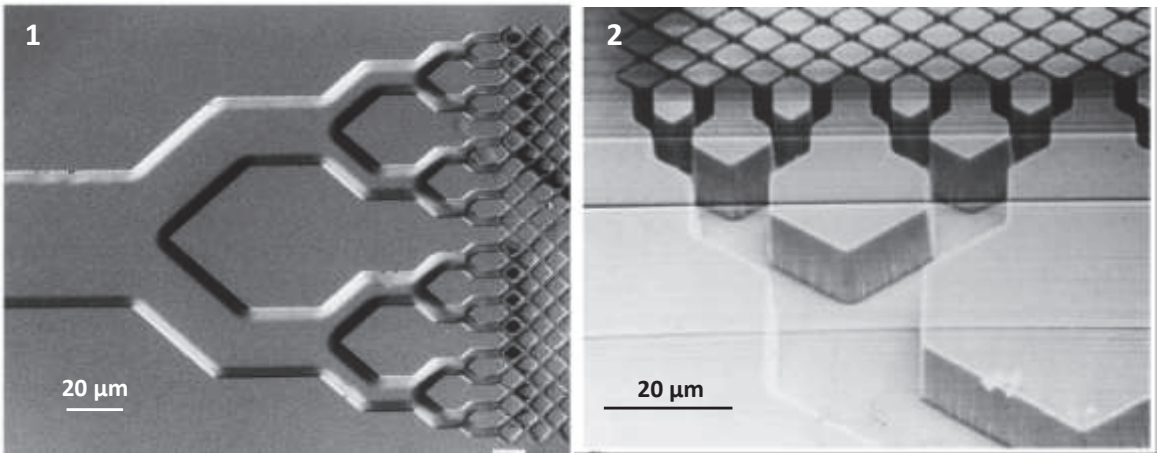


Figure 2-10 : Clichés MEB de microsystèmes séparatifs COMOSS sur substrat quartz [109].

2.2.7.3 Colonnes particulaires

L'utilisation de particules a été envisagée comme un simple transfert technologique d'échelle depuis les colonnes chromatographiques usuelles (diamètre interne de 4,6 mm) vers des micro-canaux de quelques centaines de microns et moins. En effet, le savoir-faire accumulé ainsi que la grande variété de chimies de surface disponibles font de l'utilisation de particules une voie naturelle pour l'intégration d'une phase stationnaire en microsystème. De plus, l'utilisation de particules permet de bénéficier d'une grande efficacité ainsi que d'une surface d'interaction soluté/phase stationnaire élevée (grâce à leur porosité). Néanmoins, deux défis technologiques sont apparus : le remplissage de la colonne et la création de frittés pour retenir le lit de particules.

L'homogénéité de l'écoulement à l'intérieur d'une colonne chromatographique particulaire dépend de la qualité du remplissage. Une répartition trop aléatoire des particules induit une augmentation significative de la dispersion d'une bande de soluté, et donc une diminution de l'efficacité de la colonne [113]. Afin d'obtenir une répartition homogène des particules, le remplissage est habituellement réalisé sous haute pression (plusieurs centaines de bar). Liu *et al.* ont montré la résistance mécanique d'un microsystème séparatif en COC jusqu'à 240, voire même jusqu'à 400 bars avant rupture totale du microsystème [100]. Des alternatives ont été développées comme le remplissage par centrifugation, par flux électroosmotique ou à basses pressions [114].

La seconde contrainte technologique à l'utilisation de colonnes particulaires en microsystème est la fabrication de frittés pour retenir le lit de particules. De nombreuses solutions ont été envisagées mais la solution la plus décrite reste la création d'une restriction en fin de colonne. Un effet dit de « clé de voûte » ou « keystone » est ainsi créé et empêche la fuite des particules. Une solution originale a aussi été présentée par d'Orazio *et al*. [115] avec la synthèse *in-situ* d'un polymère poreux en fin de colonne. La porosité de ce dernier empêche la fuite des particules tout en permettant l'écoulement de la phase mobile.

Ces raisons expliquent que l'utilisation de colonnes particulaires en microsystème séparatif reste principalement limitée aux microsystèmes commerciaux : la figure 2-11 montre les photographies des microsystèmes séparatifs commercialisés par la société Agilent (Chip-LC) et par la société Eksigent (cHiPLC).

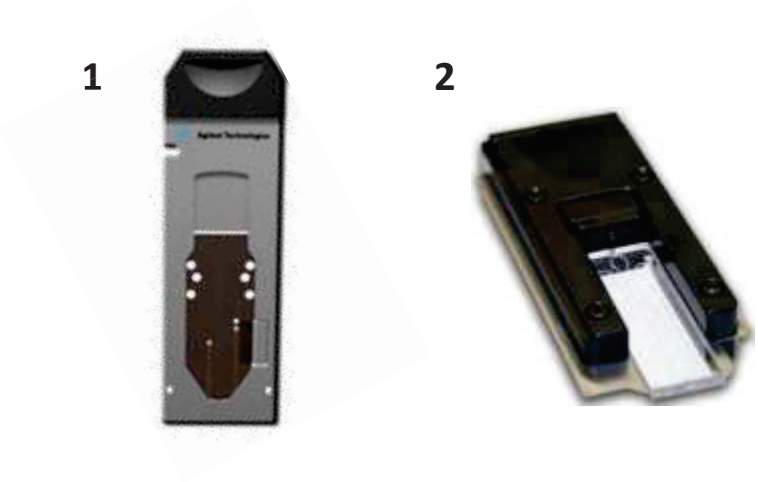


Figure 2-11 : Microsystèmes séparatifs commerciaux pour la chromatographie en phase liquide : Chip-LC d'Agilent (1) et cHiPLC d'Eksigent (2).

2.2.7.4 Phases monolithiques

Les phases stationnaires monolithiques sont issues de la synthèse *in-situ* d'un polymère poreux, organique ou inorganique. Leurs principaux avantages résident dans leur facilité de fabrication (polymérisation initiée thermiquement ou photochimiquement), leur résistance mécanique (grâce à leur ancrage covalent aux parois des micro-canaux) et leur faible résistance à l'écoulement hydrodynamique (grande perméabilité) [114]. Depuis leur introduction dans les années 1990, les monolithes organiques et inorganiques ont démontré leur intérêt en chromatographie en phase liquide au format miniaturisé (colonne de diamètre interne inférieur à quelques centaines de µm) et il existe aujourd'hui une grande variété de chimies de surface accessibles.

Les monolithes organiques commencent à s'imposer pour une utilisation en microsystèmes séparatifs grâce à leur facilité de synthèse, leurs performances chromatographiques et leur faible résistance à l'écoulement [95, 100, 116-119], même si au départ, leur faible reproductibilité de synthèse avait été remise en question [120]. Dès 2004, Svec *et al.* [121] avaient démontré l'avantage des synthèses de monolithes organiques en microsystèmes par rapport au remplissage de particules. Certaines Chip-LC d'Agilent intègrent aujourd'hui des monolithes organiques servant de colonnes de séparation ou de pré-concentration [65, 122].

L'ancrage des monolithes aux parois des colonnes les contenant (qui garantit leur résistance mécanique sans l'utilisation de frittés) est assuré grâce à la présence, en surface des parois, de groupements vinyliques qui participent à la réaction de polymérisation. Ces groupements sont introduits, en surface de colonnes en silice ou en plastique, par traitements chimiques ou photochimiques [83, 123].

Par ailleurs, l'intégration du monolithe au sein d'un microsystème séparatif peut être localisée. La synthèse est alors confinée à un endroit précis du micro-canal et l'état du polymère, en début et fin de colonne, constitue alors un paramètre critique à optimiser afin de conserver une bonne efficacité de séparation. En effet, l'évaporation des solvants utilisés au cours de la synthèse peut conduire à la dégradation de l'homogénéité longitudinale du monolithe et à une structure particulièrement inhomogène comme l'ont illustré He *et al.* [124] pour la synthèse d'un monolithe organique dans un microsystème en verre (figure 2-12, 1). L'utilisation de solvants peu volatils limite, voire supprime, le problème et conduit à l'obtention de monolithes parfaitement localisés, caractérisés par des extrémités de colonnes très nettes (figure 2-12, 2).

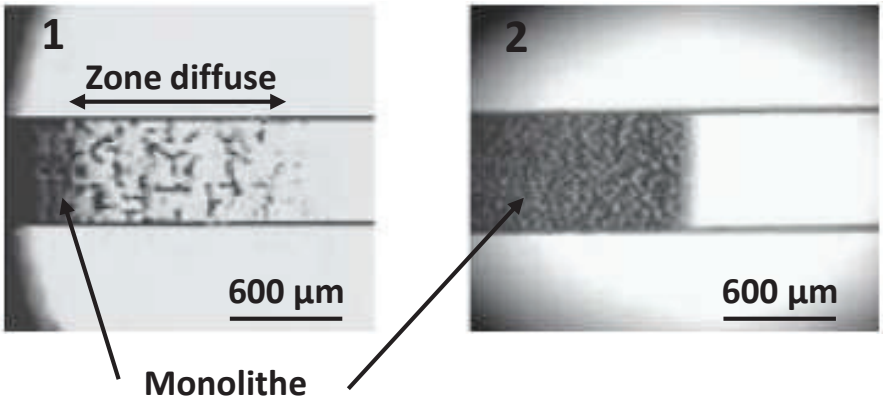


Figure 2-12 : Extrémités de colonnes monolithiques issues d'une polymérisation localisée avec : évaporation des solvants lors de la polymérisation (extrémités diffuses) (1) et utilisation de solvants peu volatils (extrémité nette) (2) [124].

2.2.7.5 Choix de la structure de phase stationnaire adaptée à la miniaturisation de la séparation U/Pu/PF

L'intégration de la phase stationnaire dans le microsystème de séparation U/Pu/PF doit satisfaire à plusieurs exigences :

- facilité et robustesse de fabrication
- stabilité chimique (milieux acides concentrés)
- propriétés d'échange d'anions afin de réaliser la séparation U/Pu/PF
- capacité d'échange élevée (échantillons fortement concentrés)

Le tableau 2-5 confronte les différentes technologies de phase stationnaire disponibles en résumant leurs principales caractéristiques (le cas des monolithes de silice n'est pas traité ici, voire paragraphe 2.3.2.).

Les colonnes en tube ouvert présentent une surface d'échange avec le soluté faible et donc une capacité d'échange très limitée, non-compatible avec la séparation U/Pu/PF. C'est d'ailleurs aussi le cas pour les microsystèmes de type COMOSS.

Les colonnes remplies par des particules commerciales offrent quant à elles une bonne fiabilité lorsque le remplissage est maîtrisé et se sont révélées efficaces pour la chromatographie en phase liquide d'échange d'ions comme l'attestent les solutions commerciales aujourd'hui disponibles. Néanmoins leur préparation reste aujourd'hui techniquement difficile et semble réservée aux industriels.

Tableau 2-5 : Comparaison qualitative des différents types de phase stationnaire intégrables en microsystèmes séparatifs (++ et + signifient très adapté et adapté, - et - - signifient peu voire pas adapté).

Critères de comparaison	Colonne en tube ouvert	COMOSS	Colonnes particulaires	Monolithes organiques
Facilité de préparation	-	--	--	++
Facilité d'intégration	+	+	--	++
Reproductibilité de préparation	+	+	+	+
Surface spécifique (surface d'échange)	--	--	++	+

Les monolithes apparaissent comme les plus attractifs pour la fabrication de microsystèmes séparatifs [124] principalement grâce à leurs simplicité et robustesse de fabrication et leur intégration aisée dans un système fluidique complexe (localisation). De plus, leur structure présente un bon compromis entre propriétés d'écoulement (porosité élevée engendrant peu de résistance à l'écoulement, et donc une perte de charge minime lors de l'application de débit) et surface d'échange analyte/phase stationnaire (capacité d'échange relativement élevée, notamment grâce aux différentes méthodes de fonctionnalisation envisageables, voir paragraphe 2.3.6.). Ils apparaissent donc comme le choix le plus pertinent pour la conception d'un microsystème de séparation U/Pu/PF.

2.2.8 Choix relatifs à la conception et la fabrication du microsystème de séparation U/Pu/PF

La fabrication d'un microsystème séparatif plastique apparait comme la plus aisée à mettre en œuvre dans le cadre de ce projet de par le faible coût des matériaux, une fabrication maîtrisée et la possibilité de fabriquer plusieurs prototypes rapidement grâce au micro-usinage de moules métalliques. Parmi les polymères disponibles, les Copolymères d'Oléfines Cycliques s'imposent de plus en plus grâce à leurs excellentes propriétés chimiques, optiques, thermiques et mécaniques mais aussi grâce à leur facilité de structuration par pressage à

chaud. Pour ces raisons, la fabrication de microsystèmes séparatifs en COC a été retenue dans cette étude.

Par ailleurs, en raison des contraintes spécifiques liées à la réalisation de la séparation U/Pu/PF (phases mobiles acides), la gestion des écoulements au moyen de la force centrifuge a été identifiée comme la plus adaptée en raison de sa simplicité de mise en œuvre en environnement confiné et irradiant comme les boites à gants.

Enfin, pour des raisons liées à l'intégration en microsystème mais aussi aux contraintes spécifiques à la séparation U/Pu/PF (résistance chimique, capacité d'échange élevée, etc…), l'utilisation de phases stationnaires monolithiques a été choisie. Si d'une façon générale les monolithes apparaissent particulièrement adaptés à une intégration en microsystème séparatif, le prochain chapitre détaille leurs propriétés chimiques et structurales spécifiques afin d'identifier le type de monolithe le plus adapté à la séparation U/Pu/PF par chromatographie d'échange d'anions.

2.3 Phases stationnaires monolithiques

Les phases stationnaires monolithiques, ou monolithes, sont le fruit de recherches menées par Hjerten et Svec respectivement sur l'obtention de gels polymériques [125] et de résines polymériques macroporeuses [126]. Ces recherches ont conduit à l'obtention des premiers monolithes organiques polyacrylamide et polyméthacrylate. Quelques années plus tard, Nakanishi et Soga [127] ont introduit les monolithes de type inorganique après l'obtention d'un matériau poreux à base de silice, issu de la synthèse par voie sol-gel. Rapidement, ces nouveaux matériaux ont provoqué un engouement de la communauté scientifique, fait l'objet de brevets (société Merck) et sont maintenant assez bien implantés en chromatographie liquide. Ces phases stationnaires d'un nouveau genre, obtenues par synthèse in-situ, directement à l'intérieur de la colonne, sont particulièrement adaptées à la fabrication de colonnes chromatographiques de faibles dimensions (colonnes capillaires, diamètre interne inférieur à 250 µm), et sont utilisées en nano-chromatographie liquide.

2.3.1 Propriétés générales des monolithes

Une colonne monolithique est donc constituée d'un matériau poreux continu (un seul bloc) par opposition aux colonnes particulaires. La répartition poreuse des monolithes est généralement composée de macropores (≈ 1µm), de mésopores (2<x<50 nm) et de micropores (<2 nm). Les macropores permettent l'écoulement de la phase mobile au travers du monolithe tandis que les mésopores permettent de développer la surface d'échange soluté/phase stationnaire. Les surfaces spécifiques développées par les monolithes s'étendent de quelques m²/g (absence de mésoporosité), jusqu'à plusieurs centaines de m²/g. Selon le procédé de synthèse mis en œuvre, les monolithes organiques présentent le plus souvent une surface spécifique plus faible que leurs homologues de silice, et ceci à cause du manque, voire de l'absence de mésoporosité comme le montre la figure 2-13. Ainsi, les monolithes de silice, tout comme les particules de silice ont une répartition bimodale caractérisée par la présence de mésopores (autour des 20 nm) et de macropores (5-10 µm) [128]. Ce n'est, en général, pas le cas des monolithes organiques qui présentent une répartition monomodale avec un maximum centré autour du micro-mètre.

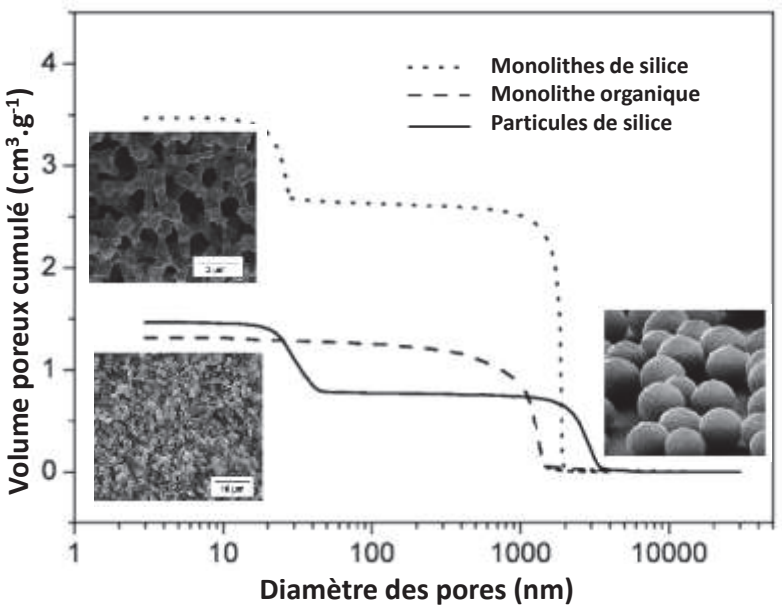


Figure 2-13 : Comparaison des allures de répartitions poreuses typiques des monolithes de silice et des monolithes organiques vis-à-vis de celle des particules de silice utilisées en chromatographie liquide, adaptée de [129].

Les monolithes se caractérisent aussi par une porosité totale pouvant aller jusqu'à 90% pour certains monolithes inorganiques [120], grâce à la présence de macropores de tailles supérieures au micron. Il en résulte une perméabilité élevée des colonnes monolithiques, 10 à 100 fois supérieure à celle des colonnes particulaires (tableau 2-6). Ceci donne lieu à un transfert de masse rapide (figure 2-14, droite), par opposition à celui observé à l'intérieur de colonnes remplies de particules (figure 2-14, gauche) permettant d'élever la vitesse linéaire de phase mobile sans perte significative d'efficacité de séparation.

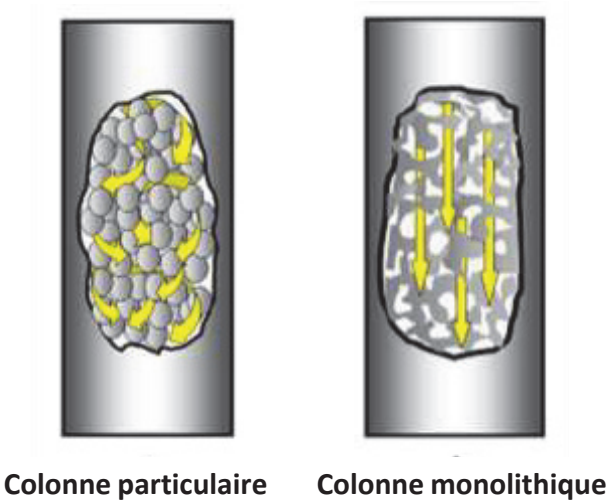


Figure 2-14 : Représentation schématique d'un écoulement de phase mobile au travers de colonnes particulaire et monolithique.

La chimie de surface des monolithes atteint aujourd'hui la même diversité que celle des colonnes particulaires et permet d'obtenir une grande variété de sélectivités. Par exemple, des sélectivités originales ont été introduites par l'utilisation de monolithes inorganiques d'oxydes de zirconium ou de titane [130, 131]. Aujourd'hui, la quasi-totalité des fournisseurs de colonnes chromatographiques propose des colonnes monolithiques pour la chromatographie d'échange d'ions, à base de silice (Merck) ou à base polymérique (Dionex, Agilent, Methrom, etc …).

2.3.2 Définition du monolithe adapté au projet

Le monolithe développé pour la séparation U/Pu/PF doit satisfaire à plusieurs exigences :

- facilité et robustesse de fabrication,
- stabilité chimique (milieux acides concentrés),
- fonctionnalisation aisée afin de réaliser la séparation U/Pu/PF par échange d'anions,
- capacité d'échange élevée (échantillons fortement concentrés).

Malgré leurs similarités, monolithes organiques et inorganiques présentent des structures chimiques opposées, des différences structurales assez marquées, ainsi que des protocoles de synthèse très différents qui permettent d'orienter le choix vers l'un ou l'autre en fonction de l'application voulue [132]. Le tableau 2-6 regroupe les propriétés essentielles de chacun des deux types de monolithes.

Tableau 2-6 : Comparaison des propriétés des monolithes organiques et de silice.

Propriétés	Monolithes organiques	Monolithes de silice	Réf
Perméabilité (colonne particulaire : 10^{-15} m²)	10^{-14} m²	10^{-13} m²	[120]
Porosité	0,7 à 0,9	0,8 – 0,9	[120]
Surface spécifique (colonne particulaire : 100-400 m²/g)	quelques m²/g jusqu'à une centaine de m²/g	Jusqu'à 300 m²/g	[120, 132-135]
Synthèse en microsystème plastique	Très facile	Difficile	/
Résistance aux pH extrêmes	Très bonne	Faible	[97]

Globalement, les monolithes sont particulièrement adaptés à la miniaturisation grâce à la possibilité de les synthétiser directement *in-situ* (paragraphe 2.2.5.). Néanmoins, même si la synthèse de monolithes inorganiques a été réalisée en microsystème séparatif [136, 137], celle-ci reste particulièrement difficile à mettre en place sur de tels dispositifs notamment à

cause du phénomène de contraction de la structure qui accompagne la synthèse. Les monolithes organiques offrent une plus grande souplesse de fabrication et se sont donc largement imposés pour la fabrication de microsystèmes séparatifs [138], particulièrement dans le cas de microsystèmes plastiques.

Par ailleurs, l'utilisation d'un monolithe de silice est incompatible avec la séparation U/Pu/PF en raison de l'extrême acidité des phases mobiles pouvant engendrer une forte dégradation du monolithe [97].

C'est pourquoi les monolithes organiques apparaissent comme les plus adaptés pour ce travail. Aussi, les prochains paragraphes détailleront leur composition chimique ainsi que leurs voies de synthèse.

2.3.3 Composition chimique et voies de synthèse des monolithes organiques

Les monolithes organiques sont obtenus par polymérisation et sont classés selon la nature chimique des monomères, associée le plus souvent à un procédé de synthèse. Le choix d'une famille de monomères et/ou d'une méthode de polymérisation dépend alors de l'application finale choisie pour le monolithe.

La synthèse d'un monolithe organique nécessite :

- un ou plusieurs monomères fonctionnels, choisis en fonction de la chimie de surface désirée : monomère neutre, chargé, hydrophobe, etc …,
- un monomère réticulant qui donne la structure tridimensionnelle du monolithe en assurant la création de liaisons entre les chaînes polymériques linéaires,
- un initiateur radicalaire de la réaction de polymérisation,
- un mélange de solvants (appelé porogène), qui génère la porosité finale du polymère. Ce porogène doit être à même de solubiliser à la fois les monomères et l'initiateur radicalaire au départ, mais aussi de permettre la précipitation à un instant précis des chaînes polymériques en croissance.

L'influence de chacun de ces constituants sur la structure finale du monolithe sera détaillée dans le paragraphe 2.3.4.

2.3.3.1 Classes de monomères utilisées pour la synthèse de monolithes organiques

Différentes classes de monomères organiques ont été utilisées pour la synthèse de monolithes organiques, en fonction de l'application souhaitée. Ainsi, Urban et Jandera [139] ont proposé de les classer en fonction de leur nature hydrophobe et de leur polarité:

- les copolymères de norbornène, norbordiène ou dicyclopentadiène, apolaires,

- les polystyrènes-co-divinylbenzène (PS-DVB), fortement hydrophobes,
- les copolymères d'acrylates ou de méthacrylates, modérément polaires,
- les copolymères d'acrylamides, fortement polaires.

Les monolithes à base de copolymères de norbornène sont utilisés pour la préparation d'échantillon, la chromatographie d'échange d'ions ou d'exclusion stérique et ont notamment fait l'objet d'une revue par Buchmeiser [140]. Leur utilisation reste marginale car leur préparation est spécifiquement obtenue par polymérisation par ouverture de cycle (« Ring Opening Metathesis Polymerization ») et offre donc peu de souplesse, même si les monolithes obtenus ont des surfaces spécifiques élevées allant jusqu'à 210 m^2/g [141].

Les trois autres classes de monomères sont les plus courantes. Les PS-DVB ont été largement employés en CPL grâce à la sélectivité apportée par les groupements aromatiques des monomères [97, 142-144]. Les acrylamides sont, quant à eux, dits « biocompatibles », c'est-à-dire qu'ils permettent d'éviter l'adsorption non-spécifique de macromolécules biologiques (protéines, ADN), grâce à leur forte polarité. Hjerten a mis en évidence, dès leur introduction, leur potentialité pour la séparation et/ou purification de protéines notamment [125, 145]. Plus tard la société Biorad les a commercialisés sous le nom d'UNO. Aujourd'hui, les monolithes polyacrylamides bénéficient d'un net regain d'intérêt pour la purification, la séparation ou la digestion enzymatique de protéines, profitant de l'essor de la protéomique [146, 147]. Il est important de noter qu'il n'existe que très peu de travaux sur l'emploi des monolithes PS-DVB et polyacrylamides pour la chromatographie d'échange d'ions.

A l'inverse, comme l'atteste la revue de Hilder [148], les monolithes polyméthacrylates sont les plus utilisés pour la chromatographie d'échange d'ions [149-152], notamment en raison de la disponibilité d'une grande variété de monomères commerciaux [153] et de la polyvalence de leur fonctionnalisation [154]. Pour ces raisons, ce sont de bons candidats au développement d'une phase stationnaire d'échange d'anions pour la séparation U/Pu/PF.

C'est pourquoi, seuls les procédés de synthèse et de fonctionnalisation des monolithes méthacrylates seront détaillés par la suite.

2.3.3.2 Procédés de polymérisation des monolithes polyméthacrylates

La figure 2-15 illustre la structure chimique de différents monomères utilisés pour la synthèse de monolithes polyméthacrylates avec : un mono-fonctionnel (qu'on appelle par abus de langage monomère fonctionnel), et des monomères bi et tri-fonctionnel (appelés agents réticulants car possédant deux ou trois fonctions réactives).

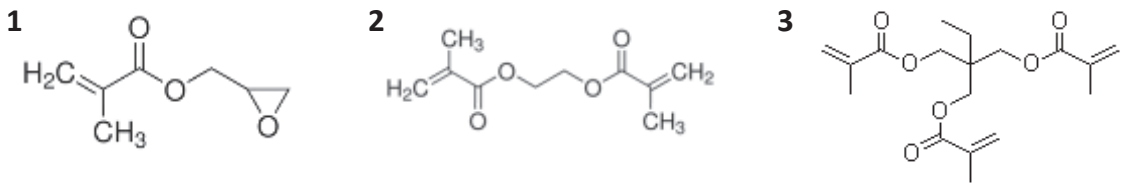


Figure 2-15 : Structure chimique des monomères méthacrylates : 1. exemple d'un monomère fonctionnel, le glycidyl méthacrylate, 2. et 3. exemples de monomères di et tri fonctionnels (réticulants), respectivement l'éthylène glycol diméthacrylate et le triméthylpropane triméthacrylate.

La polymérisation des monolithes polyméthacrylates est généralement obtenue après la préparation d'un mélange réactionnel où le porogène est soit essentiellement organique soit essentiellement aqueux. Les synthèses par cryogélification [155] ou par émulsion [156] dans un porogène aqueux conduisent à des monolithes présentant une structure singulière très différente de celle habituellement rencontrée pour des monolithes organiques (figure 2-16). Celle-ci leur confère une excellente perméabilité ($\geq 10^{-13}$ m²) et parfois, une surface spécifique élevée (plusieurs centaines de $m^2.g^{-1}$). Néanmoins, les contraintes imposées par ces procédés de polymérisation sont incompatibles avec une mise en œuvre en microsystème (basse température nécessaire par exemple pour le cryogel). De plus ces monolithes ont été exclusivement utilisés pour l'analyse de macromolécules (protéines, ADN, oligomères) voire même de cellules [157]. Pour ces raisons, l'obtention de monolithes polyméthacrylates par cryogel, ou par émulsion a été écartée.

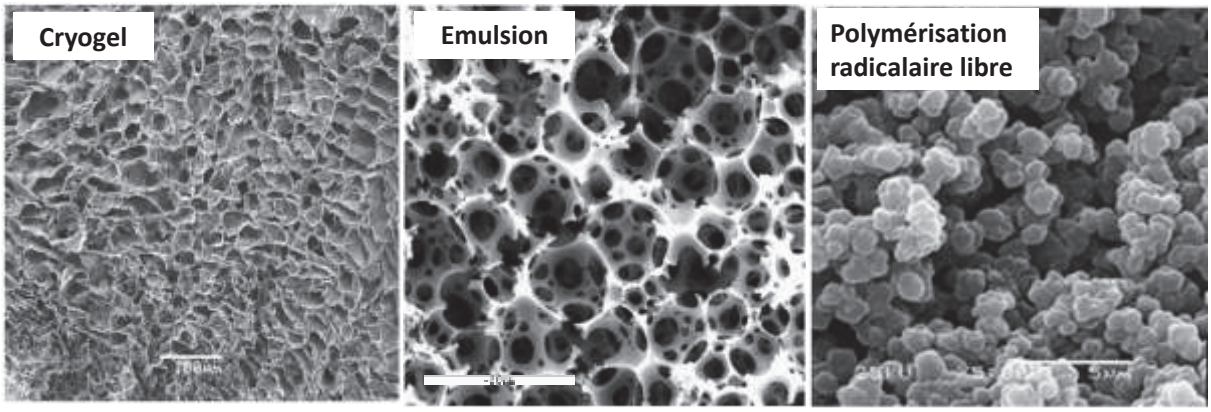


Figure 2-16 : Clichés MEB de monolithes organiques obtenus par : cryogélification, émulsion et polymérisation radicalaire libre, adaptées de [155, 156].

La méthode de synthèse des polyméthacrylates la plus répandue est la polymérisation radicalaire en chaîne (initiée thermiquement, photochimiquement ou par réactions redox) et conduit à la formation de monolithes présentant une structure constituée de l'agglomération de globules (figure 2-16). Sa simplicité de mise en œuvre, la diversité d'initiations possibles

et sa robustesse en font une méthode de choix pour la préparation de monolithe polyméthacrylate en colonnes chromatographiques capillaires ou en microsystèmes.

2.3.3.3 Synthèse des monolithes polyméthacrylates par polymérisation radicalaire en chaîne

Le principe général du déroulement de la synthèse d'un monolithe par polymérisation radicalaire en chaîne est le même quels que soient les monomères utilisés. En effet, le mélange réactionnel initial contient un initiateur radicalaire (spécifique ou non suivant le type d'initiation choisi), un porogène (mélange de solvants) et un mélange de monomères mono, bi ou trifonctionnels. L'initiateur radicalaire, soumis à certaines conditions de température ou de longueur d'onde d'insolation, va se décomposer pour former en théorie deux radicaux libres en solution et initier la polymérisation (en pratique l'efficacité d'initiation notée f n'est pas de 100 %). Lorsque les chaînes polymériques en formation atteignent une masse moléculaire trop élevée, elles précipitent. Ceci est notamment dû à la réticulation de ces dernières lors de la polymérisation et dépend fortement du porogène utilisé [158]. Ces centres de polymérisation précipités sont appelés nucléis. La taille des nucléis continue à croître grâce à l'apport continu de monomères situés à leur proximité. Les monomères ont une « solubilité » plus grande dans la matrice polymérique en croissance que dans le porogène [159, 160], leur addition aux nucléis précipités est alors cinétiquement favorisée. La croissance des nucléis vicinaux entraîne leur « rencontre » et la formation d'ensembles appelés nodules ou globules. La réticulation s'opère entre ces nucléis et la structure continue tridimensionnelle du monolithe apparaît. Cette forte réticulation (due à la présence d'une grande quantité d'agent réticulant au départ), est à l'origine de la résistance mécanique élevée des monolithes. En fin de polymérisation, la porosité totale du polymère correspond grossièrement à la fraction volumique de porogène présent au départ dans le mélange réactionnel.

2.3.3.4 Processus de polymérisation radicalaire en chaîne

On distingue les réactions de polymérisation en chaine, des réactions par étape ou contrôlées (définition introduite par Flory au début des années 1950 [161]). La polymérisation contrôlée a une cinétique globale lente, et les monomères sont incorporés au polymère de façon à ce que la croissance des chaînes polymériques soit linéaire et donc contrôlable. Ce n'est pas le cas pour la polymérisation radicalaire en chaîne, où, dès le début de la réaction, des chaines polymériques de hauts poids moléculaires sont formées de façon non-contrôlée en raison d'une cinétique réactionnelle extrêmement rapide.

La réaction de polymérisation radicalaire en chaîne se décompose en trois phases distinctes : l'initiation, la propagation et la terminaison.

L'initiation correspond à la formation des radicaux dits primaires, c'est-à-dire ceux qui engendrent la polymérisation. Cette étape est lente et gouverne donc la cinétique globale de la polymérisation. Elle nécessite l'apport d'une grande quantité d'énergie car même si la réaction de polymérisation est, en général, thermodynamiquement favorable, sa cinétique peut être limitante si l'apport d'énergie est insuffisant. La propagation correspond à la croissance des chaînes polymériques. Cette étape est très rapide. La terminaison de la réaction peut se faire lorsque la totalité des monomères a été consommée ou lorsque deux chaînes en croissance s'additionnent (terminaison par combinaison).

Ces différentes étapes peuvent être décrites de la façon suivante [162] :

Initiation : $I \longrightarrow 2\ R^{\bullet}$ avec k_d la constante de dissociation de l'initiateur I **2.3**

$R^{\bullet} + M \longrightarrow M^{\bullet}$ avec k_i la constante d'initiation de la réaction **2.4**

Propagation : $M_n^{\bullet} + M \longrightarrow M_{n+1}^{\bullet}$ avec k_p la constante de propagation **2.5**

Terminaison : $M_n^{\bullet} + M_m^{\bullet} \longrightarrow M_{n+m}$ avec k_t la constate de terminaison **2.6**

Avec I l'initiateur radicalaire, $R^{\bullet}$ le radical formé par l'initiateur, M une molécule de monomère, $M^{\bullet}$ le radical primaire et M_{n+m} une chaîne polymérique morte (i.e., qui ne peut plus participer à la polymérisation).

La vitesse générale de polymérisation, qui correspond à la vitesse de consommation des monomères en solution, est décrite par :

$$\frac{-d[M]}{dt} = R_i + R_p \qquad \textbf{2.7}$$

avec R_i et R_p les vitesses d'initiation et de propagation respectivement. Cette relation ne se vérifie que si les constantes k_i et k_p sont indépendantes de la taille de la chaine polymérique M. En effet, au fur-et-à-mesure de la polymérisation, la taille des chaînes de polymère augmente. On fait alors l'hypothèse que la réactivité de M_n n'est pas une fonction du poids moléculaire et donc indépendante du temps [163].

La vitesse de propagation R_p est décrite par :

$$R_p = k_p[M_n^{\bullet}][M] \qquad \textbf{2.8}$$

Etant donnée la durée de vie des radicaux, il est difficile d'obtenir une information quantitative sur leur concentration $[M^{\bullet}]$ au cours du temps. C'est pourquoi il est nécessaire de faire l'hypothèse d'un état quasi-stationnaire dans lequel la concentration des radicaux $M_n^{\bullet}$

atteint très rapidement un maximum et reste constante tout au long de la réaction : la quantité de radicaux M• formée est égale à la quantité de radicaux incorporée au polymère en croissance (hypothèse employée pour décrire des réactions faisant intervenir un intermédiaire réactionnel très réactif [164]). Ceci permet aussi d'écrire que les vitesses d'initiation et de terminaison sont égales :

$$R_i = R_t = 2k_t[M^\bullet]^2 \qquad \textbf{2.9}$$

En combinant les équations 2.8 et 2.9, il est possible de décrire la vitesse de propagation lors d'une réaction de polymérisation radicalaire en chaîne de la façon suivante [162] :

$$R_p = k_p[M]\left(\frac{R_i}{2k_t}\right)^{1/2} \qquad \textbf{2.10}$$

Ou d'une façon très simplifiée [165]:

$$R_p \propto [M] \times R_i^{1/2} \qquad \textbf{2.11}$$

La relation 2.11 démontre ainsi qu'au travers des vitesses d'initiation et de propagation, les paramètres gouvernant une polymérisation radicalaire en chaîne sont :

- le type d'initiateur,
- la classe de monomères utilisés (leurs réactivités étant différentes),
- la concentration des monomères.

Les propriétés structurales du monolithe en formation sont en partie contrôlées par l'ajustement de ces paramètres cinétiques. Néanmoins, l'obtention d'un monolithe présentant une structure adaptée à la chromatographie en phase liquide dépend aussi de nombreux paramètres thermodynamiques comme le montre le prochain paragraphe.

2.3.4 Optimisation de la synthèse des monolithes polyméthacrylates pour la chromatographie liquide

L'optimisation des conditions de polymérisation pour la synthèse de monolithes organiques doit conduire à la formation d'un polymère ayant une structure poreuse adaptée à la chromatographie liquide. La majorité des exemples cités ci-après proviennent d'optimisations de monolithes pour la chromatographie en phase inverse. Néanmoins, les paramètres optimisés ne sont pas spécifiques et restent valables pour l'optimisation d'un monolithe dédié à la chromatographie d'échange d'ions.

L'optimisation des conditions de synthèse des monolithes organiques par polymérisation radicalaire en chaîne reste aujourd'hui majoritairement empirique. Il est néanmoins possible de dégager les grandes tendances qui se dessinent au fur-et-à-mesure des développements apportés. Comme cité précédemment, la structure finale du monolithe dépend du couple initiateur/initiation, de la classe de monomères et de leurs concentrations mais aussi et surtout de la composition du porogène. D'une façon générale, le développement d'un monolithe pour la chromatographie d'échange d'ions repose sur une optimisation en deux étapes de :

- la structure poreuse pour : i. permettre à la phase mobile de circuler à travers le monolithe avec une faible résistance à l'écoulement et ii. générer un volume mésoporeux élevé afin de maximiser la surface accessible d'échange soluté/phase stationnaire.
- la fonctionnalisation de surface du monolithe afin d'obtenir la sélectivité désirée.

Ces deux étapes sont le plus souvent dissociées et optimisées séparément.

2.3.4.1 Structure poreuse du monolithe

Une description générale du processus et des principaux paramètres influant sur la création de mésoporosité dans la structure d'un poly(BMA-co-EDMA) a été proposée par Urban [166] à l'issu de traitements mathématiques de données obtenues par plan d'expériences. Cela a permis l'obtention d'un monolithe à la porosité contrôlée, ayant une proportion significative de mésopores, adapté à son application en chromatographie d'exclusion stérique pour la séparation de polystyrènes. Néanmoins, parce que tous les paramètres réactionnels ont des effets synergiques et/ou antagonistes sur la synthèse d'un monolithe, son optimisation reste largement empirique. Elle est nécessaire dès qu'un nouveau monomère, un nouveau porogène ou un nouvel initiateur est utilisé, et dépend toujours de l'application finale du monolithe. Ainsi, dans l'exemple ci-dessus, l'objectif était d'obtenir une proportion significative de mésopores de taille contrôlée afin d'obtenir une séparation par chromatographie d'exclusion stérique.

D'après les premiers travaux de Svec, Fréchet et al. en 1996 [167], la définition d'un « bon » monolithe pour la CPL est la suivante : « Typiquement, le matériau doit contenir un volume suffisant de canaux d'un diamètre proche du µm (macropores), et, pour certaines applications, des pores diffusifs additionnels d'une taille inférieure à 100 nm ».

La structure poreuse du monolithe est donc à l'origine des performances chromatographiques. Ainsi, l'optimisation des conditions de synthèse est réalisée par le suivi de paramètres chromatographiques clés comme la perméabilité, l'efficacité et la rétention.

L'objectif est d'obtenir un monolithe combinant une perméabilité élevée, une efficacité de séparation et une rétention maximum.

a. Perméabilité des monolithes

La perméabilité d'un matériau caractérise sa résistance à l'écoulement d'un liquide. Dans le cas des monolithes organiques, la perméabilité est directement reliée à la macroporosité : plus la taille des macropores est importante (au-dessus de quelques µm), plus la perméabilité est élevée. On détermine la perméabilité (K_0) des monolithes à partir de la loi de Darcy [168] :

$$K_0 = \frac{\upsilon_0 \eta L}{\Delta P} = \frac{\left({}^{L}/_{t_0}\right)\eta L}{\Delta P} \quad (en\ m^2) \qquad \textbf{2.12}$$

avec υ_0 la vitesse de la phase mobile déterminée par la mesure du temps mort t_0 avec une molécule non-retenue par la colonne, η la viscosité dynamique du fluide constituant la phase mobile, L la longueur de la colonne monolithique et ΔP la perte de charge mesurée pour un débit D appliqué.

D'une façon analogue, on décrit la perméabilité dite spécifique [169] par :

$$K_F = \frac{D\eta L}{\pi r^2 \Delta P} \quad (en\ m^2) \qquad \textbf{2.13}$$

avec r le rayon de cette colonne.

Il est possible de relier la perméabilité à la porosité totale du monolithe. Cette dernière représente la fraction de volume vide d'une colonne monolithique et peut être obtenue par la relation suivante :

$$\varepsilon_T = \frac{V_0}{V_{colonne}} = \frac{Dt_0}{V_{colonne}} \qquad \textbf{2.14}$$

avec V_0 le volume mort de la colonne déterminé par la mesure du temps d'élution t_0 d'une molécule non-retenue par la colonne, $V_{colonne}$ le volume de la colonne contenant le monolithe. Finalement, en combinant les relations 2.12, 2.13 et 2.14, il est possible de relier K_F et K_0 par la relation suivante :

$$K_F = K_0 \frac{Dt_0}{\pi r^2 L} = K_0 \varepsilon_T \qquad \textbf{2.15}$$

Les monolithes organiques obtenus par polymérisation radicalaire en chaîne ont une perméabilité intermédiaire, entre les monolithes de silice et les particules de 5 µm (tableau 2-6). Il est facilement possible d'atteindre une perméabilité égale à celle des monolithes de silice en utilisant par exemple une plus grande fraction volumique de solvants porogènes dans le mélange réactionnel de départ [170]. Cette perméabilité accrue permet d'augmenter le débit de phase mobile en limitant l'obtention d'une perte de charge prohibitive.

La perméabilité des monolithes est un critère encore plus important lors de leur mise en œuvre en microsystèmes où les pressions maximales sont limitées technologiquement à quelques dizaines de bar maximum, notamment pour les microsystèmes en plastique. C'est pourquoi son optimisation est importante dans le cadre de la thèse.

b. Efficacité

L'efficacité de séparation en CPL est caractérisée par la mesure de la dispersion d'une bande de soluté en migration dans la colonne. L'allure du pic obtenu en fin de séparation représente la distribution statistique (gaussienne) des temps de transit des molécules de solutés au travers de la colonne. La largeur du pic à mi-hauteur caractérise la dispersion. Elle est déterminée par la variance du pic chromatographique σ_L^2 pour une longueur de colonne donnée. L'accroissement de la dispersion du pic en fonction de la longueur de colonne est alors caractérisé par la notion de hauteur équivalente à un plateau théorique H tel que :

$$H = \frac{\sigma_L^2}{L} \qquad \textbf{2.16}$$

Cette dispersion est la somme de trois contributions (relation 2-17) : l'anisotropie d'écoulement (diffusion d'Eddy) (A), la diffusion longitudinale (B/υ) et la résistance au transfert de masse (C.υ) qui dépend du temps de diffusion des molécules à travers les pores [171].

La relation de Van Deemter permet de rendre compte des variations de la diffusion longitudinale et de la résistance au transfert de masse en fonction de la vitesse de phase mobile υ :

$$H = A + \frac{B}{\upsilon} + C.\upsilon \qquad \textbf{2.17}$$

La figure 2-17 représente la variation de H en fonction de la vitesse de phase mobile pour des colonnes particulaires de 10, 5 et 3 µm. Ainsi, la diminution de la taille de particules

permet de diminuer H jusqu'à une valeur minimum qui est conservée même à des vitesses de séparation élevées lorsque la taille des particules atteint 3 µm (ici jusqu'à 1 cm/s).

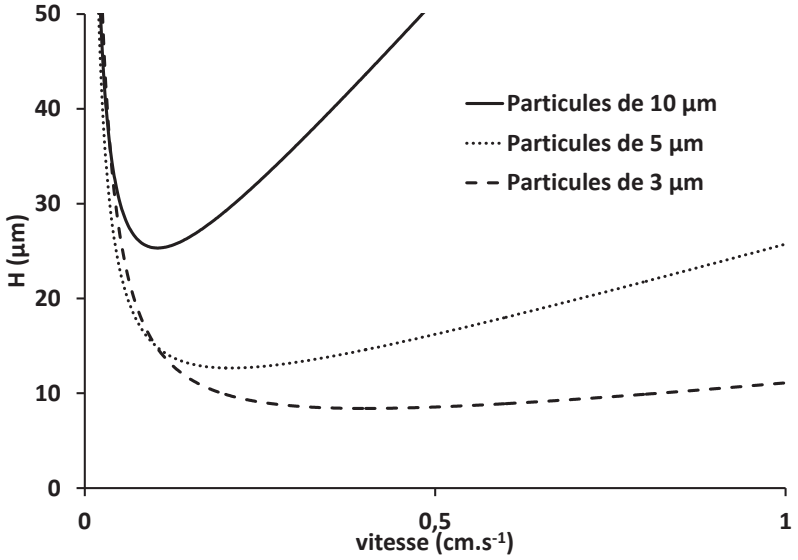


Figure 2-17 : Allures des courbes de Van Deemter caractéristiques de colonnes remplies par des particules de différents diamètres.

En général, la structure des monolithes organiques obtenus par polymérisation radicalaire en chaîne ne contient pas de mésoporosité. C'est pourquoi ces matériaux sont particulièrement intéressants pour la séparation de molécules de hauts poids moléculaires comme les protéines [157, 172-174], les acides nucléiques ou les polymères synthétiques [175]. Dans ce cas, l'évolution de l'efficacité en fonction de la vitesse s'approche de celle obtenue pour des particules d'un diamètre proche de 3 à 5 µm. Parce que ce type de molécules n'entre pas dans la structure microporeuse du monolithe, les interactions soluté/phase stationnaire ne sont pas limitées cinétiquement par la diffusion. Le transfert de masse est alors optimal [176] (terme C de l'équation de Van Deemter faible), et la vitesse de phase mobile peut être augmentée sans élargissement significatif des pics (sans perte significative d'efficacité).

A l'inverse, ces monolithes n'ont pas encore montré de telles performances pour la séparation de petites molécules, spécialement pour celles fortement retenues par la colonne. Ceci est souvent expliqué par l'absence de mésoporosité puisque cela constitue la différence majeure avec les monolithes de silice notamment. Ces derniers présentent en effet de meilleures performances pour la séparation de petites molécules comme l'explique Guiochon [120] dans sa revue traitant des applications des monolithes organiques et inorganiques en CPL.

Néanmoins, les monolithes polyméthacrylates présentent d'excellentes performances en chromatographie d'échange d'ions [144, 148, 177-179] et sont donc adaptés à la séparation U/Pu/PF.

c. Rétention :

En chromatographie liquide, la rétention d'un soluté sera d'autant plus faible que la surface spécifique développée par la phase stationnaire est faible. Dans le cas des monolithes organiques, cette dernière est généralement faible (quelques m^2/g) en raison de l'absence de mésoporosité dans le matériau. Une solution consiste alors à diminuer la taille des globules. Néanmoins, celle-ci s'accompagne d'une diminution de la macroporosité et peut conduire à la formation d'un polymère totalement imperméable à l'écoulement. Il est donc admis qu'un bon compromis est d'obtenir des globules et des macropores de l'ordre du µm afin d'allier rétention et perméabilité [167].

Il est important de noter qu'en chromatographie d'échange d'ions, ce manque de surface accessible pour les interactions solutés/phase stationnaire peut aussi être compensé par la mise en œuvre de techniques de fonctionnalisations spécifiques détaillées par la suite.

d. Conclusions :

D'après les critères détaillés ci-dessus, la structure optimale d'un monolithe obtenu par polymérisation radicalaire en chaîne, pour la chromatographie liquide (assez proche de la définition de Svec) peut être définie par:

- une grande proportion de macropores de taille micrométrique afin de permettre un écoulement aisé de la phase mobile,
- une taille de globules micrométrique afin de développer une grande surface spécifique,
- un contrôle optimal de la réticulation des globules afin : i. de créer de la mésoporosité et ii. d'éviter la formation d'une zone de gel en surface du monolithe.

2.3.4.2 Initiation de la polymérisation radicalaire en chaîne pour la synthèse de monolithes polyméthacrylates

L'équation 2-10 est décrite dans le cas général où la méthode de production des radicaux dans l'étape d'initiation n'est pas précisée mais simplement décrite par R_i. Il existe néanmoins une très grande variété d'initiateurs et de méthodes d'initiation associées pour la synthèse par polymérisation radicalaire en chaîne des monolithes polyméthacrylates. Ainsi, l'équation 2-10 dépend alors de nouveaux paramètres spécifiques.

L'initiation de la polymérisation peut être thermique, photochimique ou induite par irradiation. Kubin et Buchmeiser ont introduit l'utilisation de rayons γ [180, 181] ou de faisceau d'électrons respectivement [182], mais ces méthodes d'initiation restent aujourd'hui marginales car difficiles à mettre en œuvre sans un appareillage très spécifique.

Le tableau 2-7 regroupe les caractéristiques des initiations thermiques et photochimiques.

Tableau 2-7 : Comparatif des caractéristiques principales des initiations thermique et photochimique pour la synthèse des monolithes polyméthacrylates.

	Initiation thermique	Initiation photochimique
Mécanisme(s) réactionnel (production de radicaux)	Coupure homolytique de l'initiateur I: $I \xrightarrow{\Delta} I^* \rightarrow 2R\cdot$	- Coupure homolytique (Norrish Type I) $I \xrightarrow{h\nu} I^* \rightarrow 2R\cdot$ - Elimination d'hydrogène (Norrish Type II) $I \xrightarrow{h\nu} I^* \xrightarrow{D-H} RH\cdot + D\cdot$ Avec D-H molécule donneuse de protons (amine)
Initiateur	Molécules contenant les liaisons : O–O, S–S, N–O ou N=N	- Cétones aliphatiques, aromatiques - Benzoine et dérivés - Composés « azo » type AIBN*
Propriétés de l'initiateur	$E_{liaison}$ réactive comprise entre : 100 et 170 kJ.mol^{-1}	- Absorbance maximum à la longueur d'onde utilisée - Rendement quantique maximum
Vitesse de polymérisation	$R_i = f k_D [I]$ avec : f : l'efficacité d'initiation de l'initiateur k_d : constante de dissociation de l'initiateur [I] : concentration de l'initiateur	$R_i = \Phi I_{abs}$ avec : Φ : rendement quantique de l'initiateur I_{abs} : l'intensité lumineuse absorbée par le système
Paramètres à optimiser	- Type d'initiateur - Concentration d'initiateur - Température réactionnelle (influence sur f)	- Type d'initiateur - Concentration de l'initiateur - Longueur d'onde d'insolation - Puissance du rayonnement émis
Avantage(s) pour la synthèse de monolithe	- Robuste - Pas ou peu d'impact du matériau constitutif de la colonne chromatographique (Inox, PEEK, verre, etc …)	- Rapide - Robuste - Localisation possible du monolithe - Grande flexibilité - Grande variété de réactions possibles avec la photochimie
Inconvénient(s) pour la synthèse de monolithe	- Processus lent - Nécessite une « haute » température pendant plusieurs heures - Pas de localisation de la synthèse	- Processus très rapide, donc nécessite un matériel robuste et fiable - Nécessite une colonne chromatographique transparente à la longueur d'onde choisie

** AIBN : 2,2'-Azobisisobutyronitrile*

L'initiation thermique a été la première mise en œuvre par Svec pour les monolithes polyméthacrylates et reste aujourd'hui la méthode de référence [145, 174, 176, 183-185], notamment grâce à sa robustesse [160]. Il est en effet relativement aisé d'obtenir une bonne homogénéité de température lors d'une synthèse au moyen de bains thermostatés. Cette méthode d'initiation est applicable à la synthèse de monolithe à l'intérieur de colonnes chromatographiques en acier inoxydable ou plus récemment en titane [186]. En revanche, elle n'est pas la plus pertinente pour la synthèse de monolithe en microsystème car elle ne permet notamment pas de la localiser [187].

Introduite par Viklund et al. en 1997 [188], l'initiation photochimique a longtemps été considérée comme une méthode moins robuste, conduisant à un manque significatif de reproductibilité. Néanmoins, avec le développement des techniques séparatives miniaturisées au début des années 2000, elle s'est imposée pour la synthèse de monolithes en capillaires de silice [74, 128, 149, 170, 177, 189, 190], puis en microsystèmes en verre [74] ou en plastique [62, 74, 118]. De plus, elle s'applique aussi aux synthèses dans des colonnes chromatographiques en verre de diamètres internes relativement élevés, allant jusqu'à 4,2 mm par exemple [183].

En général, l'initiation est réalisée avec un rayonnement ultraviolet à 365 nm, par le biais d'initiateurs radicalaires aromatiques ou non (2-2'-azoisobutyronitrile, AIBN), même si parfois un rayonnement plus énergétique à 254 nm est utilisé [191]. Elle nécessite donc l'utilisation de colonnes chromatographiques transparentes ou absorbant peu à ces longueurs d'onde (cette contrainte concerne les constituants du mélange réactionnel). Dans le cas de synthèses en capillaire de silice, l'utilisation de capillaires enduits de Teflon^{TM} est obligatoire afin de laisser passer le rayonnement incident, en limitant au maximum son adsorption. Afin de s'affranchir de cela, Walsh *et al.* [192] ont récemment synthétisé un monolithe poly(butylmethacrylate-co-éthylène diméthacrylate) (BMA-co-EDMA) avec une initiation photochimique à 660 nm. Un initiateur radicalaire spécifique composé de plusieurs molécules a alors été nécessaire. Il s'agit d'un mélange de (3-butyl-2-[5-(1,3-dihydro-3,3-dimethyl-1-propyl-2H-indolylidene)-penta-1,3-dienyl]-1,1-dimethyl-1H-benzo[e]indolium triphenyl butyl borate, HNB660) et d'un co-initiateur, le (N-methoxy-4-phenylpyridiniumtetrafluoroborate, MPPB). Ceci a, pour la première fois, permis la synthèse d'un monolithe polyméthacrylate en capillaire de silice recouvert d'une gaine en polyimide, non-transparente aux rayonnements UV (ces capillaires sont plus robustes, moins cassants, que les capillaires enduits de Teflon^{TM}).

La photopolymérisation des monolithes polyméthacrylates s'avère aussi particulièrement attractive pour la fabrication de microsystèmes séparatifs. Il est en effet possible de localiser de façon précise la synthèse du monolithe à l'intérieur d'un micro-canal

comme l'ont démontré Paull *et al.* [118] avec la synthèse d'un monolithe poly(glycidyl méthacrylate-co-éthylène diméthacrylate) (poly(GMA-co-EDMA) en microsystème plastique COC à l'aide d'une simple LED UV (figure 2-18).

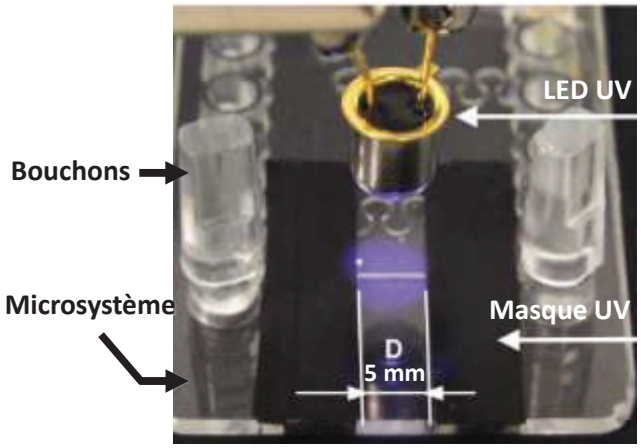


Figure 2-18 : Photopolymérisation localisée d'un monolithe méthacrylate en microsystème plastique COC à l'aide d'une LED UV (370 nm) [118].

La polymérisation radicalaire en chaîne des monolithes, initiée photochimiquement, permet donc d'obtenir une synthèse rapide, robuste et reproductible dans des canaux de diamètres internes allant de quelques mm à quelques dizaines de µm (ces canaux doivent nécessairement être transparents à la longueur d'onde utilisée pour l'initiation, dans le visible ou dans l'UV). De plus, la photopolymérisation permet d'envisager la localisation de la phase stationnaire monolithique au sein d'un microsystème. C'est pourquoi elle constitue la méthode la plus adaptée à notre étude en permettant d'envisager la création d'une colonne chromatographique intégrée à un système fluidique complexe de façon localisée.

Par la suite, nous allons donc détailler les paramètres opératoires influençant la structure poreuse d'un monolithe obtenu par polymérisation radicalaire en chaîne initiée photochimiquement (ou photopolymérisation).

2.3.4.3 Optimisation de l'initiation photochimique

L'optimisation de la synthèse d'un monolithe par photopolymérisation peut être réalisée par l'intermédiaire de l'étape d'initiation et/ou de la composition du mélange réactionnel (monomères et solvants porogènes) comme nous l'avons vu au paragraphe 2.3.3.4.

D'une façon générale, très peu d'attention est portée sur l'effet du couple initiateur/initiation et son impact sur la cinétique de polymérisation [74, 193] lors de la photopolymérisation d'un monolithe. La majeure partie des travaux publiés utilise les mêmes initiateurs (AIBN [177, 194-196] ou 2,2-dimethoxy-2-phenylacetophenone (DMPA) [173, 197, 198]), aux mêmes concentrations ainsi qu'une longueur d'onde UV de 365 nm.

D'ailleurs, la puissance UV utilisée n'est que très rarement mentionnée alors qu'elle constitue un facteur critique.

a. Longueur d'onde d'irradiation :

Chaque initiateur radicalaire présente des bandes d'absorption dans le domaine UV ou dans le domaine visible. La longueur d'onde utilisée pour initier la polymérisation doit alors correspondre à ces maximums d'absorption. Il est possible d'utiliser des appareils délivrant une lumière monochromatique [118, 196] ou polychromatique comme les lampes à mercure [188]. La figure 2-19 montre la superposition du spectre d'émission d'une lampe à mercure (couramment utilisée) et du spectre d'absorption de l'AIBN : le pic d'émission principale de la lampe, vers 370 nm, se situe bien dans la bande d'absorption de l'AIBN, entre 300 et 400 nm.

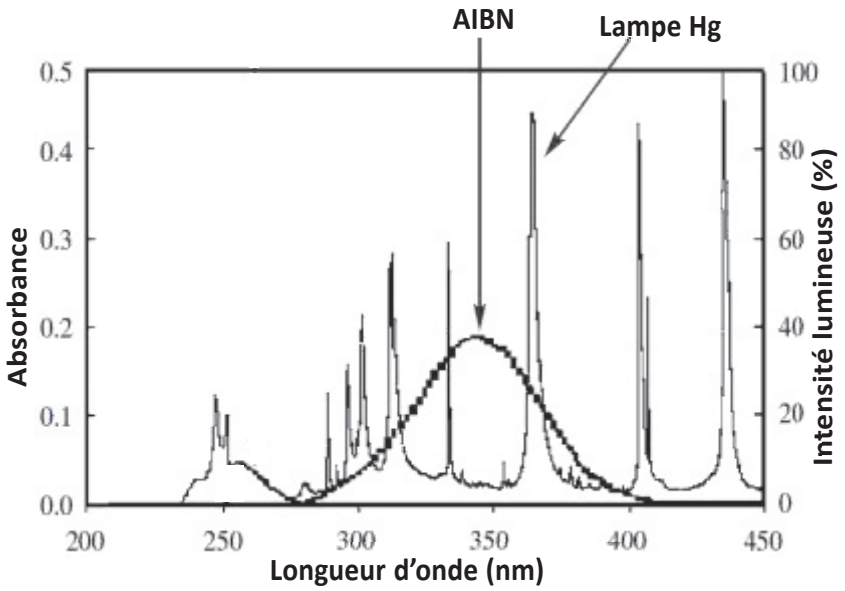


Figure 2-19 : Superposition du spectre d'émission d'une lampe à mercure et du spectre d'absorption de l'AIBN entre 200 et 450 nm, adaptée de [199].

b. Intensité lumineuse :

D'une façon analogue à l'augmentation de la température lors d'une initiation thermique, l'augmentation de l'intensité lumineuse, lors d'une initiation photochimique, peut permettre de contrôler la vitesse de polymérisation (tableau 2-7) et donc la distribution poreuse d'un monolithe (même si une polymérisation initiée photochimiquement est nettement plus rapide qu'une polymérisation initiée thermiquement). Dès 1996, Svec et Fréchet et al. [167] ont montré qu'une augmentation de la température de polymérisation d'un monolithe poly(GMA-co-EDMA) de 55°C à 80°C conduit au déplacement du maximum de la distribution poreuse de 3 µm à 100 nm comme l'illustre la figure 2-20. A notre connaissance,

aucune étude n'a montré, de façon détaillée, l'impact de l'intensité lumineuse émise sur la structure poreuse du monolithe (le plus souvent, l'appareillage utilisé pour la photopolymérisation ne permet pas de modifier la puissance émise). Pourtant, comme indiqué dans le tableau 2-7 pour l'initiation photochimique ($R_i \propto I_{abs}$), une augmentation d'un facteur 4 de l'intensité conduit à l'augmentation de la vitesse de polymérisation d'un facteur 2 (d'après la relation 2.11).

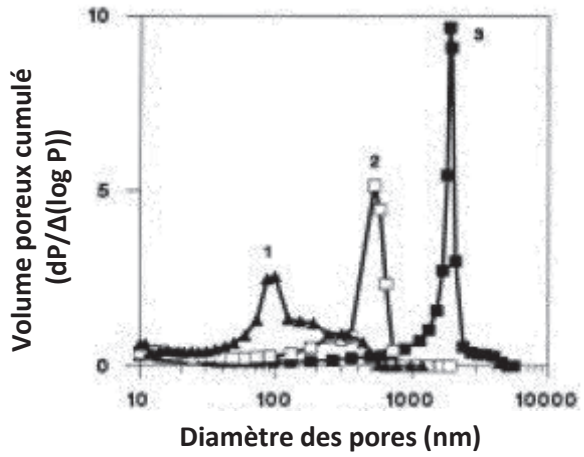


Figure 2-20 : Courbes de répartition en taille de pores de monolithes poly(glycidyl méthacrylate-co-éthylène diméthacrylate) obtenues pour différentes températures de polymérisation : 1. 80°C, 2. 70°C et 3. 55°C [167].

Par ailleurs, l'utilisation d'une puissance UV de quelques mW/cm² peut conduire, dans une enceinte d'irradiation close, à une élévation de température d'une dizaine de degrés. L'importance du contrôle de la température de photopolymérisation n'a pourtant été constatée que récemment [190, 191]. Ceci peut être compensé par un système de ventilation mais doit être pris en compte lors de l'optimisation d'une photopolymérisation [200]. Les réactions parallèles issues de la décomposition thermique de l'initiateur mais aussi des variations de solubilité des monomères dans le porogène en fonction de la température doivent alors être considérées.

c. Energie d'irradiation :

L'énergie d'irradiation lors d'une photopolymérisation correspond au temps de polymérisation à une puissance donnée :

$$E(J.cm^{-2}) = P(W.cm^{-2}) \times t(\mathrm{s}) \qquad \textbf{2.18}$$

L'ajustement de l'énergie d'irradiation permet de contrôler le taux d'incorporation des monomères et donc la structure poreuse du monolithe en formation comme nous le montrerons par la suite.

d. Concentration de l'initiateur :

La concentration initiale de l'initiateur joue également un rôle dans la structure finale du monolithe. Son augmentation accroit la vitesse de polymérisation (équation 2.11) par l'intermédiaire de la formation d'un plus grand nombre de radicaux primaires (pour une concentration en monomère équivalente). Le monolithe sera donc constitué d'un plus grand nombre de nucléis de plus petite taille. Néanmoins, quand la concentration de l'initiateur devient trop grande, d'autres phénomènes entrent en jeu. Une trop grande quantité d'initiateur peut ainsi favoriser les réactions de terminaison au cours de la polymérisation conduisant à l'obtention de chaines polymériques courtes [201] et d'une surface spécifique plus faible (donc à de plus faibles rétentions en CPL). Un second phénomène peut devenir aussi significatif : il s'agit de l'effet d'écran. Une quantité trop importante d'initiateur, notamment à proximité des parois de la colonne, entraîne l'absorption d'une quantité significative de l'énergie d'irradiation UV incidente [193]. Il se créé alors un gradient d'intensité lumineuse au travers de la colonne conduisant à des vitesses de polymérisation plus faibles au centre et donc à un monolithe inhomogène.

2.3.4.4 Optimisation de la composition du mélange de monomères

a. Utilisation de monomères chargés et/ou très polaires:

L'utilisation d'un monomère chargé pour la synthèse d'un monolithe organique impose la présence d'une proportion d'eau dans le mélange de solvant porogène [202]. La définition de la composition optimale est alors difficile et doit être reconsidérée à chaque nouvelle synthèse. La présence de monomères très polaires tels que l'acide méthacrylique [142] ou l'hydroxy éthyl méthacrylate [203] dans le mélange réactionnel nécessite là-aussi une optimisation pointue du porogène. En effet, la présence de groupement très polaire dans la structure peut accélérer la précipitation du polymère en croissance dans un porogène trop apolaire ou hydrophobe.

b. Proportion d'agent réticulant :

La variation de la proportion de chacun des monomères dans le mélange de départ induit non seulement une variation des propriétés poreuses du monolithe, mais aussi une variation de la chimie de surface de la colonne monolithique (et *a fortiori* la sélectivité de cette colonne). Une grande proportion d'agent réticulant entraîne la formation puis la précipitation précoce de nucléis hautement réticulés. Ces derniers n'ayant qu'une faible tendance à l'incorporation de monomères présents à proximité, ils auront une faible taille finale. La structure du monolithe étant alors composée de petits globules, la macroporosité sera elle aussi réduite, et la perméabilité du monolithe faible.

2.3.4.5 Optimisation de la composition du porogène

Comme décrit au début du paragraphe 2.3.3., le mélange de solvants (appelé porogène), utilisé pour la synthèse du monolithe génère la porosité finale du polymère. La composition du porogène doit permettre d'obtenir la séparation de phase des chaînes polymériques réticulées en croissance à un instant précis afin de conduire à la formation de la structure poreuse voulue. Ainsi, la précipitation des chaînes polymériques en formation dépend de leur solubilité limite dans le porogène, suivant leur poids moléculaire et leur taux de réticulation.

a. Choix des solvants du porogène :

Après avoir choisi les monomères constitutifs du monolithe en fonction de l'application voulue, l'étape suivante du choix du porogène est la plus critique (utilisation d'un seul solvant, ou d'un mélange de solvants). Le moment dipolaire ou la polarité est l'un des paramètres permettant de définir un porogène. Une étude de Courtois *et al.* [204] a montré, pour un monolithe poly(GMA-co-triethylene dimethacrylate-co-trimethylpropane trimethacrylate), qu'un porogène possédant un grand moment dipolaire a tendance à former une structure polymérique composée de pores de petite taille. Bien que la polarité soit un critère souvent évoqué [135], Lee *et al.* [128] ont montré que l'optimisation d'un porogène ne peut être seulement fondée sur elle et proposent d'utiliser la solubilité des monomères dans le porogène. Néanmoins, et comme l'a suggéré Svec [205], peu de nouveaux porogènes sont désormais développés, et la plupart des monolithes sont synthétisés en utilisant des mélanges de solvants connus.

Dans le cas de la synthèse de monolithe à l'intérieur de microsystèmes à base de matériaux plastiques, les solvants du porogène doivent être compatibles avec le matériau choisi (aussi valable pour les monomères). C'est notamment le cas pour des synthèses en microsystèmes en PDMS. En effet, leur mise en œuvre n'est pas compatible avec l'utilisation de solvants comme l'acétone ou l'acétonitrile [84].

Par ailleurs, il est important de noter que la photopolymérisation permet de bénéficier d'un choix plus large de solvants pour le porogène que dans le cas d'une polymérisation thermique. En effet, dans ce cas, les solvants choisis doivent présenter une température d'ébullition supérieure à la température de polymérisation (en général supérieure à 60 °C). Ces solvants (alcools à longue chaîne aliphatique), sont très souvent incompatibles avec les polymères utilisés pour la fabrication de microsystèmes séparatifs.

b. Proportion de « mauvais » solvant :

Un porogène peut être un mélange binaire ou ternaire, mais peut aussi n'être constitué que d'un seul solvant. Les mélanges binaires sont les plus couramment utilisés. Ils sont alors constitués d'un solvant dit « bon » et d'un solvant dit « mauvais ». Ces termes traduisent la solubilité « bonne » ou « mauvaise » du polymère en croissance dans chacun d'eux. Le mauvais solvant est aussi nommé macroporogène. Une augmentation de la proportion de macroporogène provoque la précipitation précoce des nucléis en formation. Les monomères présents à proximité des nucléis vont alors pouvoir participer à leur croissance et le monolithe sera composé de globules et de macropores de grandes tailles (de l'ordre de quelques microns). Dans l'exemple présenté dans la figure 2-21 [187], la variation des proportions de bon (ici, 1-propanol) et mauvais solvants (ici, 1,4 butanediol) provoque le déplacement de la répartition de la taille des pores vers des valeurs croissantes lorsque la quantité de 1-propanol diminue (donc lorsque la proportion de macropogène augmente).

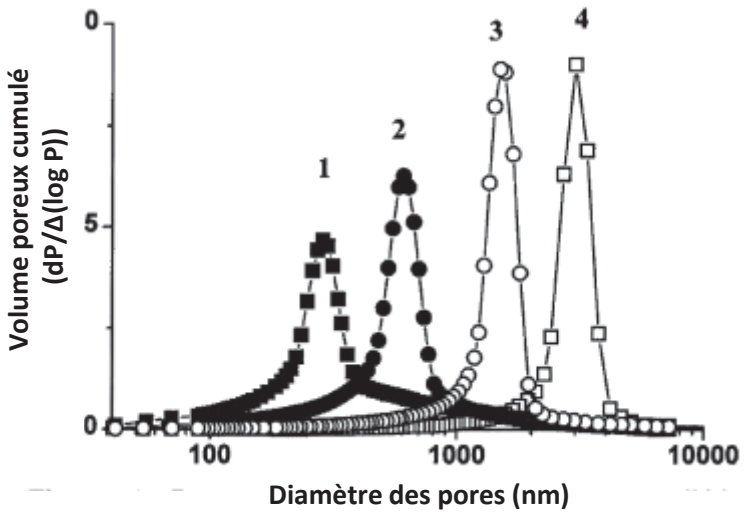


Figure 2-21 : Courbes de répartition des tailles de pore de monolithes poly(butyl méthacrylate-co-éthylène diméthacrylate) obtenues pour différentes proportions de 1-propanol dans le porogène : 1. 80%, 2. 78%, 3. 76% et 4. 74% [187].

c. Effets de la température sur les propriétés du porogène :

Comme évoqué au paragraphe 2.3.5.2, l'augmentation de la température au cours de la photopolymérisation peut avoir un impact sur la structure du monolithe car elle conduit généralement à l'augmentation de la solubilité des polymères en croissance dans le porogène. La séparation de phase et la précipitation du monolithe s'en trouvent retardées et le monolithe est alors constitué de nucléis et de macropores de plus grande taille [167]. Toutefois, cet effet reste relativement faible sur la structure finale du monolithe.

De plus, comme décrit au paragraphe 2.2.5.4. pour la synthèse de monolithe en microsystème, la volatilité des solvants peut entraîner la formation d'un monolithe présentant une structure inhomogène. Ceci est en revanche nettement moins critique pour une polymérisation initiée photochimiquement (température peu élevée) que pour une polymérisation initiée thermiquement.

d. Conclusions :

Malgré les critères précédemment exposés, l'élaboration d'un porogène pour la synthèse d'un monolithe reste aujourd'hui un art plutôt qu'une science et les solvants utilisés sont ceux qui ont fait « leur preuve », généralement les mêmes d'une synthèse à l'autre. Dans notre cas, le choix du porogène doit en revanche être fait, entre autre, en considérant la résistance chimique du COC.

2.3.4.6 Optimisation des proportions de monomères et de porogène

La composition d'un mélange réactionnel est souvent caractérisée par le rapport volumique des quantités de monomères et de porogènes. Comme il a été mentionné précédemment, la porosité du monolithe est liée à ce rapport. Ainsi, l'augmentation de la fraction volumique du porogène favorise l'obtention de monolithes perméables, caractérisés par de larges macropores. Le rapport volumique porogène / monomères est en général compris entre 60 et 80 % [179, 206, 207]. Eeltink *et al.* [207] ont d'ailleurs développé un monolithe poly(butyl méthacrylate-co-éthylène diméthacrylate-co- chlorure de [2-(méthacryloyloxy)ethyl] triméthylammonium) (poly(BMA-co-EDMA-co-META) dit de faible densité, avec un mélange réactionnel dont la fraction volumique de porogène est égale à 80 %. Le monolithe formé est alors caractérisé par une grande perméabilité ($\approx 10^{-13}$ m²) et une proportion significative de pores d'une taille de 100 nm comme l'illustre la figure 2-22, 1. La séparation de phase lors d'une polymérisation avec une faible concentration de monomère est plus tardive et les nucléis ayant précipité ne bénéficient plus de l'addition d'une grande quantité de monomères : ils cessent de croître. Il en résulte un plus grand nombre de globules de petite taille en fin de synthèse. Ces monolithes, de faible densité, ont montré de bonnes performances en chromatographie liquide grâce à la présence de mésoporosité dans la structure poreuse qui génère une résistance au transfert de masse plus faible comme le montre la courbe (○) de la figure 2-22, 2 (terme C de l'équation de van Deemter).

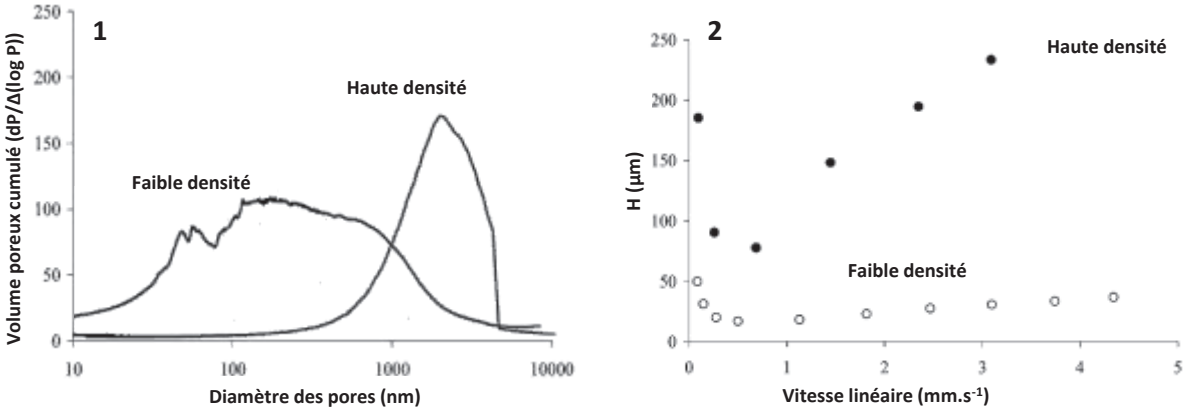


Figure 2-22 : (1) Distribution caractéristique de la taille des pores de monolithes poly(butyl méthacrylate-co-éthylènediméthacrylate-co-[2-(méthacryloyloxy)ethyl]-trimethylammonium chloride) dits à faible densité. (2) Courbes de van Deemter obtenues, pour un hydrocarbure aromatique polycyclique, sur un monolithe faible densité (○) et haute densité (●) avec une fraction volumique de porogène dans le mélange réactionnel de 80% et 60% respectivement, adaptée de [207].

2.3.5 Optimisation de la synthèse des monolithes polyméthacrylates pour la chromatographie liquide

La polymérisation radicalaire en chaîne des monolithes polyméthacrylates initiée par irradiation UV permet la synthèse rapide et robuste des monolithes polyméthacrylates et s'avère particulièrement adaptée pour la mise en œuvre de la chromatographie liquide au format miniaturisée.

La phase stationnaire développée dans le cadre de cette thèse sera un monolithe méthacrylate photopolymérisé dont les paramètres de synthèse à optimiser sont liés à l'initiation radicalaire (longueur d'onde, puissance et énergie UV) et à la composition du mélange réactionnel (monomères et porogène). L'optimisation a pour but d'obtenir un monolithe adapté à la chromatographie liquide et donc composé de macropores et globules fortement agglomérés d'environ 1 µm. D'ailleurs, leurs propriétés structurales font des monolithes polyméthacrylates des matériaux particulièrement adaptés à la séparation de macromolécules biologiques, mais aussi à celle d'ions inorganiques comme l'ont montré de nombreux articles parus sur le sujet [177-179, 191, 208, 209].

Pour ces séparations, comme dans le cas de la séparation U/Pu/PF, le monolithe doit être fonctionnalisé afin d'avoir des propriétés échangeuse d'ions.

2.3.6 Fonctionnalisation des monolithes polyméthacrylates

La fonctionnalisation du monolithe développé pour le projet est nécessaire à son utilisation pour la séparation U/Pu/PF par chromatographie d'échange d'anions. Ainsi, la fonctionnalisation peut se faire de façons multiples et a fait l'objet de nombreuses revues

[148, 152, 160, 210, 211]. Si certaines méthodes sont directement inspirées des développements réalisés pour les particules de silices, d'autres sont spécifiques aux monolithes. Elles sont classées en deux catégories :

- fonctionnalisation par co-polymérisation : incorporation directe de monomères ionisés (ou ionisables) pendant la polymérisation,
- fonctionnalisation post-synthèse : modification de la surface du monolithe après la synthèse d'un support générique.

2.3.6.1 Fonctionnalisation par copolymérisation

Lors d'une co-polymérisation, les monomères fonctionnels participent à la construction de la structure tridimensionnelle du polymère et font donc partie de l'intégralité du polymère : structure interne et chimie de surface. La co-polymérisation conduit donc à la formation de monolithes directement fonctionnels. Cette approche est par conséquent rapide mais présente certains inconvénients. La présence de monomères ionisés (ou ionisables) à l'intérieur de la structure entraine une forte tendance du polymère au gonflement en fonction du solvant utilisé [179]. De plus, l'utilisation d'un nouveau monomère, (pour disposer d'une fonctionnalité différente), implique la ré-optimisation totale des conditions de synthèse (composition du mélange, concentration de l'initiateur, temps de réaction, etc…). Cette dernière peut s'avérer assez difficile, notamment à cause des effets antagonistes ou synergiques des constituants du mélange réactionnel [212]. De plus, étant donné que le monomère fonctionnel participe à la création de la structure du polymère, une grande partie de la quantité introduite au départ dans le mélange réactionnel ne sera pas disponible en surface (ou accessible aux solutés). Le monolithe présente donc en général de faibles capacités d'échange.

C'est pourquoi l'obtention de monolithes fonctionnalisés par co-polymérisation reste aujourd'hui peu décrite et a fait l'objet d'un nombre restreint de publications avec l'utilisation de monomères fonctionnels tels que le sulfopropyl méthacrylate [213], l'acide phosphorique 2-hydroxyethyl méthacrylate [214] ou le chlorure de 2-(acryloyloxy)éthyl triméthylammonium [215] pour des séparations par chromatographie d'échange de cations ou d'anions de protéines.

2.3.6.2 Fonctionnalisation post-synthèse

Les méthodes de fonctionnalisations post-synthèse constituent l'alternative à la co-polymérisation. Ces méthodes se sont progressivement imposées pour les monolithes organiques comme en témoigne la grande diversité de procédés employés.

Fonctionnaliser le monolithe après sa synthèse semble, *a priori*, moins direct mais plus facile à mettre en œuvre que la co-polymérisation. En effet, l'optimisation structurale (perméabilité, efficacité, rétention) devient totalement dissociée de l'optimisation de la fonctionnalisation de surface du monolithe (capacité totale d'échange). Un monolithe dit « générique » (avec une structure poreuse optimisée), peut être alors utilisé pour une multitude d'applications selon la fonctionnalité apportée. Diverses méthodes de fonctionnalisation covalentes ou non peuvent ainsi être envisagées en fonction du monolithe générique choisi.

a. Revêtements (« coating ») statique ou dynamique

S'appuyant sur les techniques mises en œuvre pour les colonnes particulaires, le revêtement statique (nommé aussi imprégnation) ou le revêtement dynamique (molécule fonctionnelle adsorbée en surface, mais aussi présente dans la phase mobile) ont été appliqués aux monolithes. Bien qu'il existe des exemples pour les monolithes à base de silice, aucune publication ne fait état de revêtement statique ou dynamique pour les monolithes organiques [148]. L'approche développée pour ces derniers repose sur l'adsorption par interactions électrostatiques de particules de latex fonctionnalisées par un ammonium quaternaire [216], comme l'illustre la figure (2-23, 1). Ce procédé a permis d'atteindre une capacité d'échange maximale de 25 nanomoles par micro-litre de colonne [208]. Malgré cela, le monolithe synthétisé doit présenter au préalable une grande quantité de charges négatives en surface afin de permettre la création de liaisons électrostatiques entre le monolithe et les nanoparticules. Ceci implique une faible densité de nanoparticules en surface du monolithe (figure 2-23, 1) même si récemment Svec *et al.* ont montré l'augmentation significative de nanoparticules d'or grâce à des fonctions thiol en surface du monolithe [217] (figure 2-23, 2). Cette méthode impliquant la synthèse préalable d'un monolithe fonctionnalisé par co-polymérisation puis l'adsorption des nanoparticules, reste marginale.

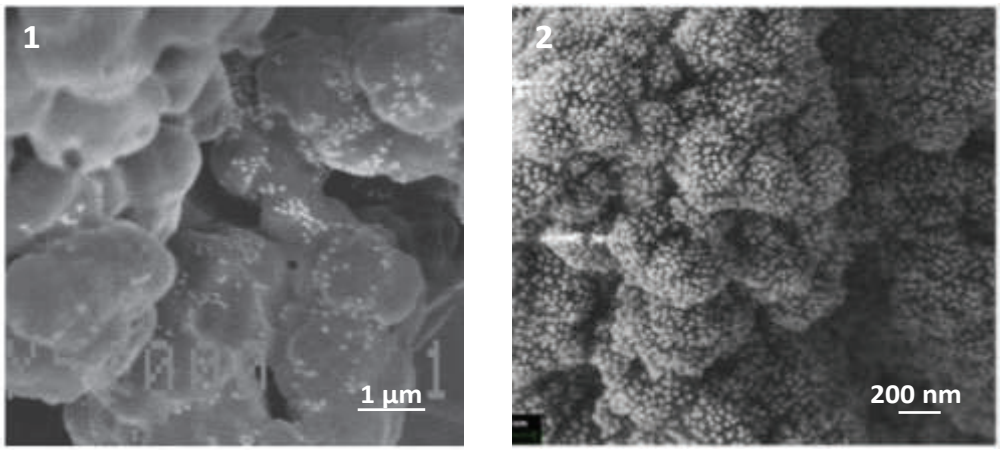


Figure 2-23 : Clichés MEB d'un monolithe poly(butyl méthacrylate-co-éthylène diméthacrylate-co-acide 2-acrylamido-2-methyl-1-propane sulfonique) fonctionnalisé par des nanoparticules de latex Dionex AS18 (1) [216] et d'un monolithe poly(GMA-co-EDMA) fonctionnalisé par des nanoparticules d'or (2) [217].

b. Fonctionnalisation par greffage chimique

La fonctionnalisation par greffage chimique a été introduite pour des monolithes polyméthacrylates par Svec et Fréchet. La fonctionnalisation par un ammonium quaternaire est obtenue par addition nucléophile d'une amine secondaire (diéthylamine) sur un cycle époxy en surface du monolithe. Le cycle époxy est alors apporté par l'utilisation spécifique, dans le mélange réactionnel de départ, du monomère glycidyl méthacrylate (GMA) [176]. L'incorporation du monomère GMA, prérequis nécessaire à la mise en œuvre de ce procédé, est aisée et largement décrite dans la littérature. La réaction de greffage nécessite un flux continu de réactif pendant plusieurs heures à une température supérieure à 60°C [179]. Ces monolithes ont servi aussi bien en chromatographie d'échange d'anions [215, 218-221] , de cations [179] ou en extractions sélectives [222]. En outre, les revues de Vlackh et Tennikova [160] ou celle de Buchmeiser [223] (figure 2-24) décrivent les nombreuses voies de conversion chimique des époxy. Les capacités d'échange obtenues dépendent de la quantité de cycles époxy accessibles en surface du monolithe et restent ainsi limitées à quelques dizaines de nanomoles par microlitre de colonne.

Une alternative, présentée par Wan *et al.* [224], concerne le greffage de chaînes polymériques de polyéthylène imine sur un monolithe poly(GMA-co-EDMA). Sont alors créées, des « brosses » de chaînes polymériques en surface permettant d'atteindre des capacités d'échange plus élevées (pas de valeur mentionnée en nanomoles par microlitre).

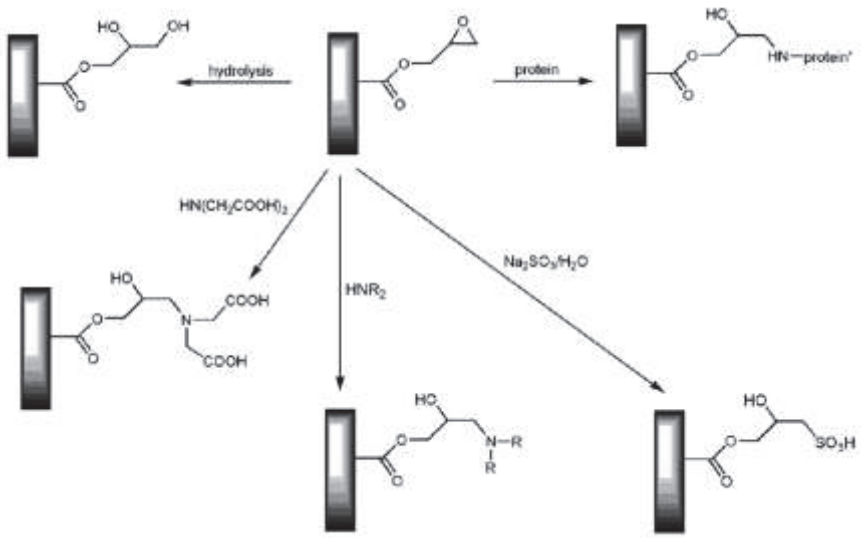


Figure 2-24 : Fonctionnalisation de monolithes glycidyl méthacrylates par greffage chimique [223].

c. Fonctionnalisation par greffage radicalaire

La fonctionnalisation par greffage radicalaire permet d'obtenir la croissance de chaînes polymériques fonctionnelles à partir de la surface du monolithe. Comme l'illustre la figure 2-25, il est possible d'obtenir des longueurs de chaînes polymériques contrôlées, contenant une multitude de sites fonctionnels (autant que de motifs monomériques intégrés) à partir d'un seul site réactif au départ. Introduit par Viklund et al. [225] dès 1997, le greffage radicalaire est alors initié chimiquement par l'utilisation de Ce^{IV} et permet l'introduction de chaines polymériques d'acide 2-acrylamido-2-methyl-1-propane sulfonique (AMPS) pour la séparation de protéines par chromatographie d'échange de cations.

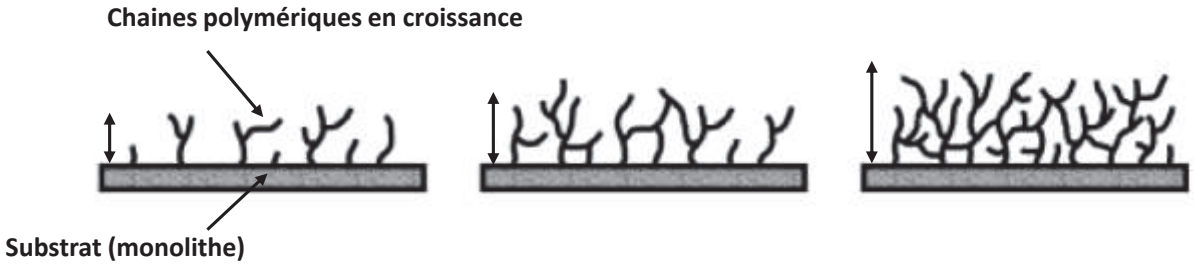


Figure 2-25 : Représentation schématique de la croissance de « brosses » de polymères obtenues par greffage radicalaire pour des temps de réaction croissants (de gauche à droite) [226].

Une alternative a été introduite par Rohr *et al.* en 2003 [226]. Basée sur de précédents travaux portant sur la fonctionnalisation de surfaces de matériaux polymériques [227], le greffage radicalaire de monomères en surface du monolithe est alors initié photochimiquement (« photografting »), par l'intermédiaire d'un initiateur photochimique dit « Norrish type II » comme la benzophénone : la réaction radicalaire est initiée à partir de

chaînes aliphatiques. En effet, la benzophénone est capable de soustraire les hydrogènes de ces chaînes afin de créer un radical particulièrement réactif, engendrant l'addition des monomères présents en solution. Cette méthode a, depuis, été largement décrite dans la littérature [119, 146, 177, 228-231] notamment grâce à sa polyvalence, la possibilité de localiser la fonctionnalisation [232] ou de réaliser des gradients de fonctionnalisation sur une même colonne [233]. Les capacités d'échange obtenues sont souvent supérieures à celles obtenues par les autres techniques de greffage [177].

Malgré ses nombreux avantages, la création de brosses de chaînes polymériques en surface des monolithes peut être à l'origine de la création de zones de porosité non-contrôlée (à l'image de ce qui a été décrit au paragraphe 2.3.5.1.), et donc du gonflement du monolithe en fonction de l'électrolyte utilisé [177]. De plus, l'initiation radicalaire du greffage photochimique est la plupart du temps réalisée à l'aide d'un rayonnement UV très énergétique (λ = 254 nm), ce qui peut rendre son utilisation incompatible avec une multitude de matériaux constitutifs des microsystèmes, notamment les plastiques. Enfin, le greffage photochimique n'est possible que dans des colonnes de faibles dimensions comme l'ont montré Rohr *et al.* [226]. Au-delà d'une dimension critique, le rayonnement incident n'est plus assez énergétique pour initier la réaction.

2.3.6.3 Choix de la méthode de fonctionnalisation adaptée projet

Parmi les différentes voies de fonctionnalisation de surface décrites précédemment, notre choix s'est porté, dans un premier temps, sur le greffage chimique post-synthèse. En effet, ce type de fonctionnalisation présente l'avantage principal d'être robuste (par rapport aux fonctionnalisations non-covalentes) et très largement décrit. Ainsi, la synthèse de monolithes incorporant le monomère fonctionnel Glycidyl Méthacrylate (GMA) permet d'envisager une multitude de fonctionnalisations, et notamment pour la création de charges positives en surface (nécessaires pour la séparation U/Pu/PF en CPL d'échange d'anions).

De plus, si le microsystème séparatif développé pour l'étude doit intégrer un monolithe permettant de réaliser avant tout la séparation U/Pu/PF par échange d'anions, il apparaît particulièrement intéressant de pouvoir élargir son champ d'application : le développement d'un monolithe générique, fonctionnalisable à façon, permet alors d'envisager : i) la séparation U/Pu/PF aussi par chromatographie d'extraction mais aussi ii) par la suite, par d'autres méthodes de séparation.

Pour ces raisons, nous avons choisi de développer un monolithe incorporant le monomère GMA, fonctionnalisé, après synthèse, par greffage chimique.

2.4 Conclusion et axes de développement

La séparation, par chromatographie d'échange d'anions, de l'Uranium, du Plutonium et des produits de fission représente la première étape du processus global d'analyse d'un combustible nucléaire usé. Cette séparation doit permettre d'obtenir des fractions mono-élémentaires d'une pureté compatible avec l'analyse isotopique par spectrométrie de masse haute résolution à ionisation thermique (TIMS). Bien que parfaitement maîtrisée au laboratoire, la séparation U/Pu/PF reste aujourd'hui longue, totalement manuelle et très irradiante. Sa mise en œuvre en boite à gants rend les nombreuses manipulations nécessaires particulièrement compliquées, nécessite un certain savoir-faire et impose de nombreuses contraintes spécifiques (encombrement minimum, minimisation de la présence de composants électroniques, atmosphère confinée assez agressive, etc …). De plus, ce procédé analytique génère une grande quantité de déchets radioactifs aussi bien solides (colonnes de séparation) que liquides (effluents de séparation).

L'évolution de ce protocole analytique vers l'utilisation de systèmes séparatifs miniaturisés (microsystèmes séparatifs) permettrait d'envisager de nombreux bénéfices d'ordre analytique, technologiques mais aussi du point de vue de la gestion des déchets produits et de la sécurité des expérimentateurs. Le microsystème à développer devant permettre de réaliser la séparation U/Pu/PF et la collecte des différentes fractions, la méthodologie de développement adoptée comporte trois grandes étapes : i. développement d'une phase stationnaire, ii. mise au point d'un protocole de séparation et iii. conception du microsystème, le tout, répondant aux contraintes imposées par la séparation U/Pu/PF. Ainsi, ce chapitre a permis d'identifier, au travers d'une revue des technologies disponibles et à l'aide du cahier des charges, les solutions les plus adaptées au projet.

Dans un premier temps, nous avons choisi de réaliser la séparation U/Pu/PF par chromatographie d'échange d'anions en raison de sa mise en œuvre relativement aisée mais aussi parce que cela permettra, de s'appuyer sur une chimie déjà éprouvée au laboratoire.

La conception du microsystème a été abordée dans un second temps en considérant un cahier des charges imposant :

1. un faible coût de fabrication (les microsystèmes devant être jetables),
2. un prototypage rapide (afin de faciliter le développement),
3. une facilité de mise en œuvre et une automatisation maximale (notamment en raison de son utilisation en boite à gants),
4. la compatibilité chimique avec les phases mobiles utilisées pour la séparation U/Pu/PF.

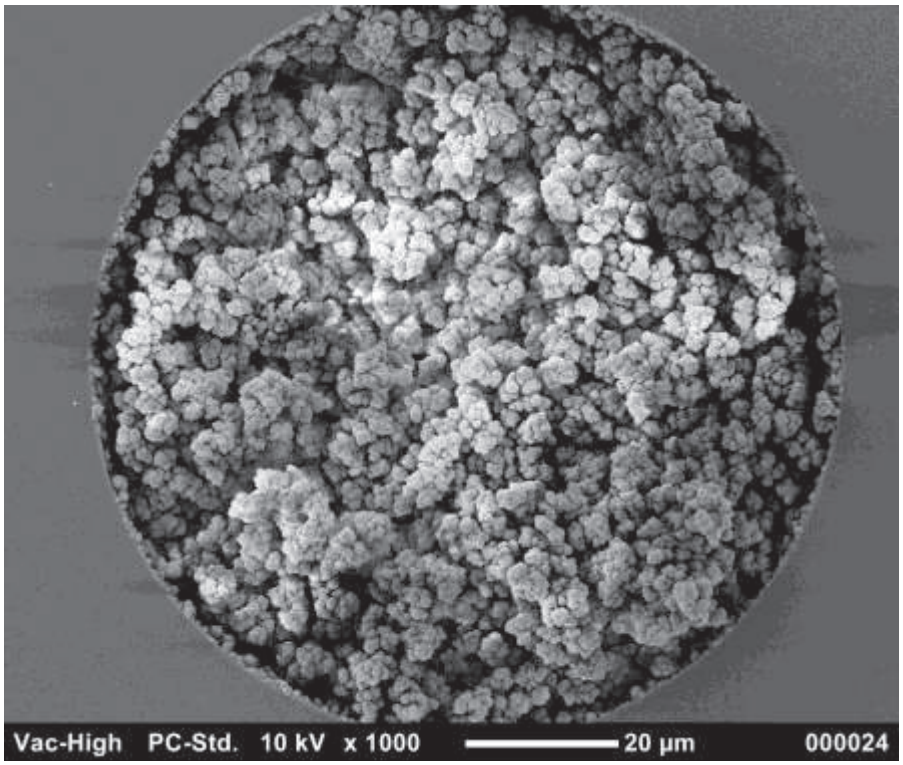
Parmi les solutions technologiques à disposition, la fabrication de microsystèmes à base de thermoplastiques permet de satisfaire aux critères 1, 2 et 4. Plus particulièrement, l'utilisation des Copolymères d'Oléfines Cycliques (COC) a été spécifiquement choisie en raison des propriétés physico-chimiques de ce matériau (permet de satisfaire au critère 4) mais aussi parce qu'il est facilement structurable par pressage à chaud (technique de structuration qui permet d'ailleurs la conception rapide de nouveaux prototypes) et permet d'obtenir un microsystème mécaniquement résistant (collage du capot, suite à une exposition à un solvant, par pressage à chaud).

Par ailleurs, parce que la séparation U/Pu/PF fait nécessairement intervenir l'utilisation de phases mobiles fortement acides (plusieurs moles par litres), nous avons décidé d'utiliser un design particulier de microsystème séparatif : les lab-on-CD. Ce type de dispositif permet l'écoulement des phases mobiles au travers de la colonne de séparation simplement par l'action de la force centrifuge. L'utilisation d'appareillages externes (pompe chromatographique par exemple) et de connexions est par conséquent supprimée, ce qui répond totalement au critère n°3. De plus, l'automatisation des étapes d'injection, de séparation et de collecte des différentes fractions est facilitée sur les lab-on-CD.

Finalement, l'intégration d'une phase stationnaire échangeuse d'anions dans le microsystème a constitué le dernier volet de l'étude bibliographique. Notre choix s'est orienté vers les phases stationnaires monolithiques organiques car elles sont à la fois parfaitement adaptées à une implantation en microsystème (synthèse *in-situ*, localisation, résistance mécanique) mais aussi à la séparation U/Pu/PF grâce à leur résistance chimique. En particulier, le microsystème développé intégrera un monolithe polyméthacrylate synthétisé par photopolymérisation radicalaire en chaine et fonctionnalisé, à l'aide du greffage chimique post-synthèse d'une amine tertiaire, pour conduire à un échangeur d'anions forts. La mise en œuvre de ce procédé de fonctionnalisation implique la synthèse d'un monolithe générique, incorporant nécessairement le monomère glycidyl méthacrylate (GMA). Son optimisation, telle que décrite dans la dernière partie de ce chapitre, doit permettre l'obtention d'un monolithe présentant des performances chromatographiques adaptées à la séparation U/Pu/PF en microsystème : capacité d'échange élevée, faible résistance à l'écoulement, etc… L'intégration du monolithe optimisé au sein du microsystème en COC devra permettre la réalisation de la séparation U/Pu/PF par chromatographie d'échange d'anions sur des échantillons reconstitués de combustibles nucléaires usés de type UOx.

Chapitre

3 Développement de la phase stationnaire monolithique



Clichés MEB du monolithe poly(GMA-co-EDMA) synthétisé à l'intérieur d'un capillaire de silice fondue

3.1 Les monolithes polyméthacrylates en chromatographie d'échange d'ions : méthodologie de développement

Comme nous l'avons décrit lors de l'étude bibliographique, les monolithes organiques sont particulièrement adaptés à la chromatographie d'échange d'ions (efficacité de séparation, résistance chimique), c'est pourquoi leur utilisation commence à se démocratiser comme l'atteste le nombre important de revues parues sur le sujet [138, 148, 152, 210, 234]. Dans le cadre de notre étude, le monolithe organique développé est un monolithe polyméthacrylate, qui doit répondre au cahier des charges suivant :

- capacité d'échange d'ions maximale grâce aux optimisations combinées de la surface spécifique et de la fonctionnalisation post-synthèse du monolithe,
- efficacité de séparation,
- robustesse de la synthèse par initiation photochimique,
- résistance chimique aux milieux acides concentrés (HNO_3 et/ou HCl).

Si l'objectif final est d'intégrer la phase stationnaire au sein d'un microsystème séparatif en COC, la phase de développement du monolithe sera conduite en capillaire de silice afin de :

- se situer à la même échelle que sur microsystème (diamètre interne 100 µm)
- bénéficier de la chimie de surface de la silice dans un premier temps (chimie d'ancrage du monolithe largement décrite)
- faciliter la mise en œuvre (connexions chromatographiques commerciales)
- pouvoir comparer des résultats obtenus sur différentes colonnes (robustesse de la synthèse en capillaire)

Ainsi le développement se compose de deux étapes principales. Dans un premier temps, l'optimisation des conditions de polymérisation du monolithe polyméthacrylate à l'intérieur des capillaires de silice fondue doit conduire à la formation d'une structure polymérique générique alliant efficacité de séparation, perméabilité élevée et surface spécifique maximale. La qualification des monolithes obtenus durant cette première phase d'optimisation sera réalisée par CPL de phase inverse, sur un mélange de composés modèles.

Dans un second temps, l'optimisation de la fonctionnalisation de surface du monolithe sera réalisée en batch, sur monolithes synthétisés au format « macro » (voir matériels et méthodes). L'optimisation du greffage d'une amine tertiaire, la triéthylamine TEA), sur les fonctions époxy du monolithe (apportées par le monomère GMA) sera abordée en deux temps : tout d'abord avec l'élucidation du mécanisme réactionnel, qui permettra, dans un second temps la mise en œuvre d'une optimisation spécifique au greffage de la TEA.

L'objectif est de maximiser la conversion des époxy par la TEA afin d'obtenir une capacité d'échange maximale. En effet, les capacités d'échanges maximales reportées dans la littérature pour les monolithes organiques restent limitées par rapport à celles concernant les résines de type AGX actuellement utilisées pour la séparation U/Pu/PF au laboratoire (environ 25 nmol/µL de colonne contre environ 400 nmol/µL de colonne pour la résine AG1X8). L'injection d'une quantité d'échantillon trop importante pourrait alors conduire à la surcharge de la colonne monolithique et donc à la dégradation de la séparation. Ceci s'avère d'autant plus critique que les concentrations d'Uranium et de Plutonium présentes dans les échantillons de combustibles sont de l'ordre du $g.L^{-1}$.

Finalement, la combinaison des conditions optimales de polymérisation (déterminées en capillaires de silice) et de fonctionnalisation (déterminées au format « macro ») a permis l'obtention de colonnes capillaires monolithiques échangeuses d'anions, de façon reproductible, qui ont montré d'excellentes performances chromatographiques, ainsi qu'une résistance chimique satisfaisante.

3.2 Matériels et méthodes

3.2.1 Réactifs chimiques

Les réactifs entrant dans la fabrication du monolithe : le glycidyl méthacrylate (97 %, GMA), l'éthylène diméthacrylate (98 %, EDMA), le 2,2'-azobisisobutyronitrile (> 99 %, AIBN), l'acétonitrile (ACN, LC-grade), le butane-1,4-diol (LC-grade), le propan-1-ol (LC-grade), le 3-(triméthoxysilyl)-propyl méthacrylate, la diéthylamine (97%, DEA) et la triéthylamine (98 %, TEA) ont été obtenus auprès d'un seul fournisseur (Sigma Aldrich). Tous les sels utilisés pour la préparation des phases mobiles et des échantillons (bromate, chlorure, nitrite, nitrate et benzoate de sodium) sont commercialisés par la société Sigma Aldrich. L'eau ultra pure (> 18MΩ) provenait d'un système Elga UHQII (Veolia Water).

3.2.2 Monolithes au format « macro » : synthèse et fonctionnalisation

La synthèse du monolithe au format « macro », réalisée dans des tubes à essai en verre, permet d'obtenir une grande quantité de monolithe. Après broyage, le monolithe se présente sous la forme d'une poudre facilement utilisable pour l'optimisation des conditions de fonctionnalisation ainsi que pour les analyses par spectroscopie infra-rouge.

Le mélange réactionnel utilisé pour la synthèse du monolithe est constitué de 30 % de GMA, 10 % d'EDMA, 35 % de propan-1-ol, 5 % d'eau et 20 % de butane-1,4-diol (fractions volumiques). L'initiateur radicalaire, l'AIBN, est ajouté à hauteur de 1 % en masse par rapport aux monomères. Le mélange obtenu est homogénéisé sous agitation magnétique forte pendant 30 minutes avant d'être dégazé sous ultrasons pendant 5 minutes. Le mélange est

ensuite introduit à l'intérieur de tubes à essai en verre (diamètre de ≈ 1 cm), puis soumis à une irradiation de 1,4 $mW.cm^{-2}$ à 365 nm pendant 30 minutes dans un four UV (Crosslinker Biolink, VWR International), équipé d'un radiomètre avec un détecteur monochromatique calibré à 365 nm (Fischer Scientific). Le monolithe obtenu au format « macro » est ensuite extrait du tube à essai et lavé fortement au méthanol sur Büchner (≈ 50 mL).

Le protocole de greffage, réalisé dans des tubes de 1,5 mL, est le suivant : typiquement 100 mg de monolithe « macro » sont ajoutés à 1 mL d'une solution réactive contenant l'amine (diéthylamine, DEA ou triéthylamine, TEA), solubilisée, ou non, dans un solvant. Les cinétiques de greffage ont été réalisées sur 8 h, à des températures de 50 à 85 °C contrôlées par un thermomixeur® Eppendorf (qui assure également l'agitation de l'échantillon). Le monolithe fonctionnalisé, obtenu en fin de la réaction, est lavé fortement à l'éthanol (Büchner, ≈ 50 mL), puis séché en étuve à 50 °C pendant au moins 1h avant analyse par spectroscopie infra-rouge.

3.2.3 Monolithe au format « macro » : caractérisations

3.2.3.1 Spectroscopie infra-rouge et plan d'expériences pour l'optimisation des conditions de greffage :

Les spectres infra-rouge ont été enregistrés entre 600 et 4000 cm^{-1} avec une résolution de 4 cm^{-1} par l'accumulation de 16 scans en utilisant un spectromètre Nicolet Avatar 320 FTIR (ThermoScientific) en mode Reflexion Totale Atténuée (ATR).

La description complète de la méthode de mesure Infra-Rouge ainsi que le plan d'expériences utilisé, afin d'optimiser les conditions expérimentales pour la fonctionnalisation du monolithe, sont détaillés dans l'annexe 1.

3.2.3.2 Mesure de capacité d'échange d'anions (CE_a) :

La mesure de la CE_a du monolithe fonctionnalisé, au format macro, a été réalisée par adsorption/élution d'ions chlorures, de la façon suivante : après saturation de 50 mg de monolithe par mise en contact avec 10 mL d'une solution de chlorure de sodium (10 mM), l'excès d'ions non-adsorbés est éliminé par lavage à l'eau ultra pure (plusieurs fois 10 mL). Enfin, les ions chlorures adsorbés sur le monolithe sont élués par l'ajout de 10 mL d'une solution de nitrates de sodium (10 mM). La forte différence d'affinité entre les ions Cl^- et NO_3^-, ainsi que l'excès d'ions nitrates introduits, permettent la désorption totale des chlorures adsorbés en surface du monolithe.

La mesure de la quantité d'ions chlorures relargués en solution (réalisée par chromatographie ionique) permet la détermination de la capacité d'échange du monolithe en $\mu mol.g^{-1}$ suivant :

$$CE_a = \frac{n_{l^-}}{m_{monolithe}} \ (en\ \mu mol.g^{-1}) \qquad \textbf{3.1}$$

avec n_{Cl^-} la quantité d'ions chlorures en solution après leur désorption et $m_{monolithe}$ la masse de monolithe au format macro utilisée pour la mesure.

3.2.4 Colonnes capillaires monolithiques : synthèse et fonctionnalisation

Les colonnes utilisées sont des capillaires de silice fondue enduits de Teflon™ (Cluzeau Info Labo) : diamètre externe 380 µm et diamètre interne (d.i.) de 100 µm. La vinylisation préalable des parois internes des capillaires, qui permet l'ancrage du monolithe, est réalisée par la procédure suivante: nettoyage des capillaires durant 30 minutes avec de la soude 1 M et 30 minutes avec de l'éthanol. La réaction de vinylisation est réalisée par une solution à 5 % (v/v) de 3-(triméthoxysilyl)propyl methacrylate dans un mélange éthanol/eau 95:5 v/v pendant 30 minutes. Finalement, le capillaire est rincé à l'éthanol pendant 30 minutes avant d'être séché sous flux d'azote. La pression utilisée, permettant l'écoulement des liquides à travers le capillaire, est de 1 bar environ, appliquée à l'aide du système Nanobaume® (Cluzeau Infolabo, France). Le mélange, préparé de la même façon qu'au format « macro », est ensuite introduit dans le capillaire avant irradiation UV (1,4 $mW.cm^{-2}$ pendant 30 min). En fin de synthèse, la colonne monolithique obtenue est rincée à l'acétonitrile à un débit de 1 $\mu L.min^{-1}$ pendant 2 h, à l'aide d'une pompe chromatographique.

La fonctionnalisation des colonnes capillaires monolithiques a été réalisée uniquement avec la triéthylamine (TEA). La réaction est conduite sous flux continu de TEA solubilisée dans un mélange EtOH/Eau 50:50 v/v à 1 $\mu L.min^{-1}$ pendant 4 heures dans un four chromatographique thermostaté à 85 °C. En fin de réaction, la colonne monolithique fonctionnalisée est rincée à l'éthanol à un débit de 1$\mu L.min^{-1}$ pendant 3 heures, puis à l'eau pendant 3 heures, avant d'être conditionnée en milieu perchlorate de sodium pendant 6 heures à 1 $\mu L.min^{-1}$.

3.2.5 Colonnes capillaires monolithiques : caractérisations

3.2.5.1 Microscopie Electronique à Balayage (MEB) :

Les clichés MEB ont été obtenus avec un microscope Jeol JCM-5000 Neoscope après métallisation des échantillons par dépôt d'une couche d'or.

3.2.5.2 Etude de l'incorporation des monomères :

La quantification des monomères restant dans la colonne capillaire, pour des synthèses de monolithe de durées comprises entre 10 et 40 minutes, a permis de suivre les cinétiques d'incorporation de ces derniers. Les monomères restant ont été collectés lors de l'étape de

rinçage du monolithe, puis quantifiés par chromatographie liquide en phase inverse. La colonne utilisée était une colonne HYPERCARB (3 x 100 mm, remplie par des particules de 5 µm) qui permet la séparation du GMA et de l'EDMA dans une phase mobile ACN/Eau 50:50 v/v. La quantification a été réalisée par détection UV à 220 nm, à l'aide d'un détecteur UV Waters 996 DAD.

Le taux d'incorporation des deux monomères en fonction du temps est calculé de la façon suivante :

$$Taux\ incorporation = \left[1 - \left(\frac{c_t}{c_0}\right)\right].100\ (exprimé\ en\ \%) \qquad \textbf{3.2}$$

avec c_t la concentration de GMA ou d'EDMA après un temps t de polymérisation, et c_0 la concentration initiale de GMA ou d'EDMA dans le mélange réactionnel.

3.2.5.3 Nano-chromatographie en phase inverse

L'évaluation des performances des colonnes capillaires monolithiques en chromatographie de phase inverse a été conduite avec un appareil d'électrophorèse capillaire Agilent^{3D} CE (Agilent Technologies), en utilisant le mode d'écoulement des liquides par pression. Ce mode permet d'appliquer jusqu'à 12 bars de pression en tête de colonne, correspondant à des débits de l'ordre de quelques centaines de nanolitres par minute pour des phases mobiles ACN/eau (en fonction de la perméabilité et de la longueur de la colonne monolithique). La détection UV est réalisée *in-situ*, au travers de la colonne.

3.2.5.4 Evaluation de la perméabilité et de la porosité totale

La perméabilité du monolithe (K_0) a été évaluée en milieu ACN, juste après sa synthèse, par la mesure du temps mort de la colonne (avec une molécule non-retenue par la colonne) suivant la relation :

$$K_0 = \frac{\upsilon_0 \eta L}{\Delta P} = \frac{\left(L/t_0\right)\eta L}{\Delta P} \quad (\ en\ m^2) \qquad \textbf{3.3}$$

avec υ_0 la vitesse de la phase mobile (déterminée par la mesure du temps mort, t_0, avec une molécule non-retenue par la colonne, ici l'acétone), η la viscosité du fluide constituant la phase mobile (ici l'ACN), L la longueur de la colonne monolithique et ΔP la perte de charge appliquée sur l'appareil d'électrophorèse capillaire (fixée à 12 bars).

La perméabilité du monolithe a aussi été évaluée en milieu aqueux, juste après sa fonctionnalisation, à l'aide de la relation suivante (décrite au paragraphe 2.3.4.1) :

$$K_0 = \frac{K_F}{\varepsilon_T} = \frac{D\eta L}{\pi r^2 \Delta P} \times \frac{1}{\varepsilon_T} \qquad \textbf{3.4}$$

pour différentes valeurs de débit D appliqué par la pompe chromatographique, η la viscosité de l'eau, r le rayon de la colonne capillaire (ici, 50 µm). La moyenne obtenue pour les mesures de perméabilité permet d'estimer l'incertitude associée à ± 2 σ. La porosité totale ε_T du monolithe a été déterminée en milieu ACN avant greffage de la façon suivante :

$$\varepsilon_T = \frac{Dt_0}{\pi r^2 L} \qquad \textbf{3.5}$$

avec t_0 déterminé par l'injection de l'acétone et D le débit de phase mobile ACN appliqué par la pompe chromatographique. La porosité ainsi déterminée a été considérée constante avant et après le greffage du monolithe.

3.2.5.5 Nano-chromatographie d'échange d'anions

L'appareillage de nano-chromatographie d'échange d'ions est représenté sur la figure 3-1. Il est composé d'une pompe seringue MicroPro de Sunchrom, d'une nano-vanne d'injection automatique (C72NH, Interchim) et d'un détecteur UV LC-Packings Ultimate équipé d'une cellule de détection de 3 nL. Les injections sont temporisées (seule une partie de la totalité du volume de la boucle d'injection est injectée), afin d'injecter un volume d'environ 10 nL. En sortie de détection, un débit-mètre Sensirion SLG-1430 permet de confirmer la valeur de débit imposé par la pompe avec une plus grande précision (± 10 $nL.min^{-1}$).

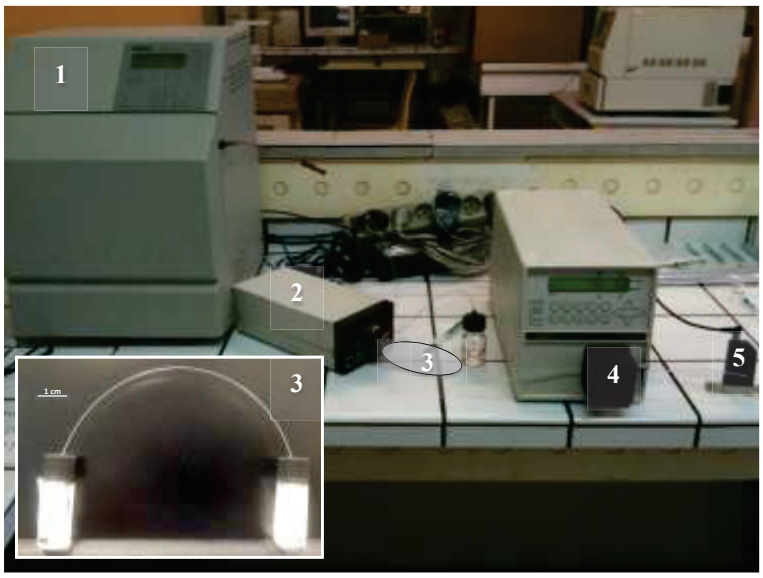


Figure 3-1 : Montage expérimental de nano-chromatographie d'échange d'ions : 1. Pompe seringue, 2. Nano-vanne automatisée, 3. Colonne capillaire monolithique, 4. Détecteur UV et 5. Débit-mètre.

3.2.5.6 Mesure de la capacité d'échange d'anions :

La capacité d'échange d'anions (CE_a) des colonnes capillaires monolithiques, après fonctionnalisation, est déterminée selon le protocole suivant : tout d'abord, la colonne est saturée par une solution de benzoate de sodium 2 mM (anions peu retenus) jusqu'à avoir une ligne de base stable (détection UV à 210 nm). Une étape de rinçage à l'eau ultra pure permet ensuite d'éluer l'excès d'anions non-adsorbés sur la colonne monolithique. L'utilisation d'une phase mobile de perchlorate de sodium 10 mM permet enfin d'éluer quantitativement les ions benzoates adsorbés (forte différence d'affinité entre les ions benzoates et ClO_4^-). Cette étape, réalisée à un débit constant de 1 µL.min^{-1}, conduit à l'apparition d'un signal UV de la forme d'un créneau d'une durée correspondant au temps pour lequel les anions ClO_4^- ont élué la totalité des anions benzoates. Finalement, la capacité d'échange d'anions est déterminée de la manière suivante :

$$CE_a = \frac{n_{sat}}{\pi r_{col}^2 l_{col}} = \frac{(t_{sat} D [ClO_4^-])}{\pi r_{col}^2 l_{col}} \quad (en\ nmol.\mu L^{-1}) \qquad \textbf{3.6}$$

Avec n_{sat} le nombre de moles à saturation (en nmol), l_{col} la longueur de colonne (en mm), r_{col} le rayon interne de la colonne capillaire (mm), t_{sat} la durée du créneau (en min), D le débit utilisé lors de l'élution des benzoates (en nL.min^{-1}), $[ClO_4^-]$ la concentration des ions perchlorates (en mol.L^{-1}).

3.3 Optimisation de la structure poreuse du monolithe poly(GMA-co-EDMA)

3.3.1 Méthodologie

L'élaboration d'une colonne monolithique pour la chromatographie liquide d'échange d'anions repose, dans un premier temps, sur la synthèse d'un support générique (sauf dans le cas d'une fonctionnalisation directe, par co-polymérisation). L'optimisation des propriétés structurales du monolithe (porosité, taille des globules), au travers de l'ajustement des paramètres de polymérisation, est réalisée par le suivi des performances chromatographiques obtenues pour chaque colonne monolithique (perméabilité, rétention, efficacité). L'évaluation est réalisée avec des composés modèles (généralement les alkyls benzène), en chromatographie de phase inverse. La seconde étape de développement du monolithe concernera sa fonctionnalisation, afin de permettre son utilisation en chromatographie d'échange d'ions.

Comme mentionné lors de l'étude bibliographique, la majorité des développements sur les monolithes est aujourd'hui réalisée à partir de mélanges réactionnels connus. Dans le

cadre du projet, nous avons décidé de partir du mélange réactionnel développé par Ueki *et al.* [179] contenant le monomère GMA, et l'agent réticulant éthylène diméthacrylate, EDMA (le GMA est nécessaire à la fonctionnalisation post-synthèse). Comme les monolithes poly(GMA-co-EDMA) obtenus par Ueki *et al.* présentent d'excellentes performances en chromatographie d'échange d'ions, aucun ajustement n'a été opéré concernant la composition du mélange réactionnel (monomères, porogène, initiateur). Cependant, la synthèse proposée par Ueki étant initiée thermiquement, elle ne correspond pas au choix effectué lors de l'étude bibliographique. C'est pourquoi cette étape a dû être ré-optimisée, en regard aux performances chromatographiques. En effet, les polymérisations radicalaires en chaine initiées photochimiquement et thermiquement ont des cinétiques très différentes et conduisent à des structures monolithiques très caractéristiques. Ainsi, la photopolymérisation étant beaucoup plus rapide (le nombre de radicaux créés par unité de temps, lors de l'étape d'initiation, est beaucoup plus important), elle conduit généralement à l'obtention de globules de faible dimension par opposition à une polymérisation par initiation thermique.

Finalement le tableau 3-1 détaille la composition du mélange réactionnel en rappelant le rôle de chacun des constituants.

Tableau 3-1 : Composition du mélange réactionnel choisi pour la synthèse d'un monolithe polyméthacrylate.

Composant du mélange réactionnel	Rôle dans la synthèse du monolithe
Glycidyl Méthacrylate, GMA	Monomère fonctionnel : utilisation de la fonction époxy apportée par le GMA pour fonctionnaliser le monolithe
Ethylène DiMéthAcrylate, EDMA	Monomère (ou agent) réticulant : assure la résistance mécanique du polymère par la formation de chaînes polymériques hautement réticulées
Butan-1,4-diol	Solvant porogène : dans notre cas, le mauvais solvant ou macroporogène
Eau	Solvant porogène : dans notre cas, aussi un mauvais solvant
Propan-1-ol	Solvant porogène : dans notre cas, bon solvant
AIBN	Initiateur radicalaire : à l'origine utilisé comme initiateur thermique, mais utilisé comme initiateur photochimique dans notre cas

3.3.2 Optimisation de l'initiation photochimique de la polymérisation du monolithe poly(GMA-co-EDMA)

Parce que l'instrumentation UV du laboratoire ne permet pas l'ajustement de la puissance lumineuse (fixée à 1,4 $mW.cm^{-2}$), l'optimisation de la structure du monolithe (et donc des performances chromatographiques), est basée sur l'étude de l'influence de l'énergie

d'irradiation utilisée sur la synthèse par photopolymérisation. La gamme étudiée s'étend de 0,9 à 3,4 J.cm^{-2} (correspondant à des temps de polymérisation de 10 à 40 min).

Comme décrit récemment par Nischang et al. [134], l'étude de la cinétique d'incorporation des monomères pendant la polymérisation radicalaire en chaîne permet d'élucider, en partie, le mécanisme de « fabrication » d'un monolithe et donc d'optimiser sa synthèse. Nous avons donc, dans un premier temps, étudié les cinétiques d'incorporation du monomère GMA et de l'agent réticulant EDMA lors de la synthèse du monolithe poly(GMA-co-EDMA).

3.3.2.1 Cinétique d'incorporation des monomères

La figure 3-2 montre les cinétiques d'incorporation obtenues pour notre monolithe, ainsi que celles obtenues par Nischang et al. pour la synthèse d'un monolithe poly(butyl méthacrylate-co-EDMA) [134]. Dans notre cas, parce que la photopolymérisation a une cinétique rapide, 50 % des monomères présents initialement sont déjà incorporés dans la structure polymérique en croissance seulement après 10 à 15 minutes de réaction (1 h est nécessaire pour la polymérisation thermique), et 90 % de ces monomères sont finalement incorporés en 40 minutes de réaction (3,4 J.cm^{-2}). Le rapport constant, d'une valeur de 1,2, entre la quantité de monomère fonctionnel (GMA) et la quantité d'agent réticulant (EDMA) incorporées durant les 20 premières minutes de réaction traduit la différence de réactivité des deux molécules. L'incorporation de l'agent réticulant, en début de croissance du polymère, est prépondérante. La diminution de ce rapport au fur et à mesure de la réaction indique que les couches externes du monolithe (constituées en fin de polymérisation) sont composées d'une quantité moindre d'agent réticulant et donc moins réticulées. Ces couches ont une porosité inhomogène, et leur répartition poreuse varie en fonction de la phase mobile organique utilisée comme l'ont récemment montré Nischang et al. [235]. A l'inverse, l'incorporation d'une quantité importante de monomère GMA en fin de synthèse, et donc en surface du polymère, devrait favoriser l'obtention d'une capacité d'échange maximale (la capacité d'échange étant directement reliée à la quantité de cycle époxy accessible en surface). L'évolution du rapport des quantités de monomères fonctionnel et réticulant incorporées au fur-et-à-mesure de la photopolymérisation de notre monolithe poly(GMA-co-EDMA) (figure 3-2, 1) est très différente de celle décrite par Nischang pour la polymérisation d'un monolithe poly(butyl méthacrylate-co-EDMA) par initiation thermique (figure 3-2, 2). Bien que les deux monomères fonctionnels utilisés (GMA et butyl méthacrylate) soient différents, ceci met en évidence les différences de cinétiques entre des polymérisations initiées thermiquement et photochimiquement. Cela se traduit, en fin de réaction, par la formation de structures polymériques du poly(GMA-co-EDMA) totalement différentes.

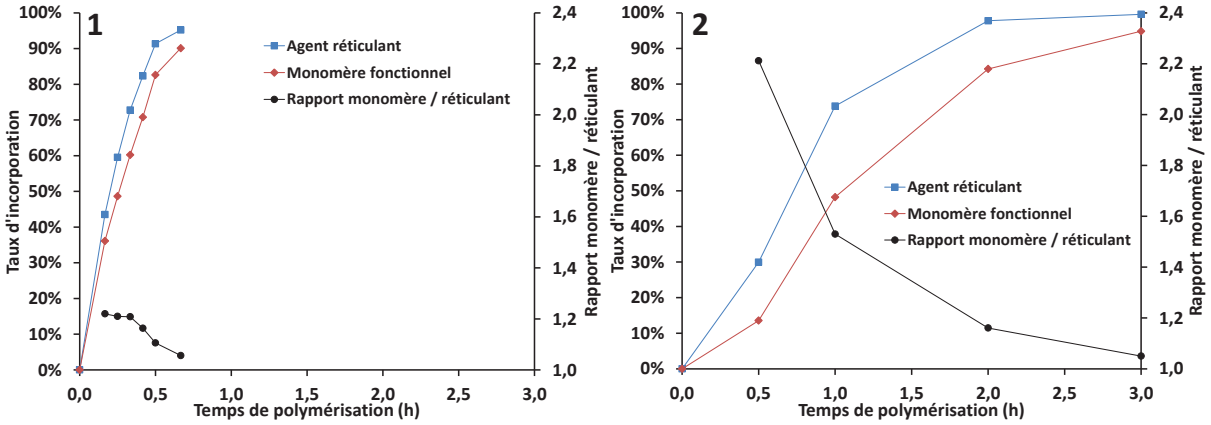


Figure 3-2 : Evolution du taux d'incorporation de l'agent réticulant EDMA et des monomères fonctionnels GMA (1) (notre étude) et BuMA (2) (adaptée de [134]) pour des polymérisations de monolithe polyméthacrylates initiées photochimiquement (1) et thermiquement (2).

La figure 3-3 présente les clichés MEB de monolithes poly(GMA-co-EDMA) synthétisés au laboratoire en colonnes capillaires (d.i. 100 µm), par initiation thermique (1) (24 h de réaction à 60 °C, procédure de Ueki) et par initiation photochimique (2) (30 min à 1,4 mW.cm^{-2}). Le monolithe issu de la polymérisation thermique présente des globules de taille supérieure et une perméabilité plus élevée que le monolithe issu d'une photopolymérisation. En effet, la formation d'une quantité plus importante de radicaux lors de l'étape d'initiation photochimique engendre la formation d'un plus grand nombre de nucléis, et donc de globules plus petits et fortement agglomérés (conformément à ce qui a été décrit lors de l'étude bibliographique).

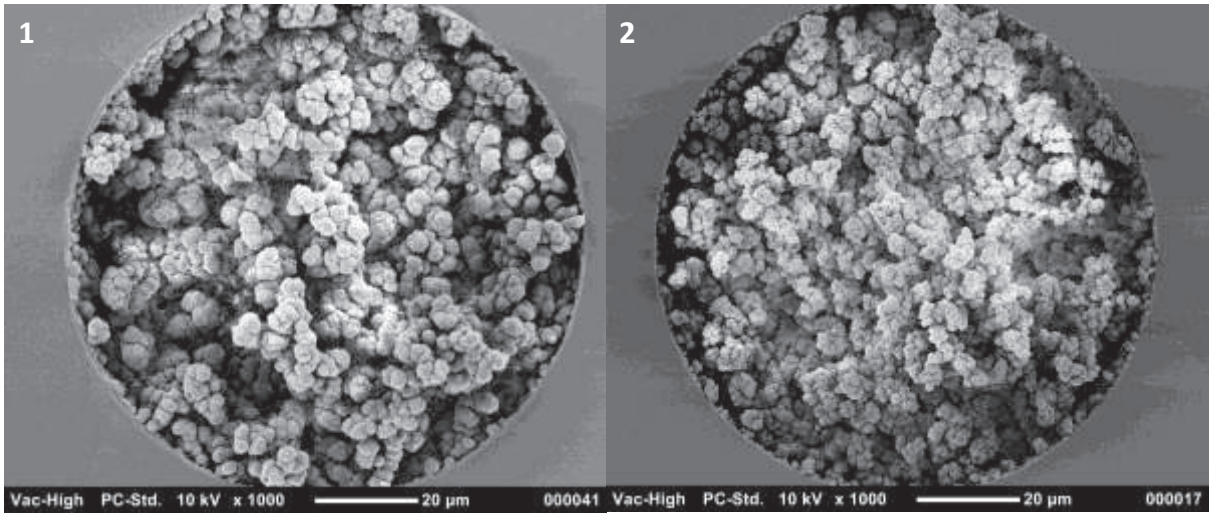


Figure 3-3 : Clichés MEB du monolithe poly(GMA-co-EDMA) synthétisé en colonne capillaire par initiation thermique, 24h de réaction à 60 °C (1) et photochimique, 30 min à 1,4 mW.cm^{-2} (2).

3.3.2.2 Optimisation de synthèse et évaluation des performances chromatographiques

Parce que les monolithes obtenus selon les conditions de Ueki *et al.* et selon nos conditions sont très différents, l'évaluation des performances chromatographiques des monolithes issus de photopolymérisation a été nécessaire. La qualification des monolithes obtenus pour des temps de polymérisation allant de 10 à 40 minutes a été réalisée par le suivi des paramètres chromatographiques suivant : la perméabilité (K_0), la hauteur minimale équivalente à un plateau théorique (H_{min}, correspond à l'efficacité maximale accessible avec la colonne monolithique) et le facteur de rétention (k') (mesurés par chromatographie de phase inverse sur des composés modèles).

L'évolution de la perméabilité en fonction du temps d'irradiation utilisée pour la synthèse du monolithe est représentée sur la figure 3-4. Ainsi, de faibles doses UV ($< 0{,}9$ J.cm^{-2}) conduisent à la formation de monolithes très inhomogènes, inadaptés à la chromatographie. L'augmentation du temps de polymérisation (donc de l'énergie UV) de 15 à 40 minutes, s'accompagne d'une diminution de la perméabilité d'un facteur 2. Les clichés MEB des monolithes obtenus en capillaire de silice (figure 3-4, 1, 2 et 3) illustrent la formation de monolithes de plus en plus denses, avec la diminution marquée de la macroporosité (zones vides entre les globules) et donc de K_0.

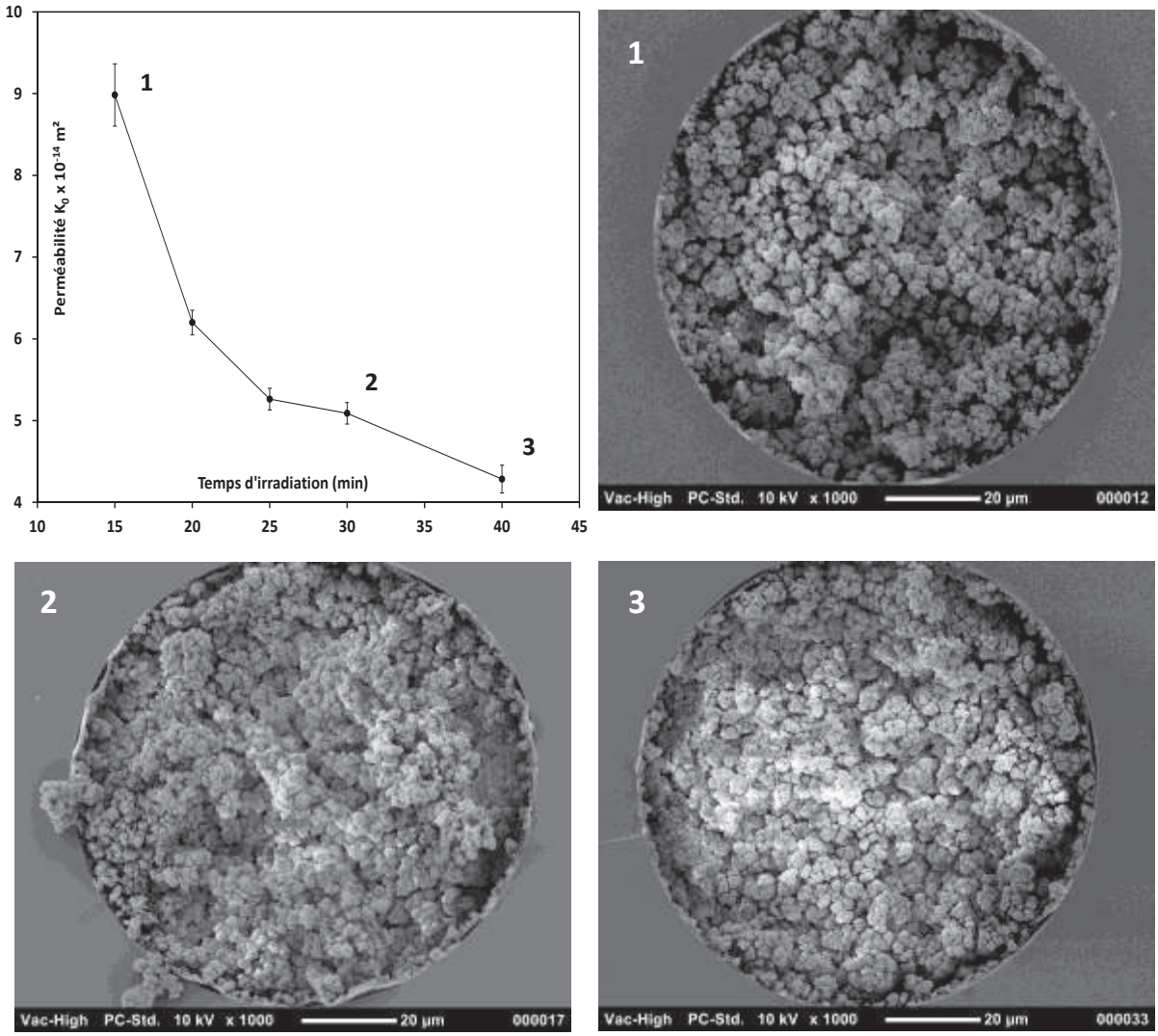


Figure 3-4 : Evolution de la perméabilité K_0 de monolithes poly(GMA-co-EDMA) synthétisés en capillaires de silice fondue avec des temps d'irradiation (correspondant à des énergies UV) croissants de : (1). 15 min, (2). 25 min et (3). 40 min. Colonnes capillaires : 100 µm x 8,5 cm. Phase mobile : 100 % ACN. Détection : UV à 214 nm.

Les évolutions de la rétention (k') et de l'efficacité optimale (H_{min}) en fonction du temps d'irradiation (en CPL de phase inverse) sont représentées sur la figure 3-5, 1 et 2 respectivement, pour le benzène, le toluène et l'éthylbenzène. La rétention maximale de ces composés (k' = 1,2, 1,5 et 1,8 pour le benzène, le toluène et l'éthylbenzène respectivement), est obtenue pour des temps d'irradiation supérieurs à 30 minutes. Dans la phase mobile utilisée (ACN/eau 50:50 v/v), ces rétentions sont relativement élevées malgré la faible surface spécifique développée pour le monolithe, mesurée à environ 10 m^2/g (par adsorption/désorption d'azote). Le minimum de H_{min} est également obtenu dès 30 minutes d'irradiation (H_{min} = 10 µm mesurée pour une vitesse optimale de 0,5 $mm.s^{-1}$). Il est important de noter ici que la surface spécifique a été mesurée sur un monolithe au format macro, réduit en poudre. Cette valeur ne correspond pas à la valeur vraie, lorsque le monolithe est synthétisé

à l'intérieur de colonnes capillaires, et solvaté dans un milieu liquide organique comme l'a déjà évoqué Nischang [134], mais donne une information comparative par rapport aux autres monolithes polyméthacrylates.

Finalement, le meilleur compromis entre une perméabilité satisfaisante (temps d'irradiation ≤ 30 min), efficacité et rétention maximales (temps d'irradiation ≥ 30 min) est obtenu par l'utilisation d'un temps d'irradiation de 30 min, correspondant à une énergie UV totale de 2,5 J.cm^{-2} (pour une puissance UV de 1,4 mW.cm^{-2}).

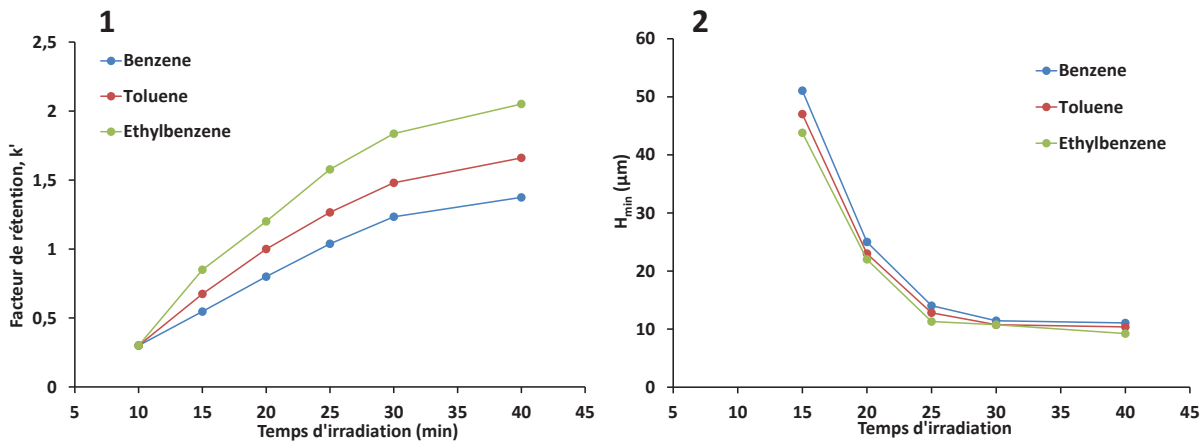


Figure 3-5 : Influence du temps d'irradiation lors la synthèse du monolithe poly(GMA-co-EDMA) en colonne capillaire sur : le facteur de rétention (1) et H_{min} (2) pour le benzène, le toluène et l'éthyl benzène. Colonne : 100 µm x 8,5 cm. Phase mobile : ACN/eau 50:50 v/v. Détection UV à 214 nm.

Le monolithe poly(GMA-co-EDMA), photopolymérisé dans ces conditions (figure 3-4, 2), est constitué d'agglomérats très denses de nucléis en globules d'environ 1 µm (comparée à 2-5 µm pour le monolithe obtenu par Ueki [179]), et de macropores d'environ 1 µm). Ce monolithe se caractérise aussi par une perméabilité moyenne de 5.10^{-14} m², caractéristique des monolithes organiques, et par une porosité totale (ε_T) de 0,86 (calculée suivant l'équation 3.5). De plus, l'évolution linéaire de la perte de charge mesurée en fonction de débits croissants a permis de vérifier sa résistance mécanique (jusqu'à 160 bar pour un débit d'ACN de 10 µL.min^{-1} pour une colonne de 7,5 cm de long, d.i. = 100µm).

3.3.2.3 Evaluation de la reproductibilité de la photopolymérisation

Comme évoqué lors de l'étude bibliographique, la synthèse de monolithes par photopolymérisation est aujourd'hui reconnue comme étant aussi reproductible que celle par initiation thermique [195, 236]. Néanmoins, parce que le processus de photopolymérisation est très rapide (seulement 15 minutes dans notre cas avant précipitation du monolithe), de faibles variations de la puissance UV, liées au vieillissement de l'appareillage par exemple, peuvent conduire à des variations significatives de la structure monolithique, et *a fortiori* des

performances chromatographiques. Par conséquent, la robustesse de la synthèse a été vérifiée par l'évaluation des reproductibilités obtenues pour la perméabilité, la rétention et l'efficacité mesurées pour le benzène, pour plusieurs lots de colonnes capillaires monolithiques. Les coefficients de variations obtenus (tableau 3-2) sont de l'ordre de 10 %, ce qui est considéré comme très acceptable pour la synthèse de monolithe (ces valeurs sont équivalentes à celles obtenues par Ueki). Les valeurs moyennes regroupées dans le tableau 3-2, ont par la suite servies de référence afin de qualifier la qualité des colonnes monolithiques avant leur fonctionnalisation.

Tableau 3-2 : Caractérisation de la reproductibilité de la photopolymérisation du monolithe poly(GMA-co-EDMA) : valeurs moyennes et coefficients de variations obtenus pour la perméabilité K_0, l'efficacité H_{min} et le facteur de rétention k'.

	Valeur de référence	Coefficient de Variation (%)
$K_0 \pm 2\sigma$ (m^2)*	$5{,}0.10^{-14} \pm 1{,}2.10^{-14}$	12
$H_{min} \pm 2\sigma$ (μm)**	$10{,}0 \pm 1{,}2$	6
$k' \pm 2\sigma$	$1{,}2 \pm 0{,}2$	5

** Colonne : 100 µm x 8,5 cm. Phase mobile : 100 % ACN*

*** Colonne : 100 µm x 8,5 cm. Phase mobile : ACN/eau 50:50 v/v. Echantillon : acétone (marqueur de temps mort, calcul de K_0) et benzène. Vitesse linéaire : 0,5 $mm.s^{-1}$. Détection UV à 214 nm.*

3.4 Fonctionnalisation du monolithe poly(GMA-co-EDMA)

Nous avons vu que d'une façon générale, les monolithes poly(GMA-co-EDMA) utilisés en chromatographie d'échange d'anions, sont fonctionnalisés par greffage chimique d'une amine secondaire, la diéthylamine (DEA), sur les cycles époxy en surface du monolithe. Cette réaction conduit à l'obtention d'une colonne dite échangeuse d'anions faible, dont la forme protonnée n'est obtenue qu'à pH acide. Il est possible de s'affranchir de cette contrainte en fonctionnalisant le monolithe de sorte à obtenir une colonne échangeuse d'anions forts (charge permanente en surface). Ceci a été envisagé ici par le greffage d'une amine ternaire, la triéthylamine (TEA), conduisant à la formation directe d'un ammonium quaternaire en une seule étape comme l'illustre la figure 3-6.

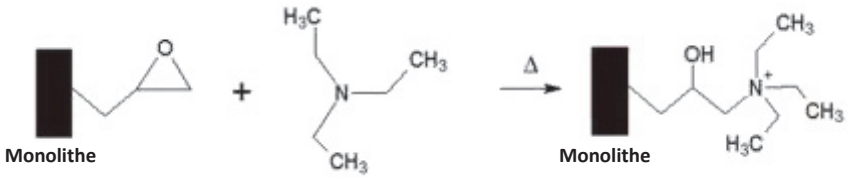


Figure 3-6 : Addition nucléophile de la TEA sur un cycle époxy porté par le monolithe et obtention d'une fonctionnalité hydroxy propyl triéthylammonium.

La comparaison des cinétiques réactionnelles de greffage de la DEA et la TEA a, dans un premier temps, permis de comprendre le mécanisme réactionnel mis en jeu, et notamment le rôle de l'état de transition de la réaction. Dans cette étude, le greffage de la DEA a servi de référence. Partant de ces observations et à l'aide d'un plan d'expérience, l'optimisation des paramètres réactionnels a permis d'obtenir un taux maximal de greffage de la TEA sur les cycles époxy du monolithe et donc une capacité d'échange d'ions optimale.

3.4.1 Réactivité « époxy – amine » : étude comparative des greffages de la DEA et de la TEA

La fonctionnalisation des monolithes poly(GMA-co-EDMA) par greffage de la DEA est très détaillée dans la littérature et il existe de nombreux protocoles. Les principaux paramètres variant d'un protocole de greffage à l'autre sont : le milieu réactionnel (amine pure ou diluée), le temps et la température de réaction. Le tableau 3-3 montre qu'aucun consensus ne se dégage, même si une grande partie des travaux utilise la DEA non diluée. C'est pourquoi nous avons choisi, dans un premier temps, d'étudier le greffage de la TEA dans des conditions identiques (amine non-diluée) afin de pouvoir comparer les mécanismes réactionnels mis en jeu.

Tableau 3-3 : Récapitulatif des conditions réactionnelles de greffage de la DEA sur le cycle époxy de monolithes contenant le monomère GMA (n.i. signifie non-indiquée).

Monolithe	Milieu réactionnel	T (°C)	t (h)	Réf
Monolithes Poly(GMA-co-EDMA)	DEA pure	55	12	[215]
		70	8	[237]
		55	3	[221]
		70	3	[176]
		32	20	[220]
		60	5	[238]
	DEA/Tétrahydrofurane (THF) (1:1 v/v)	60	7	[219]
		80	7	[239]
	DEA/EtOH (1:1 v/v)	n.i.	n.i.	[218]
Monolithes poly(GMA-co-DVB)	DEA/THF (1:1 v/v)	60	7	[240]
	DEA/Dioxane (1:5 v/v)	80	7	[241]
	DEA dans un tampon carbonate 2 M, NaCl 0,3 M	60	8	[242]
		60	8	[243]

Les cinétiques de greffage de la DEA et de la TEA sur le monolithe (taux de conversion des cycles époxy en fonction du temps de réaction), ont été réalisées à des températures croissantes : de 50 à 65 °C pour la DEA, et de 50 à 85 °C pour la TEA. Ces températures sont limitées par les températures d'ébullition des réactifs. Parce qu'aucune

évolution significative des taux de conversion des cycles époxy (rendement de greffage) n'a été observée après 8 h de réaction, les cinétiques ont été réalisées sur 8 h.

Les cinétiques ont été suivies sur monolithes synthétisés au format macro, par spectroscopie infra-rouge (en mode ATR). Ainsi, le spectre infra-rouge caractéristique du monolithe poly(GMA-co-EDMA) non-fonctionnalisé (figure 3-7, A) présente les bandes d'absorption caractéristiques du cycle époxy du monolithe (905 et 843 cm^{-1}) [244-246] et de la fonction acrylate (1720 cm^{-1}). Cette dernière a servi de référence interne afin de normaliser les intensités mesurées sur chacun des spectres obtenus pour les monolithes fonctionnalisés (la fonction acrylate n'étant pas concernée par la réaction de greffage). L'ouverture du cycle époxy, au cours de la réaction d'addition nucléophile de la DEA et de la TEA, conduit ainsi :

- à la disparition des bandes d'absorption caractéristiques du cycle époxy (905 et 843 cm^{-1}, vibrations d'élongation du cycle)
- à la formation d'une bande d'absorption à 2800 cm^{-1} liée à l'addition de la DEA (vibration d'élongation liaison C-H en α d'un azote)
- à la formation d'une bande d'absorption à 1570 cm^{-1} liée à l'addition de la TEA (vibration de déformation C-H)
- à aucune variation de la bande d'absorption acrylate à 1720 cm^{-1} (vibration d'élongation C=O aliphatique)

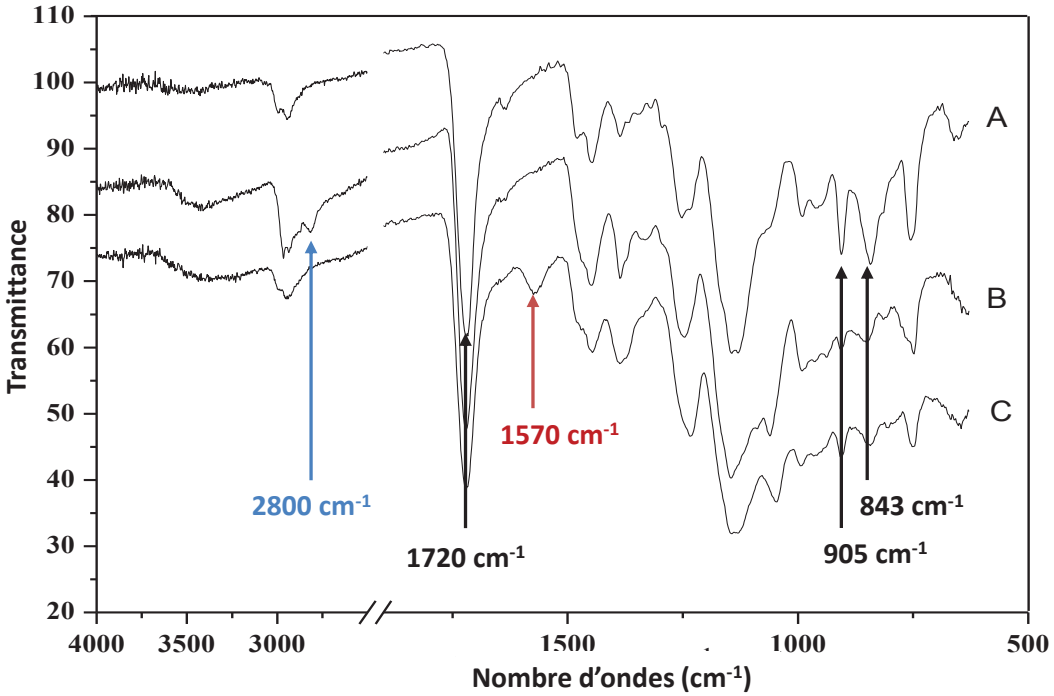


Figure 3-7 : Spectres infra-rouge (ATR) : (A) du monolithe poly(GMA-co-EDMA) avec ses bandes d'absorption caractéristiques à 1720, 905 et 843 cm^{-1} (flèches noires), (B) monolithe (poly(GMA-co-EDMA) fonctionnalisé par la DEA (4 h de réaction à 65 °C), bande d'absorption

caractéristique à 2800 cm^{-1} (flèche bleue), (C) monolithe poly(GMA-co-EDMA) fonctionnalisé par la TEA (4 h de réaction à 85 °C), bande d'absorption caractéristique à 1570 cm^{-1} (flèche rouge).

Il est donc possible d'effectuer le suivi cinétique des réactions de greffage en mesurant soit l'apparition des bandes à 2800 ou 1570 cm^{-1}, soit la disparition des bandes à 843 ou 905 cm^{-1}. Néanmoins, nous avons suivi la disparition de la bande à 905 cm^{-1} car elle conduit à une variabilité des mesures (pour les deux greffages), la plus faible (coefficients de variation, CV, inférieurs à 10 %). Cette bande d'absorption particulière est d'ailleurs généralement utilisée pour le suivi de modifications de cycles époxy [245].

La figure 3-8 représente les cinétiques réactionnelles obtenues à 65 °C pour la DEA, et à 85 °C pour la TEA. Leur comparaison démontre la différence de réactivité observée pour les deux amines et par conséquent, un écart significatif des taux de conversion finaux. En effet, après 8 h de réaction, la conversion des cycles époxy par la DEA est quasiment totale, alors qu'elle n'est que de 68 ± 5 % pour la TEA.

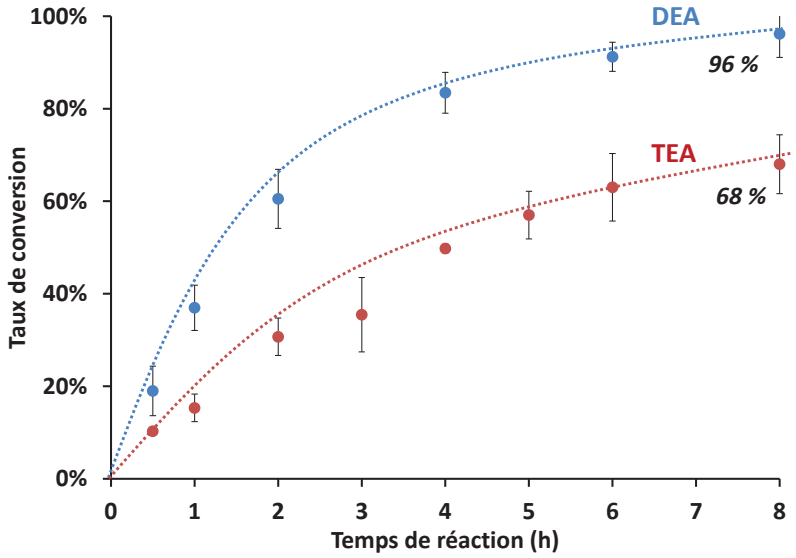


Figure 3-8 : Cinétiques de greffage de la DEA à 65 °C (●) et de la TEA à 85 °C (●) sur le monolithe poly(GMA-co-EDMA) (courbes en pointillés représentant l'allure générale).

Les cinétiques de greffage de la DEA et de la TEA sur le monolithe ont mis en évidence une différence de réactivité (voir annexe 1), conduisant néanmoins, dans les deux cas, à l'obtention de taux de conversion maximaux pour les températures maximales utilisées (65°C pour la DEA et 85 °C pour la TEA). Ainsi, le taux de conversion des fonctions époxy par la DEA est seulement de 75 ± 4 % à 50 °C contre 96 ± 3 % à 65 °C (au bout de 8 h de réaction). Il est possible d'expliquer cette différence de réactivité par l'étude des énergies d'activation des deux réactions de greffage. Pour ce faire, les constantes de vitesse (ou cinétique, k) ont été déterminées, pour les deux molécules, pour chaque température de

réaction testée et en considérant la réaction de greffage comme étant du premier ordre, selon la relation suivante :

$$v = k[cycle\ époxy] = -\frac{[cycle\ époxy]}{dt} \qquad \textbf{3.7}$$

avec v la vitesse de réaction et [cycle époxy] la « concentration » de cycles époxy au cours de la réaction. Expérimentalement, la constante cinétique k est obtenue par la relation :

$$ln\left(\frac{[cycle\ époxy]_t}{[cycle\ époxy]_0}\right) = -kt \qquad \textbf{3.8}$$

avec $[cycle\ époxy]_t$ et $[cycle\ époxy]_0$ la « concentration » de cycles époxy à un temps t et au temps t = 0 de la réaction (pratiquement, les rapports des concentrations sont évalués par la mesure de l'intensité de la bande IR à 905 cm^{-1}, avant et après greffage normalisée par l'intensité de la bande IR à 1720 cm^{-1}).

Les constantes cinétiques obtenues (valeurs regroupées dans l'annexe 1), ont ensuite permis de déterminer les énergies d'activation, pour l'addition de la DEA et de la TEA. Les courbes d'Arrhenius sont représentées sur la figure 3-9, et les énergies d'activation ont été calculées à partir de la relation suivante :

$$k = Ae^{\left(\frac{-E_a}{RT}\right)} \qquad \textbf{3.9}$$

$$\frac{d(lnk)}{d(\frac{1}{T})} = \frac{-E_a}{R} \qquad \textbf{3.10}$$

avec A le coefficient dit « pré-exponentiel », E_a l'énergie d'activation, R la constante des gaz parfaits et T la température de réaction.

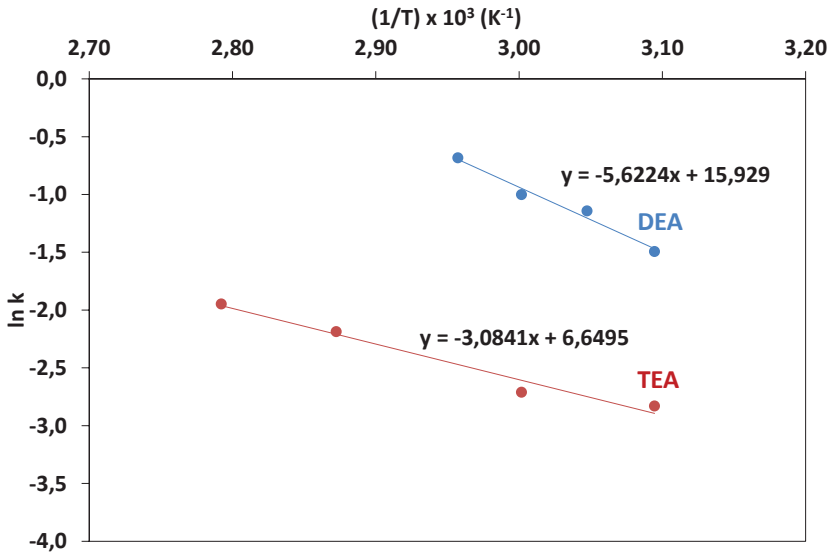


Figure 3-9 : Représentations d'Arrhenius obtenues pour le greffage de la DEA (●) et la TEA (●) sur le monolithe poly(GMA-co-EDMA).

Les valeurs obtenues sont 47 ± 5 kJ.mol^{-1} et 26 ± 7 kJ.mol^{-1} respectivement pour l'addition de la DEA et de la TEA. L'énergie d'activation de la réaction de greffage de la TEA est inférieure à celle obtenue pour la DEA, alors que les taux de conversion correspondants sont de 68 ± 5 % et 96 ± 3 %.

Comparé au greffage de la DEA, il apparaît assez contradictoire d'obtenir une énergie d'activation plus faible pour le greffage de la TEA alors que le taux de conversion final est moins élevé. Ce résultat peut être expliqué par l'état de transition du mécanisme réactionnel. Il est en effet reconnu que la création d'une liaison hydrogène (entre l'oxygène porté par le cycle époxy et le milieu réactionnel), lors de la formation de l'état de transition (figure 3-10), catalyse la réaction [247]. Dans le cas du greffage de la DEA, deux molécules d'amine interviennent : l'une formant la liaison hydrogène, et la seconde intervenant dans la réaction de greffage. La rupture des liaisons hydrogène entre molécules de DEA en solution est alors un prérequis à la formation de cet état de transition. Ce n'est pas le cas avec la TEA, dont l'azote ne porte pas d'hydrogène (amine ternaire). Ceci est alors supposé diminuer l'énergie d'activation de la réaction de greffage de la TEA. D'une façon opposée, l'absence de formation d'une liaison hydrogène entre le cycle époxy porté par le monolithe et la molécule de TEA empêche la catalyse de la réaction et conduit ainsi à un taux final de conversion plus faible. Ces conclusions sont cohérentes avec celles d'Isaacs et al. [247] dans son étude portant sur l'évolution de l'énergie d'activation de l'addition de la DEA sur l'oxyde de propylène en milieu liquide.

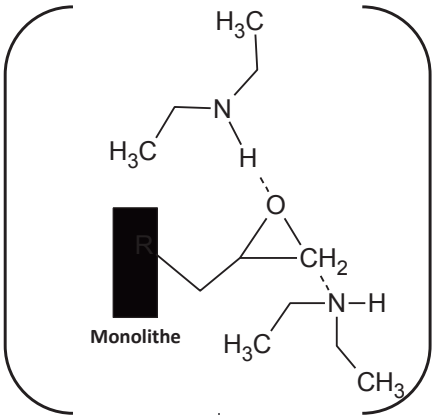


Figure 3-10 : Etat de transition lors de l'addition nucléophile de la DEA sur un cycle époxy porté par le monolithe.

Les différences de réactivité observées pour le greffage de la DEA et de la TEA peuvent donc être expliquées par la formation ou non de l'état de transition de la figure 3-10. Il en résulte une conversion quasi totale des cycles époxy par la DEA, et seulement une conversion partielle par la TEA. Or, l'obtention d'un monolithe échangeur d'anions fort, avec une capacité d'échange maximale, passe nécessairement par une conversion totale des époxy et donc, dans notre cas, par l'amélioration du taux de conversion des cycles époxy par la TEA.

3.4.2 Réactivité « époxy – amine » : optimisation du greffage de la TEA

Un taux de conversion maximal de 68 ± 5 % pour la TEA n'est donc pas satisfaisant. La solution envisagée, concerne l'utilisation, lors de la réaction, d'un solvant protique comme évoqué par Isaacs et al. [247] puis utilisés par la suite dans de nombreux travaux [248-250].. En effet, l'ajout d'un tel solvant permet la formation de l'état de transition décrit précédemment et donc de catalyser la réaction de greffage. Il est ainsi possible d'utiliser plusieurs solvants, en mélange ou non, présentant un caractère protique plus ou moins marqué [249].

Dans une première approche, nous avons donc voulu vérifier l'influence du solvant utilisé sur le taux de conversion obtenu pour le greffage de la TEA avec trois milieux :

- Diméthylsulfoxide (DMSO) / Ethanol (50:50 v/v) : caractère protique « faible »
- Ethanol : « moyen »
- Ethanol / eau (50:50 v/v): « fort »

Les réactions de greffage ont été conduites à 85 °C, seulement pendant 4 heures. Les résultats, présentés sur la figure 3-11, confirment l'influence du caractère protique du milieu réactionnel sur le taux de conversion des cycles époxy par la TEA. Comparé à celui d'une réaction conduite avec l'amine pure, le taux de conversion augmente suivant le caractère

protique du solvant utilisé (ou du mélange de solvant). Ainsi, le mélange eau/éthanol 50:50 v/v permet d'obtenir la conversion de plus de 90 % des cycles époxy du monolithe.

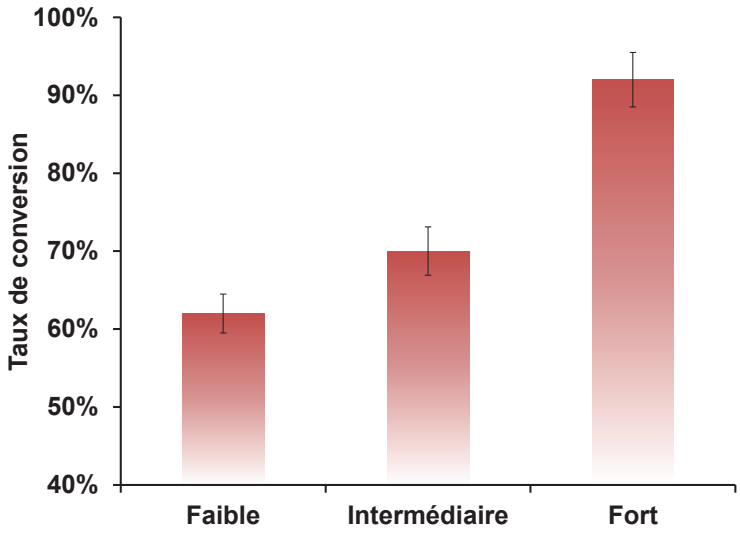


Figure 3-11 : Influence du caractère protique du solvant utilisé sur le taux de conversion des cycles époxy du monolithe par la TEA : faible EtOH/DMSO (50:50 v/v), intermédiaire (EtOH) et fort (EtOH/Eau 50:50 v/v). Réaction conduite pendant 4 h à 85 °C.

Afin de confirmer l'impact de la nature du solvant et d'affiner sa composition, mais aussi d'évaluer l'influence des autres paramètres sur le taux de conversion des cycles époxy lors de la réaction de greffage avec la TEA, un plan d'expériences a été construit pour 5 facteurs à deux niveaux : la composition du solvant, la proportion d'éthanol (contrôle du caractère protique du mélange de solvant), le temps de réaction, la température de réaction et la concentration de TEA. La matrice expérimentale a été construite selon l'algorithme de Plackett-Burman. La réponse étudiée est le taux de conversion des cycles époxy par la TEA, obtenu expérimentalement par la mesure du rapport des intensités de la bande d'absorption à 905 cm^{-1} aux temps t_0 et t. Le criblage des facteurs est réalisé à l'aide d'un modèle simple correspondant à un polynôme de degré 1. La variance expérimentale, obtenue par 5 répétitions d'une des expériences situées au centre de la matrice expérimentale, a permis de discriminer les paramètres dont l'influence est significativement différente du bruit expérimental (5 % de tolérance). L'influence des paramètres réactionnels étudiés sur le taux de conversion est présentée dans la figure 3-12 sous la forme d'un diagramme de Pareto. Nous avons pu vérifier que la réaction d'addition nucléophile de la TEA sur le cycle époxy du monolithe est effectivement d'ordre 1 dans la gamme de concentration étudiée (dans les deux cas, la TEA reste en large excès). La composition du solvant et la température de réaction sont les deux paramètres les plus influents, permettant d'expliquer à 90 % la réponse mesurée.

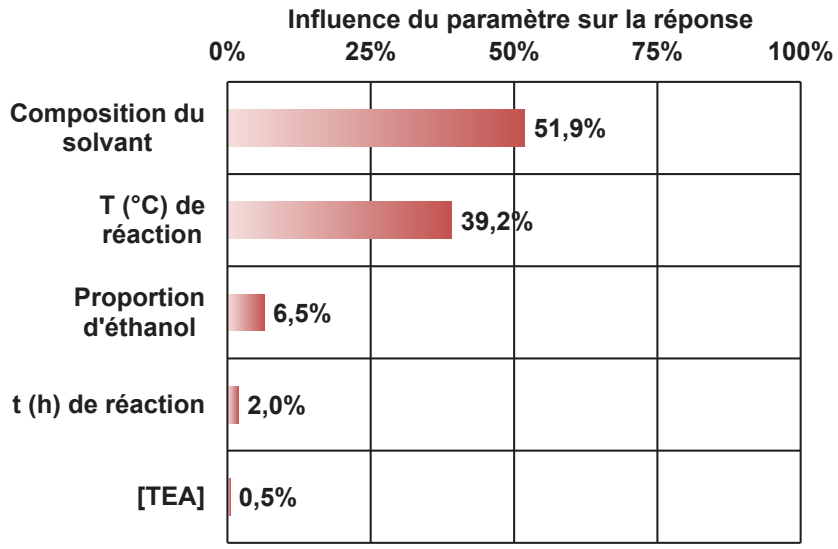


Figure 3-12 : Diagramme de Pareto représentant l'influence relative de chacun des paramètres réactionnels criblés pour le greffage de la TEA sur le monolithe poly(GMA-co-EDMA).

Les résultats de l'analyse statistique permettent de dégager les conditions réactionnelles optimales pour le greffage de la TEA sur le monolithe : solvant éthanol/eau 50:50 v/v et une température de 85 °C. Il n'a pas été possible d'augmenter la proportion d'eau dans le milieu réactionnel en raison de la solubilité limitée de la TEA. Dans ces conditions, la réaction de greffage de la TEA sur le monolithe a conduit à l'obtention d'un rendement de 92 ± 4 %. Par ailleurs, dans ces conditions, la variation du rendement de greffage entre 4 h et 8 h n'est pas significative. Par conséquent le temps de réaction nécessaire au greffage pourra être réduit de moitié en passant de 8 à 4 h seulement. Ceci sera déterminant pour la fonctionnalisation du monolithe à l'intérieur du microsystème séparatif en COC (la T_g du COC utilisé est de 130 °C).

3.4.3 Conclusions

L'élucidation du mécanisme réactionnel de greffage de la TEA sur les cycles époxy du monolithe a permis d'identifier les paramètres expérimentaux permettant de maximiser le taux de conversion. Outre l'utilisation d'une température de 85 °C, l'utilisation d'un solvant protique conduit à la formation d'un état de transition catalyseur de la réaction et à l'obtention d'un taux de conversion maximal.

La comparaison des cinétiques de greffage de la TEA sur le monolithe poly(GMA-co-EDMA) avant et après optimisation montre l'impact de l'utilisation du solvant éthanol/eau (1:1 v/v) (figure 3-13). Il est maintenant possible d'atteindre en seulement 4 heures et avec l'amine solubilisée dans un solvant hydro-alcoolique, un rendement de greffage de la TEA deux fois supérieur à celui obtenu avec l'amine pure.

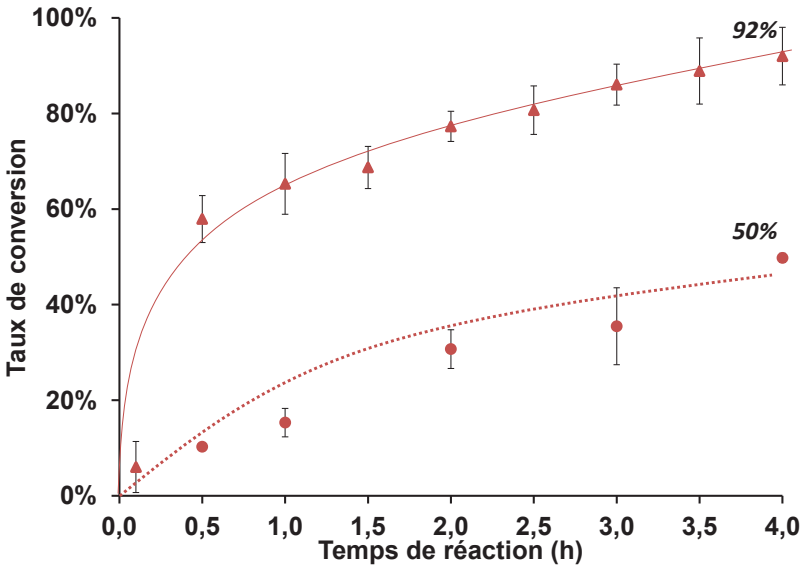


Figure 3-13 : Cinétiques de greffage de la TEA sur le monolithe poly(GMA-co-EDMA) en utilisant la TEA pure (●) ou la TEA diluée (1:10 v/v) dans un milieu EtOH/Eau (1:1 v/v) (▲) (les deux courbes représentent l'allure générale des cinétiques).

Ce rendement de greffage doit permettre d'obtenir une capacité d'échange maximale. Ainsi, l'analyse de l'azote élémentaire du poly(GMA-co-EDMA), fonctionnalisé au format « macro » dans les conditions optimales, a permis d'évaluer la quantité totale d'amine introduite : 2,3 mmol.g^{-1}. Ceci est en accord avec de précédents résultats [251], mais doit être différencié de la capacité d'échange d'anions (CE_a) du monolithe. En effet, la CE_a représente la quantité de sites d'échange accessible en surface, lors d'une séparation chromatographique en mode échange d'ions, et non pas la quantité totale de charges positives introduites. Ainsi, la CE_a obtenue sur monolithe au format macro (mesurée par adsorption/élution d'ions chlorures), n'est que de 300 ± 5 µmol.g^{-1}. Cette valeur, 7,7 fois plus faible que la quantité totale d'azote élémentaire, peut, selon nous, montrer que le greffage de la TEA s'opère à la fois en surface du monolithe et à l'intérieur de la structure (ces sites fonctionnels ne sont alors pas accessibles lors de la mesure de CE_a).

3.5 Synthèse et fonctionnalisation du monolithe en colonnes capillaires. Application à la chromatographie d'échange d'anions

3.5.1 Capacité d'échange anionique (CE_a) obtenue en colonne capillaire

La fonctionnalisation des monolithes poly(GMA-co-EDMA) synthétisés en capillaires de silice fondue a nécessité un ajustement des conditions de greffage de la TEA. En effet, lors des réactions conduites sur monolithes au format « macro », le réactif aminé (TEA solubilisée dans le mélange Ethanol-eau) était introduit en large excès : 1 mL pour environ 100 mg de monolithe. Afin de rester dans les mêmes proportions lors du greffage en capillaire, il a été

nécessaire d'introduire en continu le réactif aminé à l'intérieur de la colonne capillaire, à l'aide d'une pompe chromatographique à un débit de 1 $\mu L.min^{-1}$. Dans ces conditions, le greffage de la TEA, sur les monolithes synthétisés en colonne capillaire, permet d'obtenir une capacité d'échange anionique (CE_a) identique à celle obtenue au format macro : 300 ± 5 $\mu mol.g^{-1}$. Il est aussi possible d'exprimer la valeur de CE_a en fonction du volume de colonne de la façon suivante :

$$CE_a(nmol.\mu L^{-1}) = CE_a(\mu mol.g^{-1}) \times \rho_{app} \times 1000 \qquad \textbf{3.11}$$

avec ρ_{app} la masse volumique apparente du monolithe, c'est-à-dire la masse de monolithe contenue dans 1 volume donné (estimée à 0,32 $mg.\mu L^{-1}$ par la mesure de la masse d'un monolithe synthétisé à l'intérieur d'un volume calibré de 0,5 mL). La valeur de CE_a obtenue, égale à 100 $nmol.\mu L^{-1}$, est supérieure d'un facteur 2 aux valeurs décrites pour un monolithe poly(GMA-co-EDMA) fonctionnalisé par greffage radicalaire [177] ou par adsorption de particules de latex [144]. Ceci prouve que, malgré la faible surface spécifique développée par le monolithe, l'optimisation des conditions de fonctionnalisation a conduit à une capacité d'échange élevée.

3.5.2 Performances des colonnes capillaires monolithiques fonctionnalisées en nano-chromatographie d'échange d'anions

Si les performances chromatographiques des monolithes polyméthacrylates sont reconnues pour la séparation de biomolécules (transfert de masse efficace [252]), ce n'est généralement pas le cas pour la séparation de petites molécules organiques, notamment en raison de la présence d'une zone de gel de porosité non-contrôlée en surface (comme décrit au paragraphe 3.1.3). La présence de cette zone engendre ainsi l'augmentation de la largeur des bandes de solutés au cours de la séparation et donc la diminution de l'efficacité de la colonne [253]. Ceci est d'autant plus significatif pour les solutés fortement retenus par la colonne. Néanmoins, un tel phénomène n'a, à notre connaissance, pas encore été étudié pour la séparation, par chromatographie d'échange d'ions, d'anions inorganiques. Aussi nous avons vérifié l'influence de la rétention de ces anions sur l'efficacité mesurée lors de leur séparation.

Cette étude a été menée pour trois anions modèles présentant des rétentions croissantes : bromates (faible), nitrites (intermédiaire) et nitrates (élevée). Ainsi, l'évolution des efficacités mesurées pour ces trois anions a été suivie en fonction de la vitesse linéaire de phase mobile (courbes de van Deemter) pour des phases mobiles perchlorate de sodium de différentes forces ioniques (10, 8 et 5 mM). Les facteurs de rétention obtenus varient ainsi de 1,1 à 8,1. La figure (3-14, 1) représente l'allure des courbes de van Deemter obtenues pour chacun des trois anions dans une même phase mobile perchlorate de sodium 10 mM. Les

courbes de van Deemter obtenues pour les trois anions, de rétentions croissantes, sont équivalentes dans une phase mobile perchlorate de sodium 10 mM. Comme le montre la figure (3-14, 2), la même tendance a été constatée en augmentant les rétentions par l'intermédiaire d'une phase mobile moins éluante (perchlorate de sodium 8 et 5 mM). Ainsi l'efficacité du monolithe poly(GMA-co-EDMA) ne dépend pas de la rétention des anions (à l'inverse de ce qu'il peut être observé en chromatographie de phase inverse pour des monolithes poly(BuMA-co-EDMA)). Ceci peut être attribué à une zone de gel moins prononcée, obtenue grâce au processus de photopolymérisation détaillé au paragraphe 3.1.3.

Il est intéressant de noter que les efficacités maximales obtenues, d'une valeur de 75 000 plateaux par mètre de colonne (H_{min} = 10 µm, pour une vitesse linéaire de 0,5 mm.s^{-1}), sont 2 à 3 fois supérieures aux valeurs décrites dans la littérature [144, 177, 179]. Par ailleurs, la vitesse optimale ainsi que l'allure générale des courbes de van Deemter obtenues sont caractéristiques des monolithes polyméthacrylates [177].

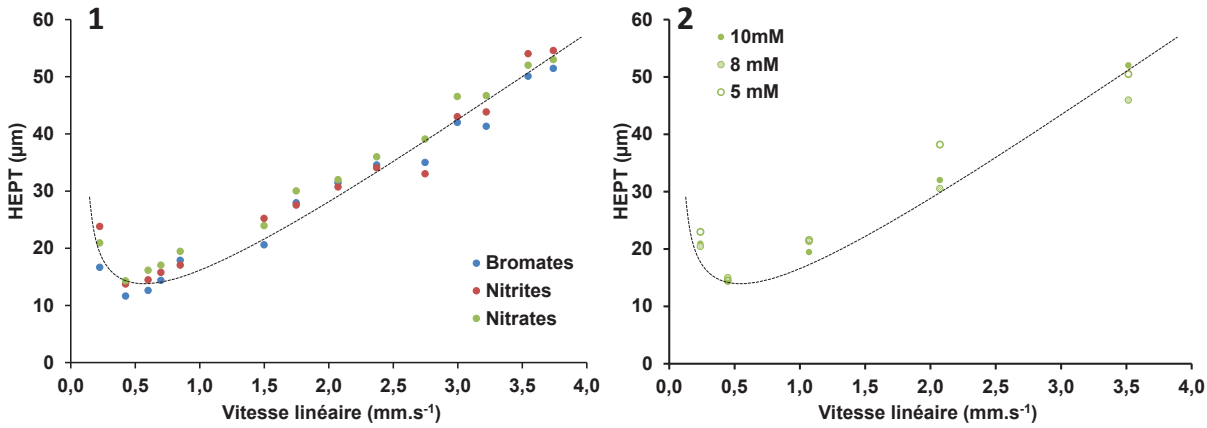


Figure 3-14 : Evolution de l'efficacité (Hauteur Equivalente à un Plateau Théorique, HETP) en fonction de la vitesse linéaire de phase mobile pour (1) les anions bromates, nitrites et nitrates dans une phase mobile $NaClO_4$ 10 mM et (2) pour l'anion nitrates dans des phases mobiles $NaClO_4$ 10 mM, $NaClO_4$ 8 mM et $NaClO_4$ 5 mM sur le monolithe fonctionnalisé (allures générales tracées en pointillés). Colonne capillaire : 100 µm x 7,5 cm. Injection : 10 nL (échantillon préparé dans l'eau ultra pure). Détection UV à 210 nm.

De telles performances permettent d'envisager l'utilisation de la colonne capillaire monolithique développée en nano-chromatographie dite « rapide », comme le montre la figure 3-15. Ainsi, l'augmentation du débit de phase mobile de 100 nL.min^{-1} jusqu'à 1700 nL.min^{-1} a permis la séparation des trois anions modèles (bromates, nitrites et nitrates) en 48 s contre quasiment 15 minutes, tout en maintenant une résolution à la ligne de base.

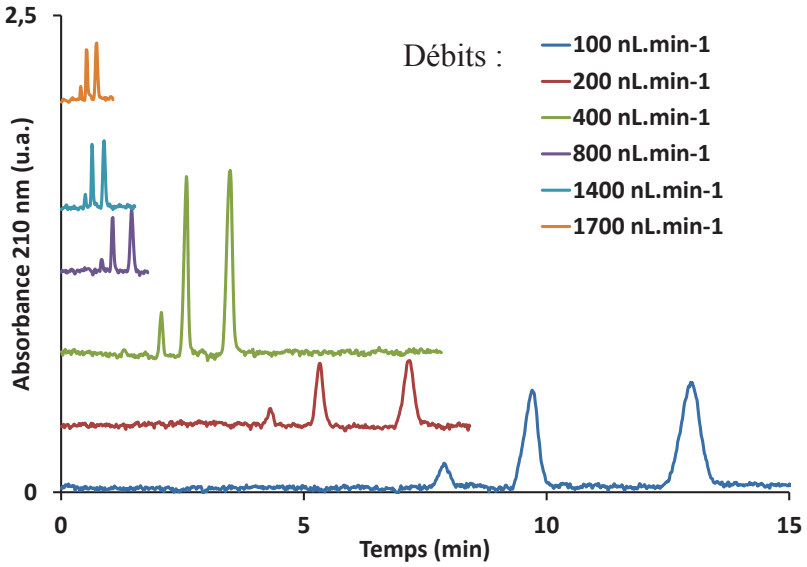


Figure 3-15 : Chromatogrammes obtenus pour la séparation des bromates (1), nitrites (2) et nitrates (3) en fonction du débit de phase mobile dans une colonne capillaire poly(GMA-co-EDMA) fonctionnalisée par la TEA. Colonne capillaire : 100 µm x 7,5 cm. Injection : 10 nL. Phase mobile : perchlorate de sodium 10 mM. Détection UV à 210 nm.

La reproductibilité du processus global de fabrication du monolithe (photopolymérisation et greffage par la TEA) est un critère du cahier des charges (voir paragraphe 3.1.1.). Elle a donc été évaluée pour 3 lots de colonnes capillaires monolithiques contenant chacun 3 colonnes (un lot se caractérise par l'utilisation du même mélange réactionnel et d'un même capillaire de silice « coupé » en trois colonnes). Les coefficients de variation obtenus pour la capacité d'échange du monolithe, ainsi que pour la rétention des anions en phase mobile perchlorate de sodium 10 mM sont tous inférieurs à 6% et montrent ainsi la robustesse du protocole.

Les perméabilités mesurées dans une phase mobile aqueuse, suivant l'équation 3.3, sont, pour ces colonnes, de $2{,}0.10^{-14} \pm 0{,}2.10^{-14}$ m². Il est important de noter la différence entre les perméabilités du monolithe en milieu ACN avant fonctionnalisation et en milieu aqueux après la fonctionnalisation avec un rapport de 2,5. Une hypothèse permettant d'expliquer ce phénomène est le gonflement du monolithe en milieu aqueux suite à sa fonctionnalisation.

3.6 Résistance chimique du monolithe poly(GMA-co-EDMA) fonctionnalisé

Comme évoqué au paragraphe 2.3.2., les monolithes organiques présentent une résistance chimique élevée aux milieux acides concentrés. Néanmoins, la vérification de la résistance chimique du monolithe poly(GMA-co-EDMA) fonctionnalisé, aux milieux HNO_3 et HCl, constitue un prérequis à son utilisation pour la séparation U/Pu/PF.

Dans un premier temps, nous avons cherché à valider la résistance chimique du monolithe non-fonctionnalisé par observation des clichés MEB après exposition des monolithes, au format « macro », aux milieux HNO_3 8 M et HCl 9,5 M (concentrations maximales utilisées pour les séparations U/Pu/PF), pendant 1 h (ce temps correspond à la durée maximale envisagée pour la séparation U/Pu/PF). Aucune variation « macroscopique » du polymère n'a été observée (la dimension des globules reste par exemple inchangée). Ces observations MEB ont été par la suite confirmées par spectroscopie infra-rouge en mesurant l'intensité de la bande acrylate à 1720 cm^{-1} avant et après exposition (information qualitative là-aussi). Aucune modification du support monolithique n'a été observée, il ne semble donc pas dégradé par une exposition aux milieux acides concentrés.

Dans un deuxième temps, la résistance chimique du monolithe fonctionnalisé a été évaluée par la mesure de la rétention du complexe anionique de Plutonium (IV) formé i) en milieu nitrique, puis ii) en milieu chlorhydrique. Il n'a été observé aucune rétention du complexe anionique $Pu(NO_3)_6^{2-}$ en HNO_3 8 M (concentration optimale utilisée pour la séparation U/Pu/PF, lors du dépôt de l'échantillon), même après 4 h : nous supposons que la fonctionnalisation est dégradée. Une étude bibliographique a en effet montré qu'une nitration de la fonction hydroxy du monolithe (présente dans notre cas en β de l'ammonium quaternaire) est inévitable, à forte concentration d'acide nitrique [254]. Ceci a été confirmé par spectroscopie infra-rouge. En effet, les spectres du monolithe fonctionnalisé avant et après exposition au milieu nitrique 8 M (figure 3-16) montrent l'apparition de bandes d'absorption à 1630 cm^{-1} et 1280 cm^{-1} caractéristiques de la vibration O – NO_2 pouvant résulter d'une nitration du monolithe. Cette réaction, qui conduit à la dégradation spécifique de la fonctionnalisation du monolithe et donc à la perte de ses propriétés rétentives (pour le complexe $Pu(NO_3)_6^{2-}$), ne permet pas d'envisager l'utilisation du monolithe pour une séparation U/Pu/PF en milieu nitrique.

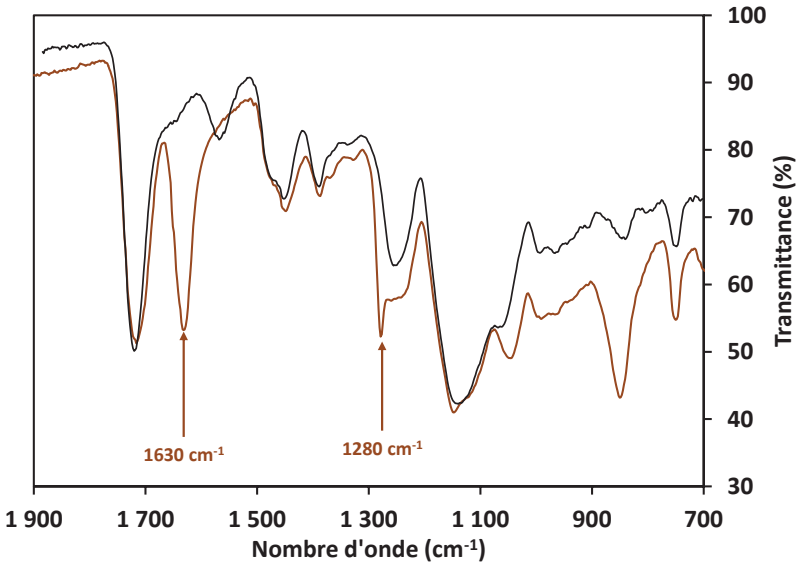


Figure 3-16 : Spectres infra-rouge du monolithe poly(GMA-co-EDMA) fonctionnalisé par la TEA avant (-) et après (-) traitement acide en milieu HNO_3 68 %.

En revanche, la résistance chimique de la fonctionnalisation du monolithe a été vérifiée en milieu HCl 9,5 M par l'étude de la cinétique d'adsorption du chloro-complexe anionique de Plutonium (IV) ($PuCl_6^{2-}$) (figure 3-17). Une fois l'équilibre atteint, la quantité de Pu (IV) adsorbée reste stable sur une durée de 150 heures. De plus, aucune variation significative du spectre infra-rouge ou de la capacité d'échange du monolithe avant et après exposition en milieu HCl n'a été constatée. Cela confirme l'absence de dégradation microscopique du monolithe.

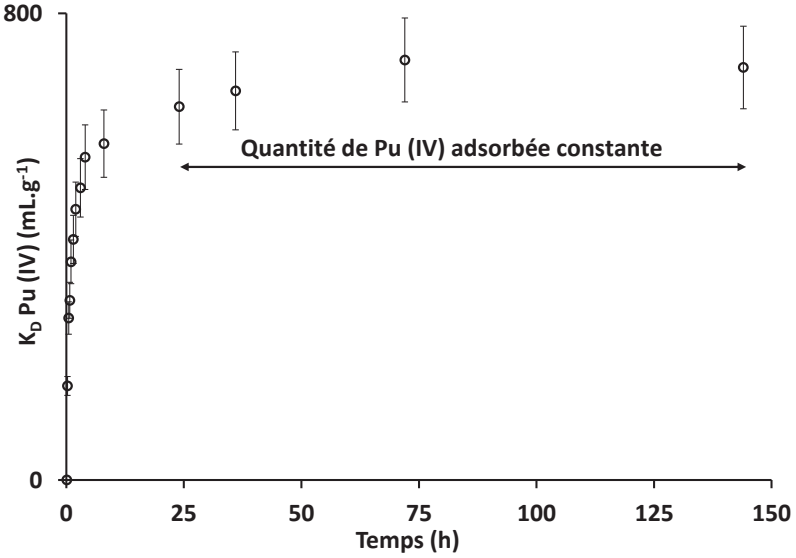


Figure 3-17 : Cinétique d'adsorption du Plutonium (IV) en milieu HCl 9,5 M et stabilité de la quantité sur le monolithe poly(GMA-co-EDMA) fonctionnalisé par la TEA.

Finalement, cette étude montre que la séparation U/Pu/PF sur le monolithe poly(GMA-co-EDMA) fonctionnalisé ammonium quaternaire ne pourra être réalisée qu'en milieu acide chlorhydrique.

3.7 Conclusions

L'optimisation d'un monolithe organique, et plus spécifiquement d'un polyméthacrylate, pour la chromatographie d'échange d'anions passe d'abord par l'optimisation de la structure polymérique avant celle de sa fonctionnalisation afin d'obtenir un monolithe présentant :

- d'excellentes propriétés d'écoulement (perte de charge limitée),
- d'excellentes efficacités de séparation,
- une capacité d'échange maximale.

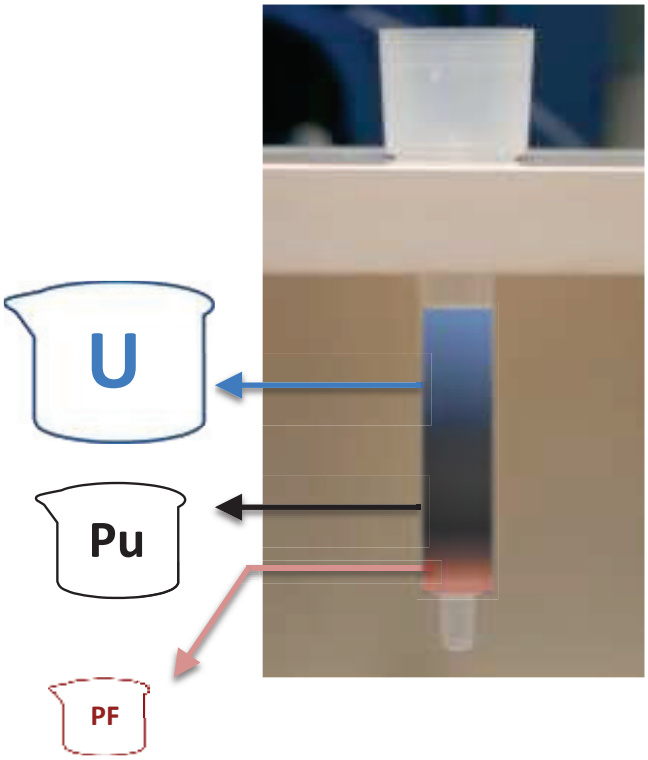
Vis-à-vis de l'application spécifique envisagée dans cette thèse, le monolithe doit aussi présenter une résistance chimique accrue aux acides nitrique et/ou chlorhydrique concentrés.

Ainsi, le monolithe poly(GMA-co-EDMA) obtenu par photopolymérisation et fonctionnalisé par le greffage de la TEA, allie une surface spécifique d'environ 10 $m^2.g^{-1}$ (typique des monolithes polyméthacrylates), une efficacité maximale élevée (H_{min} = 10 µm) et une capacité d'échange supérieure à celles précédemment décrites pour de tels monolithes (100 $nmol.\mu L^{-1}$). De telles propriétés ont permis l'utilisation de ce monolithe en nano-chromatographie rapide d'échange d'anions pour la séparation d'ions inorganiques simples. Dans le cadre de la séparation U/Pu/PF, l'efficacité et la capacité d'échange d'ions devraient respectivement permettre l'obtention de pics fins (augmentation de la résolution de séparation, et donc de la pureté des pics, en évitant les co-élutions) ainsi que l'injection d'échantillons fortement concentrés tels que ceux issus de combustibles nucléaires usés (de l'ordre du $g.L^{-1}$).

Néanmoins, la fonctionnalisation du monolithe poly(GMA-co-EDMA) n'étant pas stable en milieu acide nitrique, le protocole de séparation U/Pu/PF devra reposer sur la chimie séparative en milieu chlorhydrique. Même si l'utilisation de cet acide impose des contraintes pratiques (corrosion), la chimie de séparation en milieu chlorhydrique devrait permettre d'atteindre des puretés plus élevées.

Chapitre

4 Application des colonnes capillaires monolithiques à la séparation U/Pu/PF en milieu chlorhydrique



Séparation U/Pu/PF conduite sur colonne remplie de particules AGX

4.1 Objectifs

Bien que l'objectif final consiste à réaliser la séparation en microsystème, le développement du protocole de séparation U/Pu/PF sera réalisé dans un premier temps en colonnes capillaires pour des raisons pratiques. En effet, ceci permet de :

- faciliter la mise en œuvre (voir système expérimental décrit ci-dessous),
- multiplier les essais de séparation (la fabrication d'une nouvelle colonne est nécessaire après chaque séparation en raison de l'utilisation d'acide iodhydrique pour l'élution du Plutonium [37]),
- se situer à la même échelle que sur microsystème (diamètre interne des colonnes capillaires de 100 µm).

De cette façon, l'impact de l'utilisation du monolithe poly(GMA-co-EDMA) ainsi que du transfert d'échelle sera évalué afin de conduire au développement d'une nouvelle stratégie de séparation adaptée, et compatible avec les contraintes imposées par les analyses isotopiques par spectrométrie de masse (pureté des fractions, quantités minimales à collecter pour analyse, etc …). L'optimisation d'un nouveau protocole de séparation (inversion de l'ordre d'élution de l'Uranium et du Plutonium) sera réalisée suite au développement d'un outil de simulation du profil d'élution de l'Uranium permettant d'éviter notamment sa co-élution avec les PF.

4.2 Matériels et méthodes

4.2.1 Réactifs chimiques

Les acides utilisés pour la préparation des échantillons ainsi que pour les dilutions en vue des analyses par spectrométrie de masse sont l'acide chlorhydrique Suprapur (30 et 37 % Merck), l'acide nitrique Suprapur (65 %, Merck), l'acide iodhydrique (57 %, HI, Sigma Aldrich), l'acide perchlorique (70 % Sigma Aldrich) et l'acide fluorhydrique (48 %, Sigma aldrich). Les solutions standard d'Uranium et d'Europium (en acide nitrique 2 %) utilisées aussi bien pour la préparation des échantillons que pour la préparation des gammes d'étalonnage en spectrométrie de masse ont été obtenues chez Spex Certiprep. Les concentrations sont respectivement de 10 000 et 1000 $mg.L^{-1}$. Le Plutonium est issu d'une source mono-isotopique de ^{239}Pu d'activité 36 948 $Bq.g^{-1}$ ($6{,}73.10^{-5}$ $mol.L^{-1}$) certifiée et commercialisée par CERCA en milieu acide nitrique 2 %.

4.2.2 Préparation des échantillons

La préparation de l'échantillon avant les séparations U/Pu/PF est réalisée quotidiennement, de la façon suivante. L'Uranium et l'Europium issus des solutions SPEX

sont dilués directement en milieu HCl 9,5 M de façon à obtenir des concentrations comprises entre 20 et 1100 $mg.L^{-1}$. Par ailleurs, un aliquot de la solution de Plutonium 239 est porté à sec. Il est ensuite repris par successivement 500 µL d'acide perchlorique 1 M et 100 µL d'acide fluoridrique 1 M. Après un temps d'agitation d'environ 5 min, l'échantillon est porté une seconde fois à sec avant d'être repris par la solution d'HCl 9,5 M contenant l'Europium et/ou l'Uranium. Préparé de cette façon, l'échantillon est constitué d'Eu (III), d'U (VI) et d'un mélange Pu(IV) – Pu(VI). Néanmoins, nous considérerons dans la suite de l'étude qu'en milieu HCl 9,5, le degré d'oxydation prépondérant du Plutonium en solution d'acide chlorhydrique est la forme (IV) car la forme (VI) n'est stable qu'en présence d'agent oxydant. Par ailleurs, au-delà d'une journée, la solution est jetée car la formation d'une quantité significative de Pu(III) est fortement suspectée.

4.2.3 Mesure des coefficients de distribution (K_D) des éléments d'intérêt sur le monolithe et sur les résines AGX

Les mesures des coefficients de distribution (K_D) ont été réalisées pour une masse de phase stationnaire de 50 mg (monolithe et résines), et un volume de phase liquide de 10 mL contenant des concentrations fixées d'Europium, d'Uranium ou de Plutonium de façon à introduire une quantité totale (n_{totale}) inférieure à 10 fois la capacité d'échange (CE_a) de la phase stationnaire (pas de saturation) :

$$n_{totale} = \frac{CE_a\ (\mu mol.g^{-1})\ .\ 0{,}05\ (g)}{10} \qquad \textbf{4-1}$$

Les échantillons sont placés sous agitation pendant au minimum 12 h à 25 °C dans un Thermomixer® (Eppendorf) afin d'atteindre l'équilibre. Après centrifugation, un aliquot de la solution surnageante est prélevé pour quantifier l'Europium et l'Uranium par ICP-MS (voir annexe 2), et le Plutonium 239 en scintillation liquide ou en spectrométrie alpha (voir annexe 3).

Le K_D est ensuite calculé suivant la relation suivante :

$$K_D(x) = \left(\frac{c_{0,x} - c_{eq,x}}{c_{eq,x}}\right).\frac{V}{m} \quad (\ en\ mL.g^{-1}) \qquad \textbf{4.2}$$

avec $c_{0,x}$ la concentration initiale de l'élément x en solution, $c_{eq,\ x}$ la concentration de l'élément x en solution à l'équilibre, V le volume de solution utilisé pour la mesure et m la masse de monolithe ou de résine AGX utilisée pour la mesure.

4.2.4 Mise en œuvre de la séparation U/Pu/PF en colonnes capillaires monolithiques

Les colonnes capillaires monolithiques utilisées pour les séparations U/Pu/PF ont été fabriquées suivant le protocole établi au paragraphe 3.2.4. (diamètre interne de colonne de 100 µm). La circulation des phases mobiles au travers des colonnes est réalisée à l'aide du dispositif expérimental présenté figure 4-1 : l'application d'une pression d'azote à l'intérieur du dispositif (figure 4-1, photographie de gauche) permet l'écoulement de la phase mobile, contenue dans un vial dans lequel plonge la colonne capillaire (figure 4-1, photographie de droite). Le débit induit dépend de la pression appliquée, de la perméabilité du monolithe, de la longueur de la colonne et de la viscosité de la phase mobile. Ainsi, avec une phase mobile HCl 9,5 M, les débits atteints pour des colonnes capillaires de 6,5 cm sont de l'ordre de 60 $nL.min^{-1}$ pour une pression appliquée de 12 bars.

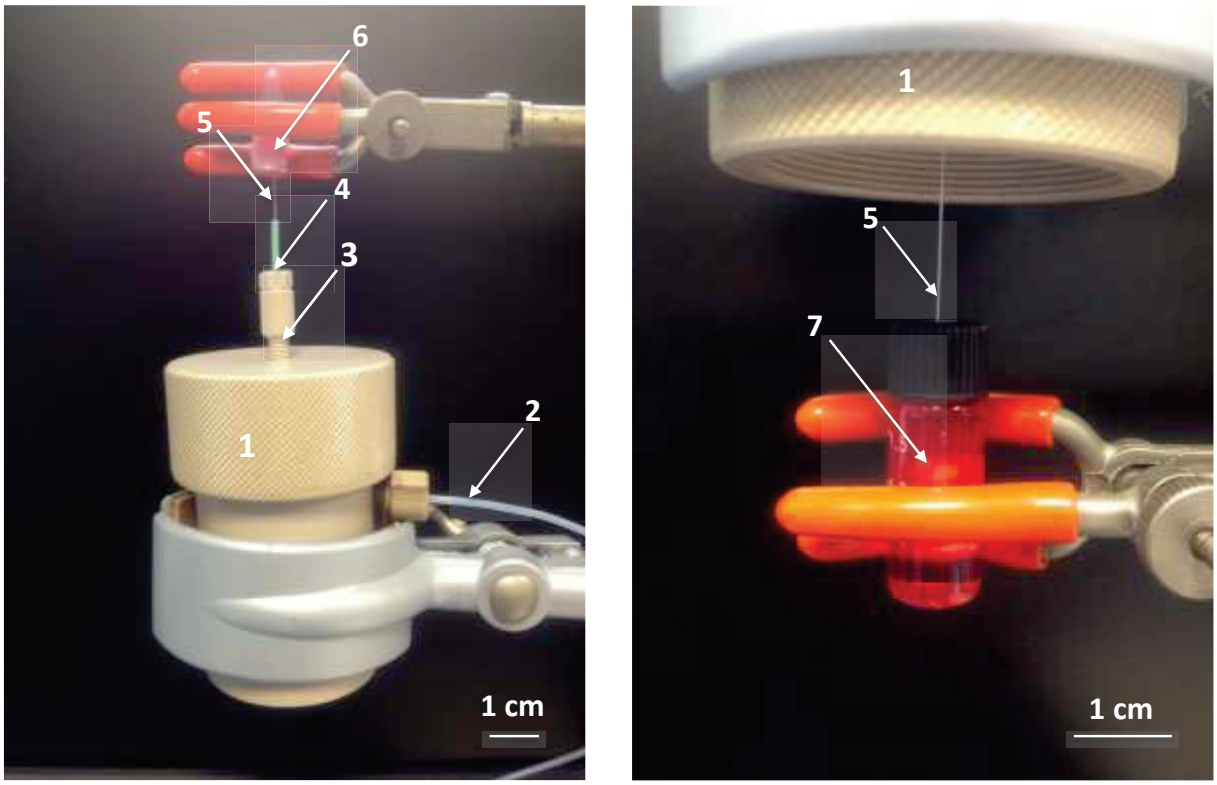


Figure 4-1 : Dispositif expérimental permettant l'écoulement des phases mobiles au travers de la colonne capillaire monolithique : 1. enceinte sous pression (usiné dans du PolyEtherEtherKetone (PEEK) par la société SOMECAP), 2. arrivée d'azote (1 à 12 bars), 3. connexion chromatographique, 4. manchon en PEEK assurant l'étanchéité du système, 5. colonne capillaire monolithique, 6. vial de collection des fractions d'élution et 7. vial de phase mobile (la photographie de gauche représente le dispositif sans l'enceinte n°1).

Un nouveau vial est utilisé pour chaque phase mobile différente (échantillon, phases mobiles d'élution). L'éluat est collecté directement en sortie de colonne dans un micro-tube Eppendorf ® de 200 µL pré-rempli avec une solution d'HNO_3 2 % et fermé hermétiquement

par du Parafilm ® (afin d'éviter une évaporation), dans lequel plonge la colonne capillaire (figure 4-1, photographie de gauche).

Chaque tube est taré avant collecte, puis pesé sur une balance de précision (précise à 10^{-5} g, XP26, Metler Toledo) afin de connaître le volume collecté. Des aliquots sont ensuite prélevés et dilués avant analyse.

4.2.5 Quantification de l'Europium et de l'Uranium

La quantification de l'Europium et de l'Uranium a été réalisée par ICP-MS sur les appareils Elan DRC e (Perkin Elmer) et 7700 x (Agilent Technologies). Chaque échantillon est dilué dans une solution d'HNO_3 2 % avant analyse de sorte à ce que la concentration n'excède pas 10 $\mu g.L^{-1}$. La détection de l'Uranium et de l'Europium a été faite respectivement aux masses 238 et 151. Le principe de mesure ainsi que les paramètres instrumentaux sont détaillés en annexe 2.

4.2.6 Quantification du Plutonium

La quantification du Plutonium 239 a été réalisée en scintillation liquide ou en spectrométrie alpha.

4.2.6.1 Scintillation liquide

Les échantillons préparés pour la scintillation liquide contiennent l'échantillon de ^{239}Pu, de l'eau ultra-pure et un liquide scintillant (Ultima Gold LLT, Perkin Elmer) dans les proportions volumiques suivantes : respectivement < 1 %, 25 % et 75 %. Le volume d'échantillon ajouté est déterminé de façon à contenir une activité totale comprise entre 0,1 Bq ($1{,}8.10^{-13}$ mol) (limite de quantification de l'appareil) et 10 Bq ($1{,}8.10^{-11}$ mol) (maximum fixé au laboratoire en raison de la gestion des déchets contenant des radioéléments émetteurs alpha). Le principe de mesure ainsi que les paramètres instrumentaux de l'appareil utilisé (Tri-Carb 2910 TR, Perkin-Elmer) sont détaillés en annexe 3.

4.2.6.2 Spectroscopie alpha

Pour la mesure par spectrométrie alpha, l'échantillon est déposé sur une coupelle métallique en acier inoxydable avant d'être porté à sec. Le volume déposé est déterminé de façon à contenir une activité alpha supérieure à 10^{-2} Bq ($1{,}8.10^{-14}$ mol). Le principe de mesure ainsi que les paramètres instrumentaux sont détaillés en annexe 3.

4.3 Application du protocole de séparation U/Pu/PF actuel sur les colonnes capillaires monolithiques

En chromatographie en phase liquide, on caractérise la distribution d'un soluté i entre les deux phases, mobiles et stationnaires, par le coefficient de partition ou coefficient de distribution K_D avec la relation [255] :

$$K_D = \frac{c_S}{c_m} \qquad \textbf{4.3}$$

c_s et c_m désignant respectivement les concentrations du soluté à l'équilibre entre la phase stationnaire et la phase mobile. Ainsi, dans la suite du manuscrit, une rétention chromatographique élevée se traduit, pour un soluté, une phase stationnaire et une phase mobile donnés, par une valeur élevée de K_D. A l'inverse, un K_D proche de 0 caractérise un soluté présentant une rétention très faible ou nulle.

Le protocole de séparation utilisé actuellement au laboratoire est schématisé figure 4-2 et permet d'obtenir, après l'injection de l'échantillon préparé en milieu HCl 9,5 M, trois fractions pures contenant les PF (élution en milieu HCl 9,5 M), le Plutonium (élution en HCl 9,5 M + HI 0,1 M sous la forme Pu (III)) et l'Uranium (VI) (élution en HCl 1 M).

Par conséquent :

- les K_D des PF doivent être proches de 0 en HCl 9,5 M afin de ne pas être retenus et donc rapidement élués,
- les K_D de l'U (VI) et du Pu (IV) doivent être élevés en HCl 9,5 M afin d'être fixés sur la colonne,
- le K_D de Pu (III) doit être proche de 0 en HCl 9,5 M (réduction du Pu (IV) par l'acide iodhydrique) afin de permettre son élution,
- le K_D de l'U (VI) doit être proche de 0 en HCl 1 M afin de permettre son élution.

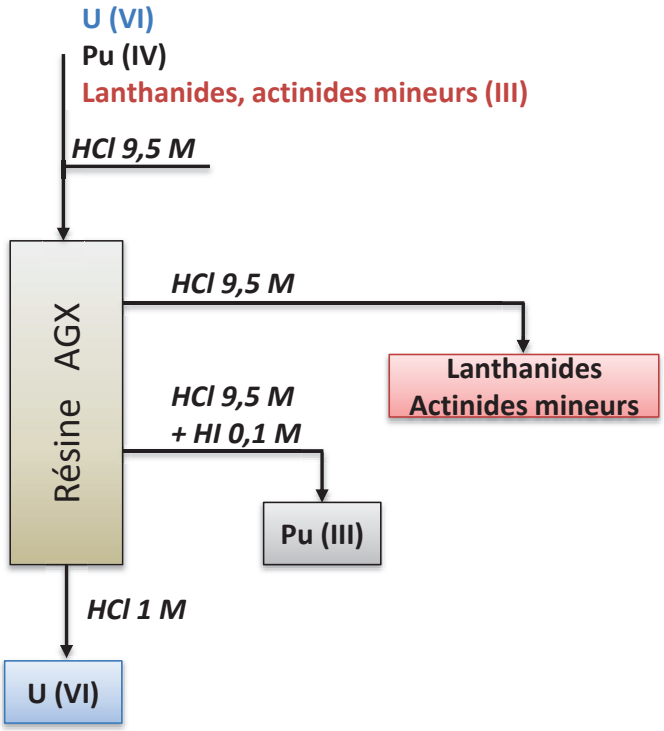


Figure 4-2 : Schéma du protocole de séparation U/Pu/PF utilisé avec les résines AGX.

L'application du protocole de séparation utilisé actuellement au laboratoire aux colonnes capillaires monolithiques implique la connaissance des comportements du Plutonium, des PF et de l'Uranium d'abord par la mesure de leur K_D sur le monolithe, puis l'évaluation de leur profils d'élution dans les différentes phases mobiles de la figure 4-2.

Les conditions expérimentales utilisées pour l'ensemble de l'étude sur les colonnes capillaires sont regroupées dans le tableau 4-1. La composition des échantillons injectés, quel que soit l'élément suivi, a été choisie en fonction de la capacité d'échange d'anions des colonnes (fixée à 51 nmol pour des colonnes de 6,5 cm pour l'ensemble de l'étude) de façon à :

- injecter environ 1 nmol (Uranium + Plutonium) au maximum, soit 2,5 % de la capacité d'échange d'anions de la colonne,
- obtenir un rapport des concentrations d'Uranium et de Plutonium de 50 (proche des conditions rencontrées dans les combustibles nucléaires usés de type UOx),
- pouvoir quantifier la composition des fractions d'élution collectées.

Tableau 4-1 : Conditions expérimentales utilisées lors des séparations en colonnes capillaires monolithiques.

	Descriptif des conditions
Colonne capillaire	Monolithe poly(GMA-co-EDMA) fonctionnalisé : 100 µm x 6,5 cm Volume mort de colonne (V_m) = 440 nL capacité d'échange = 51 nmol
Débits utilisés	≈ 60 nL.min^{-1} (ΔP ≈ 12 bars) pour HCl 9,5 M (η = 1,73 cP, 25 °C)
Echantillon	[Pu] = 1 mg.L^{-1} et [U] = 50 mg.L^{-1} et [Eu]* = 70 mg.L^{-1}
	Protocole de séparation
Volume d'injection	V_{inj} ≈ 12 Vm soit n_{inj}(U+Pu) ≈ 1 nmol
Volume total collecté par fraction d'élution	Volume collecté (V_{col}) ≈ 30 V_m

** L'europium a été utilisé dans le but de tracer le comportement chromatographique de l'ensemble des cations présents dans les échantillons de combustibles en HCl.*

4.3.1 Etude du comportement chromatographique du Plutonium (III) et (IV)

Dans une première approche, la comparaison des valeurs de K_D du Pu (III) et (IV) obtenues sur le monolithe et sur les résines utilisées au laboratoire permet d'évaluer si le protocole décrit figure 4-2 pour le Plutonium est utilisable sur les colonnes capillaires monolithiques (rétention en HCl 9,5 M puis élution en HCl 9,5 M + HI 0,1 M).

4.3.1.1 Evaluation des coefficients de distribution du Pu (IV) et du Pu (III) sur le monolithe

La figure 4-3 montre l'évolution du K_D du Pu (IV) (on considère que la présence de Pu (VI) est largement minoritaire), pour les résines AGX et le monolithe, en fonction de concentrations croissantes d'acide chlorhydrique comprises entre 6 et 9,5 M. Les K_D augmentent avec la concentration d'HCl en raison de la formation de chloro-complexes anioniques de Plutonium pour le monolithe comme pour les résines AGX. Pour la concentration maximale d'HCl testée (9,5 M), le K_D du Plutonium mesuré sur le monolithe est intermédiaire (575 ± 30 mL.g^{-1}) entre ceux mesurés sur les résines AG1X8 (192 ± 12 mL.g^{-1}) et AG1X10 (741 ± 10 mL.g^{-1}).

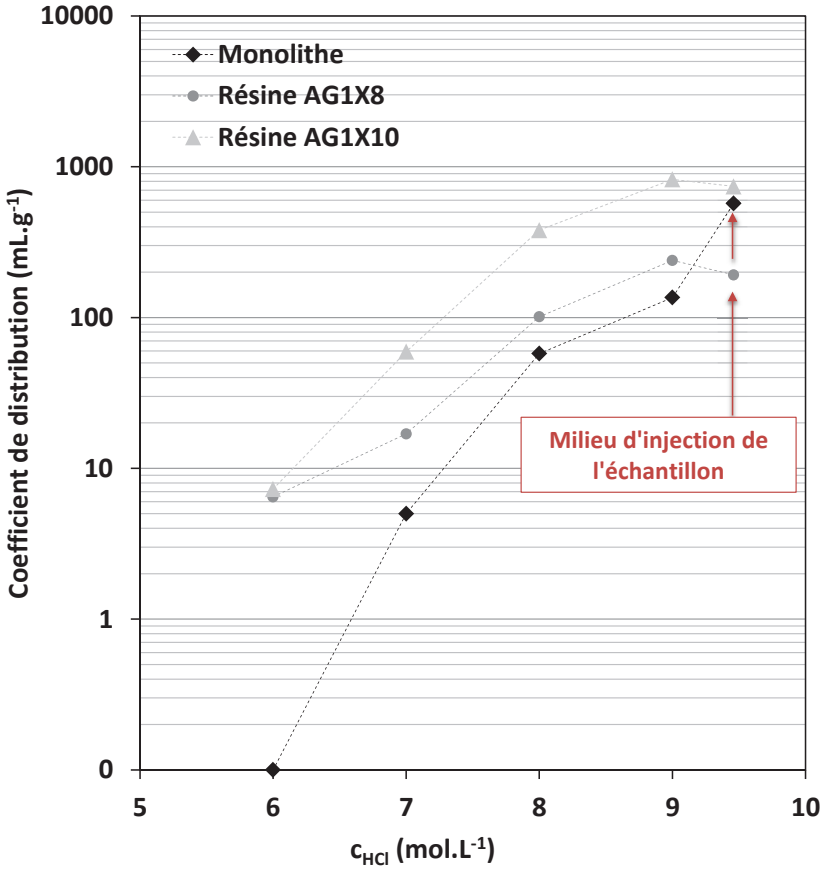
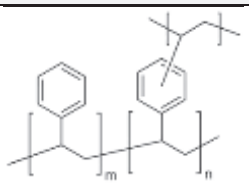
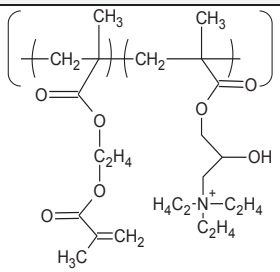
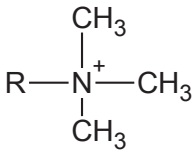
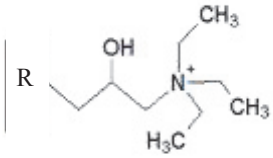


Figure 4-3 : Coefficients de distribution (K_D) du Plutonium (IV) en milieu HCl : pour le monolithe poly(GMA-co-EDMA) fonctionnalisé, la résine AG1X8 et la résine AG1X10.

Ce comportement spécifique du Pu (IV) vis-à-vis du monolithe poly(GMA-co-EDMA) est difficilement explicable en raison de la complexité du milieu d'étude avec la formation de différents complexes. On suppose toutefois que la rétention du Plutonium sur le monolithe est due non-seulement à des interactions électrostatiques mais aussi à un second mécanisme, inconnu, et spécifique au monolithe polyméthacrylate. Cette différence de comportement entre le monolithe et les résines AGX peut s'expliquer par les différences chimiques des structures polymériques et/ou des fonctionnalisations des deux matériaux (voir tableau 4-2). En effet, si les résines AGX sont constituées d'un copolymère de Polystyrène-co-divinylbenzène, le monolithe est un copolymère de méthacrylates. De plus, il existe une légère différence entre les chaînes alkyles des ammoniums quaternaires en surface des deux matériaux : chaînes méthyl pour les résines et éthyl pour le monolithe.

Tableau 4-2 : Structures polymériques et fonctionnalisations des résines AGX et du monolithe poly(GMA-co-EDMA).

	Résines AGX	Monolithe
Structures des polymères		
Fonctionnalisations		

Par ailleurs, nous avons déterminé le K_D du Pu (III) en milieu chlorhydrique sur le monolithe, suite à la réduction du Pu (IV) par ajout d'acide iodhydrique. Celui-ci est proche de 0 ± 2 $mL.g^{-1}$ quelle que soit la concentration en HCl : Pu (III) n'est pas retenu par le monolithe.

4.3.1.2 Comportement chromatographique du Plutonium sur colonne capillaire monolithique

Ici, l'objectif étant de vérifier la rétention du Pu (IV) en milieu HCl 9,5 M, puis l'élution du Pu (III) après l'ajout d'acide iodhydrique dans la phase mobile, l'échantillon ne contenait que du Plutonium. La figure 4-4 illustre ces deux étapes avec le suivi de la quantité de Plutonium collecté pendant 30 volumes morts de colonne pour les deux étapes. Ce volume a été choisi afin de vérifier la rétention du Plutonium (IV) pour un volume largement suffisant à l'élution des PF (ces derniers n'étant pas retenus). Comme le laissait présager la valeur élevée de K_D, le Pu (IV) n'est pas élué en milieu HCl 9,5 M pendant au moins 30 V_m (V_{inj} + 18 V_m).

Dès l'ajout d'HI dans la phase mobile, l'élution du Plutonium sous la forme Pu (III) commence comme l'illustre le profil d'élution (figure 4-4). Le rendement de récupération du Plutonium est alors d'environ 100 % en seulement 7 V_m, soit 3,01 µL. Ceci confirme l'efficacité de la réaction de réduction du Pu (IV) en Pu (III) à l'intérieur de la colonne par l'ajout d'acide iodhydrique.

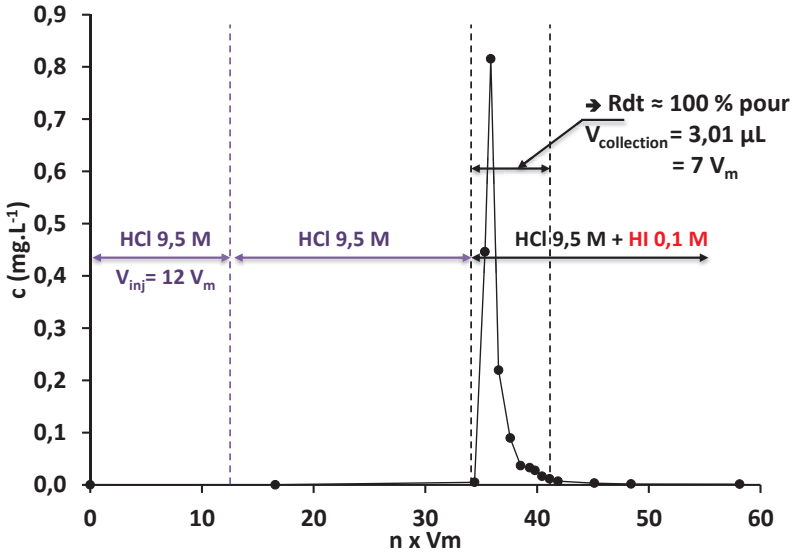


Figure 4-4 : Profil d'élution du Plutonium sur la colonne capillaire monolithique : rétention en milieu HCl 9,5 M (injection de l'échantillon pendant 12 V_m puis suivi du profil pendant 30 V_m au total) et élution par ajout d'acide iodhydrique (suivi du profil pendant 30 V_m). Autres conditions : voir tableau 4.2.

Finalement, l'utilisation du protocole de séparation actuel pour le Plutonium est aussi adapté pour les colonnes capillaires monolithiques.

4.3.2 Etude du comportement chromatographique des PF

4.3.2.1 Evaluation des coefficients de distribution des PF sur le monolithe

Comme nous l'avons détaillé lors de l'étude bibliographique, les produits de fission se trouvent, en milieu HCl, sous forme cationique. Par conséquent ils ne sont pas retenus par une colonne chromatographique d'échange d'anions, qu'elle que soit la concentration d'HCl. D'après la relation 4.3, ceci doit se traduire par une valeur de K_D proche de 0 $mL.g^{-1}$. Cela a été vérifié pour les résines AG1X8 et AG1X10, de la même façon que pour le monolithe pour un PF trivalent (Europium) et un PF monovalent (Césium). Dans les deux cas les valeurs de K_D déterminées sont proches de 0 $mL.g^{-1}$.

Dans la suite de l'étude, seul l'Europium sera utilisé afin de simplifier les expérimentations en considérant que son comportement est similaire à celui de l'ensemble des PF cationiques et des actinides trivalents.

4.3.2.2 Comportement chromatographique de l'Europium sur colonne capillaire monolithique

L'objectif est de vérifier d'une part que les PF ne sont pas retenus par la colonne monolithique et d'autre part de déterminer le volume total nécessaire à leur collecte après la fin de l'injection de l'échantillon. Comme attendu, l'élution des PF intervient dès l'injection

de l'échantillon (aucune rétention) comme l'illustre la figure 4-5. De plus la totalité de l'Europium injecté au départ est récupéré après seulement 1,5 V_m supplémentaires, soit, dans le cas de la figure 4-5, 5,94 µL.

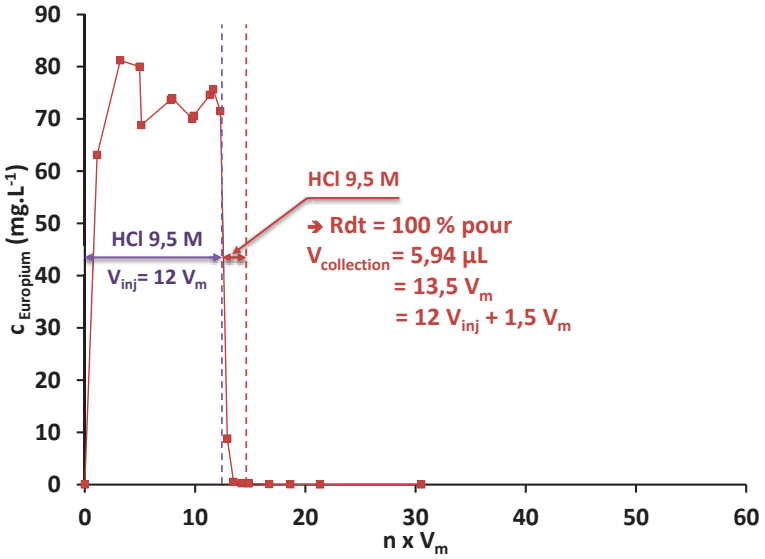


Figure 4-5 : Profil d'élution de l'Europium sur la colonne capillaire monolithique en milieu HCl 9,5 M : injection de l'échantillon pendant 12 V_m puis suivi du profil pendant 30 V_m au total. Autres conditions : voir tableau 4.2.

Par conséquent, il est possible d'envisager l'élution du Plutonium avant 30 V_m comme présenté figure 4-2 et l'utilisation du protocole de séparation actuel pour le Plutonium et les PF est adapté pour les colonnes capillaires monolithiques

4.3.3 Etude du comportement chromatographique de l'U (VI)

La comparaison des valeurs de K_D de l'U (VI) obtenues sur le monolithe et sur les résines AGX doit permettre d'évaluer si le protocole décrit figure 4-2 pour l'Uranium est utilisable sur les colonnes capillaires monolithiques (rétention en HCl 9,5 M puis élution en HCl 1 M).

4.3.3.1 Evaluation des coefficients de distribution de l'U (VI) sur le monolithe

La figure 4-6 montre l'évolution des K_D de l'U (VI), mesurés pour les résines AGX et le monolithe, en fonction de concentrations croissantes d'acide chlorhydrique comprises entre 6 et 9,5 M.

A l'image de ce qui a été décrit lors de l'étude bibliographique, les K_D augmentent avec la concentration d'HCl : l'évolution est d'ailleurs la même pour les résines AGX et le monolithe. Ceci traduit un mécanisme de rétention équivalent basé sur des interactions électrostatiques entre les chloro-complexes anioniques d'U (VI) et les groupements ammonium quaternaire des phases stationnaires.

Néanmoins, il existe un écart significatif entre les valeurs de K_D mesurées pour les résines et pour le monolithe, et ceci, peu importe la concentration d'HCl (rapport ≈ 1/10). Les valeurs maximales, mesurées en milieu HCl 9,5 M, sont de 1125 ± 10 $mL.g^{-1}$ pour les résines AGX et de seulement 68 ± 5 $mL.g^{-1}$ pour le monolithe. Une hypothèse concernant cet écart peut être attribué à la différence de capacité d'échange d'ions des deux matériaux : 3600 $\mu mol.g^{-1}$ pour AG1X8, 2700 $\mu mol.g^{-1}$ pour AG1X10, pour seulement 300 $mol.g^{-1}$ pour le monolithe.

Par ailleurs, le K_D mesuré pour l'U (VI) en milieu HCl 1 M est conforme aux attentes avec une valeur d'environ 0 $mL.g^{-1}$ et doit permettre son élution.

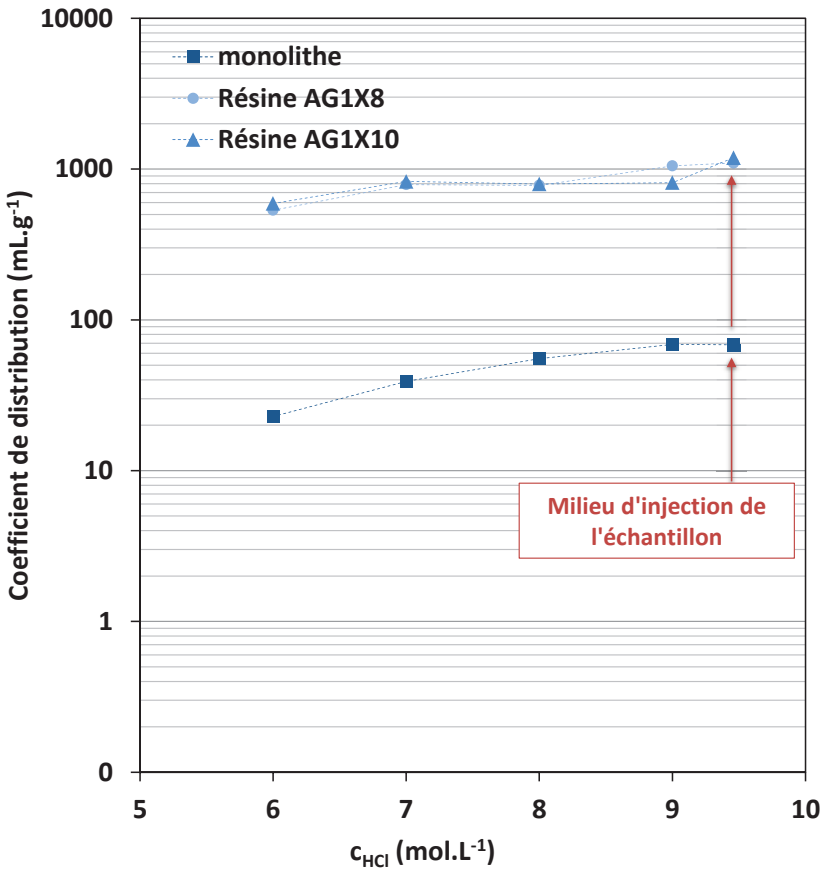


Figure 4-6 : Coefficients de distribution (K_D) de l'Uranium (VI) en milieu HCl : pour le monolithe poly(GMA-co-EDMA) fonctionnalisé, la résine AG1X8 et la résine AG1X10.

4.3.3.1 Comportement chromatographique de l'U (VI) sur colonne capillaire monolithique

Finalement la figure 4-7 présente le suivi simultané des profils d'élution de l'Europium et de l'Uranium (VI) en suivant le même protocole qu'aux paragraphes précédents : injection de 12 V_m, suivi de 18 V_m d'HCl supplémentaires avant de passer à une phase mobile contenant l'acide iodhydrique pour l'élution du Plutonium.

Alors que l'Uranium doit rester fixé sur la colonne en milieu HCl 9,5 M, son élution apparaît dès environ 13 V_m. Dans les conditions d'injection utilisées (V_{inj} = 12 Vm), ceci entraîne la co-élution de l'U (VI) avec l'Europium. Le suivi de l'élution de l'Uranium en HCl 9,5 M a été prolongé jusqu'à 60 V_m afin de déterminer la totalité du pic. Ainsi, le pic obtenu est très large et présente une traîne prononcée à l'arrière jusqu'à environ 50 V_m. Dans le cas de l'élution du Plutonium au bout de 30 V_m, cette traînée provoquerait une seconde co-élution comme le montre la superposition des profils d'élution de l'U (VI) et de Pu (III).

Alors que dans ces conditions, l'Uranium devait être élué seulement après un passage avec une phase mobile HCl 1 M, environ 95 % de la quantité injectée au départ est déjà collectée après le passage de 50 V_m d'HCl 9,5 M. Ceci entraine la co-élution de l'U (VI) à la fois avec les PF et le Plutonium (III).

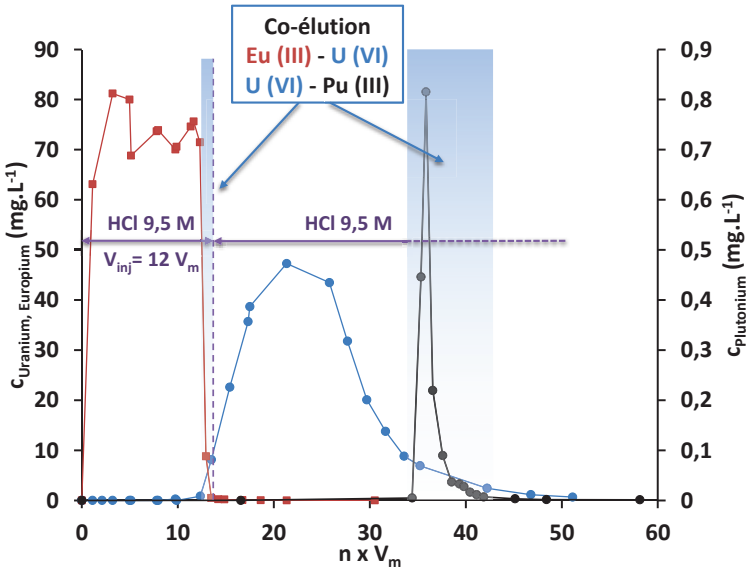


Figure 4-7 : Superposition des profils d'élution de l'Europium (III) et de l'Uranium (VI) avec celui du Pu (III) sur la colonne capillaire monolithique : en milieu HCl 9,5 M pendant 30 V_m puis en milieu HCl 9,5 M + HI 0,1 M pendant 30 V_m supplémentaires. Autres conditions : voir tableau 4.2.

Finalement, ces observations démontrent l'influence de la faible valeur de K_D de l'U (VI) mesurée en milieu HCl 9,5 M sur le monolithe. Ceci engendre une rétention trop faible et l'élution prématurée de l'Uranium. Par conséquent l'utilisation du protocole décrit figure 4-2 n'est pas envisageable avec les colonnes capillaires monolithiques.

4.3.4 Conclusion : développement d'une nouvelle stratégie de séparation

Cette étude a permis d'écarter l'éventualité de transférer directement le protocole de séparation U/Pu/PF depuis les colonnes AGX vers les colonnes capillaires monolithiques. Si les comportements chromatographiques des PF et du Pu sont conformes à ce qui était attendu,

ce n'est pas le cas pour l'Uranium. En effet, son élution est inévitable en milieu HCl 9,5 M en raison de la trop faible valeur de K_D déterminée sur le monolithe.

Néanmoins, une nouvelle stratégie de séparation, plus adaptée aux colonnes monolithiques est possible. Tout d'abord, la co-élution de l'U (VI) et du Plutonium peut être évitée simplement en retardant l'élution du Pu (III), la valeur élevée de K_D mesurée pour le Pu (IV) garantissant la rétention du Plutonium durant l'élution de l'U (VI). De plus, la co-élution PF – U (VI) semble évitable au moyen d'une diminution du volume d'injection. En faisant l'hypothèse d'un début d'élution de l'U (VI) à environ 13 V_m, l'injection d'un volume inférieur à 11,5 V_m devrait permettre de collecter la totalité des PF sans contamination par de l'Uranium (100 % des PF collectés avec un volume égal à V_{inj} + 1,5 V_m). Finalement le nouveau protocole serait le suivant :

- l'injection de l'échantillon préparé en HCl 9,5 M,
- l'élution des PF en HCl 9,5 M avec un volume égal à $V_{injection}$ + 1,5 V_m,
- l'élution de l'U (VI) en HCl 9,5 M,
- l'élution du Plutonium peut être envisagée de deux façons différentes :
    - avec une phase mobile HCl 9,5 M contenant 0,1 M d'acide iodhydrique et un volume correspondant à 7 V_m : élution de Pu (III),
    - avec une phase mobile HCl 1 M et un faible volume car le K_D du Pu (IV) est proche de 0 $mL.g^{-1}$ à cette concentration.

Afin d'envisager l'application de cette stratégie de séparation, il reste nécessaire de vérifier s'il existe des conditions pour lesquelles la co-élution PF – U (VI) peut être évitée.

4.4 Etude du profil d'élution de l'Uranium (VI) en milieu HCl 9,5 M sur les colonnes capillaires monolithiques

Comme décrit en début de chapitre, la rétention d'un soluté est fonction, dans un système phase mobile / phase stationnaire donné, de la valeur du coefficient de distribution, K_D. L'élution prématurée de l'Uranium (VI) par la phase mobile HCl 9,5 M vient donc d'une valeur de K_D trop faible. Cette élution étant inévitable en HCl 9,5 M, il apparaît nécessaire de pouvoir la prédire, en fonction des paramètres de colonne (géométrie), d'injection (quantité injectée) et d'échantillon (concentration d'Uranium par exemple) afin de mettre au point un nouveau protocole de séparation U/Pu/PF, adapté aux colonnes capillaires monolithiques.

4.4.1 Expression de la rétention de l'U (VI) et mise en place d'un calcul de simulation du profil d'élution

Etant donnée la complexité de la mise en œuvre de séparations sur colonnes capillaires et dans le but d'optimiser le nombre d'expériences à réaliser, nous avons mis en œuvre un

outil de modélisation de l'élution de l'Uranium (VI). Cet outil est basé sur le principe de la machine inventée par Craig et al. [256] : la colonne capillaire est alors considérée comme la somme de plateaux indépendants, dans lesquels le soluté (le chloro-complexe d'Uranium (VI)) est en équilibre entre la phase mobile (l'HCl 9,5 M) et la phase stationnaire (le monolithe). A l'issu d'un premier équilibre établi dans le plateau n°1, la phase mobile est injectée dans le plateau n°2 où s'opère un second équilibre (figure 4-8), et ainsi de suite.

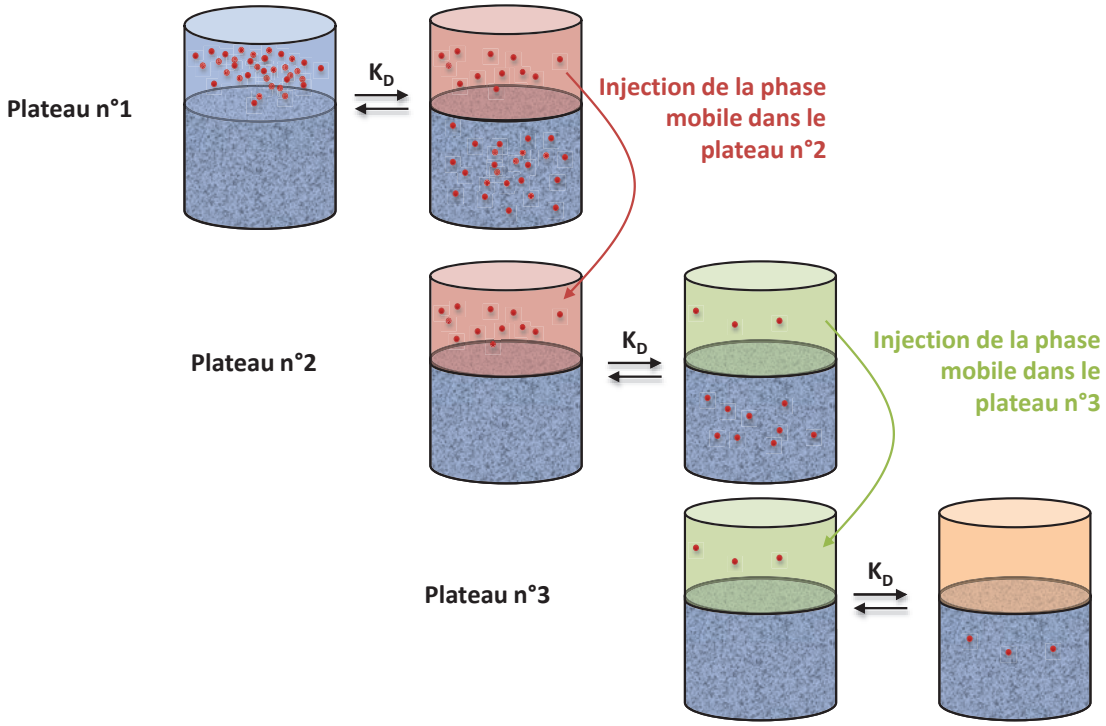


Figure 4-8 : Principe de construction du calcul de simulation du profil d'élution de l'Uranium (VI) (inspiré de la machine développée par Craig et al. [256]).

De cette façon, il possible de prédire l'adsorption puis l'élution de l'Uranium (VI) en milieu HCl 9,5 M sur la colonne monolithique en supposant que l'équilibre repose simplement sur un mécanisme d'échange d'ions faisant intervenir des espèces monochargées :

$$SCl + X^- = SX + Cl^- \qquad \textbf{4-4}$$

S désignant les sites ammoniums quaternaires en surface du monolithe et X^- l'anion échangé. En considérant la concentration de Cl^- en phase liquide comme constante sur l'ensemble des plateaux (hypothèse hautement probable étant donnée la concentration d'HCl), l'équilibre peut être décrit par la relation :

$$K_f = \frac{n(SX)}{n(S) \times [X^-]} \qquad \textbf{4-5}$$

avec K_f la constante d'équilibre, n(SX) la quantité de sites d'échange du monolithe occupés, n(S) la quantité de sites d'échange du monolithe « libres » et $[X^-]$ la concentration d'anions X^- dans le plateau. Il est ensuite possible d'établir dans chaque plateau, au moyen de relations de conservation de matière, la quantité de sites d'échange occupés par l'Uranium n(SX) et donc la quantité d'Uranium en solution en fonction de la quantité d'Uranium injectée dans le plateau $n(X^-,totales)$, du nombre de sites d'échange libres dans le plateau n(S) (fonction de la capacité d'échange d'ions de la colonne), du volume du plateau $V_{plateau}$ (fonction du nombre de plateaux théoriques définis dans la colonne) et du coefficient de la constante d'équilibre K_f par la relation :

$$n(SX) = \frac{n(X, totales)\ .\ n(S)\ .\ K_f}{n(S)\ .\ K_f + V_{plateau}} \qquad \textbf{4-6}$$

Le détail des calculs permettant d'établir le profil d'élution de l'Uranium en milieu HCl 9,5 M est présenté dans l'annexe 4.

L'outil développé intègre aussi la simulation du profil d'élution des PF en supposant que leur rétention est nulle. Pratiquement, nous avons utilisé une valeur de K_D égale à 3 $mL.g^{-1}$ (fixée arbitrairement) dans l'expression 4-6 de façon à obtenir un profil d'élution gaussien (le profil aurait été strictement rectangulaire en utilisant une valeur de K_D de 0).

Par ailleurs, l'outil prend en compte la présence de Plutonium en se basant là-aussi sur un équilibre faisant intervenir des espèces monochargées. Ceci permet, dans une première approche, d'approximer l'influence de la présence de Pu (IV) (K_D élevé) sur la rétention de l'Uranium bien que les chloro-complexes de Pu (IV) soient en partie sous forme di-chargée en HCl 9,5 M (voir paragraphe 2-2). Ainsi, la totalité des éléments constitutifs d'un échantillon de combustible est prise en compte dans le profil d'élution simulé de l'U (VI).

Finalement les données d'entrée du calcul prennent en compte la géométrie de la colonne (V_m, nombre de plateaux et capacité d'échange fixes), la composition de l'échantillon, le volume d'injection et les valeurs de K_D en milieu HCl 9,5 M (voir tableau 4-3).

Tableau 4-3 : Données d'entrée du calcul de simulation du profil d'élution de l'U (VI).

Données fixes	
Colonne	Capacité d'échange = 51 nmol
(100 µm x 6,5 cm)	Volume mort (V_m) = 440 nL
Nombre de plateaux	Fixés à 40*
Echantillon	K_D en HCl 9,5 M (80 et 575 $mL.g^{-1}$ pour U et Pu respectivement)
	K_D en HCl 9,5M fixé à 3 $mL.g^{-1}$ pour les PF
Données variables	
Concentration	[U] = variable, [Pu] = [U] / 50, [Eu] comprise entre 11 et 70 $mg.L^{-1}$
Volume d'injection	n x V_m

**Dans notre cas, le nombre de plateaux influence peu l'allure du pic et a été fixé à 40 afin de limiter le temps de calcul*

4.4.2 Validation du calcul de simulation et limites du modèle

La validation de l'outil de simulation est basée sur la concordance des profils d'élution expérimentaux et simulés de l'U (VI) et doit permettre de déterminer les conditions expérimentales pour lesquelles la co-élution entre les PF et l'Uranium est évitée.

Comme évoqué au paragraphe 4.3.4., la diminution du volume d'injection devrait permettre de collecter la totalité des PF avant le début de l'élution de l'Uranium. C'est pourquoi, les essais réalisés dans cette étude ont été effectués pour des volumes d'injection décroissants : de 12 V_m (condition utilisée au paragraphe 4.3) jusqu'à 0,5 V_m. Afin de conserver une quantité injectée égale à 1 nmol et donc de pouvoir comparer avec les résultats obtenus au paragraphe 4.3, les concentrations d'Uranium ont été fixées par le volume d'injection. L'ensemble des conditions d'essais est regroupé dans le tableau 4-4. L'essai n°3 correspond à une concentration en Uranium proche de celle rencontrée dans les combustibles de type UOx.

Tableau 4-4 : Echantillons injectés afin d'évaluer l'impact du volume d'injection (V_{inj}) sur la co-élution de l'Eu et de l'U (VI).

	n_{inj} (U) (nmol)	[U] ($mg.L^{-1}$)	V_{inj} (nL)	[Eu] ($mg.L^{-1}$)
Essai n°1	1,1	53	12 x V_m (5092)	70
Essai n°2	1,1	116	5 x V_m (2168)	11
Essai n°3	1,0	554	1 x V_m (423)	14
Essai n°4	1,0	1144	0,5 x V_m (211)	12

La figure 4-9 illustre l'ensemble des profils d'élution expérimentaux de l'U (VI) obtenus en milieu HCl 9,5 M ainsi que les profils simulés associés. Ces derniers décrivent assez fidèlement les profils expérimentaux avec :

- des temps de rétention (nombre de V_m au maximum du pic) identiques,
- des débuts d'élution (nombre de V_m correspondant à une intensité de pic égale à 0,01 % de l'intensité maximum) identiques.

Néanmoins, on constate que la simulation n'est pas capable de décrire fidèlement les traînées de pics observées expérimentalement. Une hypothèse permettant d'expliquer ces traînées de pic est la présence d'un second mécanisme d'interaction minoritaire par rapport au mécanisme d'échange d'ions. Ce mécanisme n'étant pas pris en compte dans les calculs, cela peut expliquer les différences observées.

Une seconde hypothèse concerne l'impact de la concentration en Uranium dans l'échantillon. En effet, comme détaillé dans l'annexe 4, la relation utilisée entre K_f et K_D n'est valide que lorsque la quantité de sites d'échange d'anions occupés par les anions X^-, en surface du monolithe, est faible par rapport au nombre total de sites disponibles dans un plateau. Cette hypothèse s'avère discutable lorsque la concentration d'Uranium augmente fortement : la quantité d'anions X^- est trop importante et peut conduire à la saturation de l'ensemble des sites d'échanges d'un plateau. Dans ce cas, l'équilibre n'est pas atteint dans le plateau, et la valeur de K_f utilisée pour la calcul est surestimée. Ce phénomène, appelé surcharge en concentration (similaire à ce qui est décrit en chromatographie préparative) entraîne le déplacement du pic d'élution vers des temps de rétention plus faible ainsi qu'une déformation du pic avec une traînée prononcée vers l'arrière.

Malgré ces réserves, l'outil de calcul suffit à déterminer le début du pic d'élution de l'Uranium en fonction des conditions expérimentales et donc de vérifier une éventuelle co-élution avec les PF. Même s'il reste très perfectible, cet outil se révèle tout à fait satisfaisant d'un point de vue opérationnel et donc parfaitement adapté à cette thèse.

Ainsi, le profil d'élution de l'U (VI) en HCl 9,5 M évolue, pour une quantité injectée fixe (ici 1 nmol), en fonction du volume d'injection (et donc de la concentration d'Uranium dans l'échantillon) : on observe un déplacement du début d'élution du pic vers un nombre plus faible de V_m lorsque la concentration d'Uranium augmente de 50 à 1100 $mg.L^{-1}$. Ceci peut être provoqué par une saturation des premiers plateaux de la colonne lorsque la concentration d'Uranium devient trop élevée.

Par ailleurs, la traînée de pic de l'Uranium, déterminée expérimentalement jusqu'à un volume d'environ 50 V_m au maximum, semble diminuer en longueur pour des concentrations injectées croissantes.

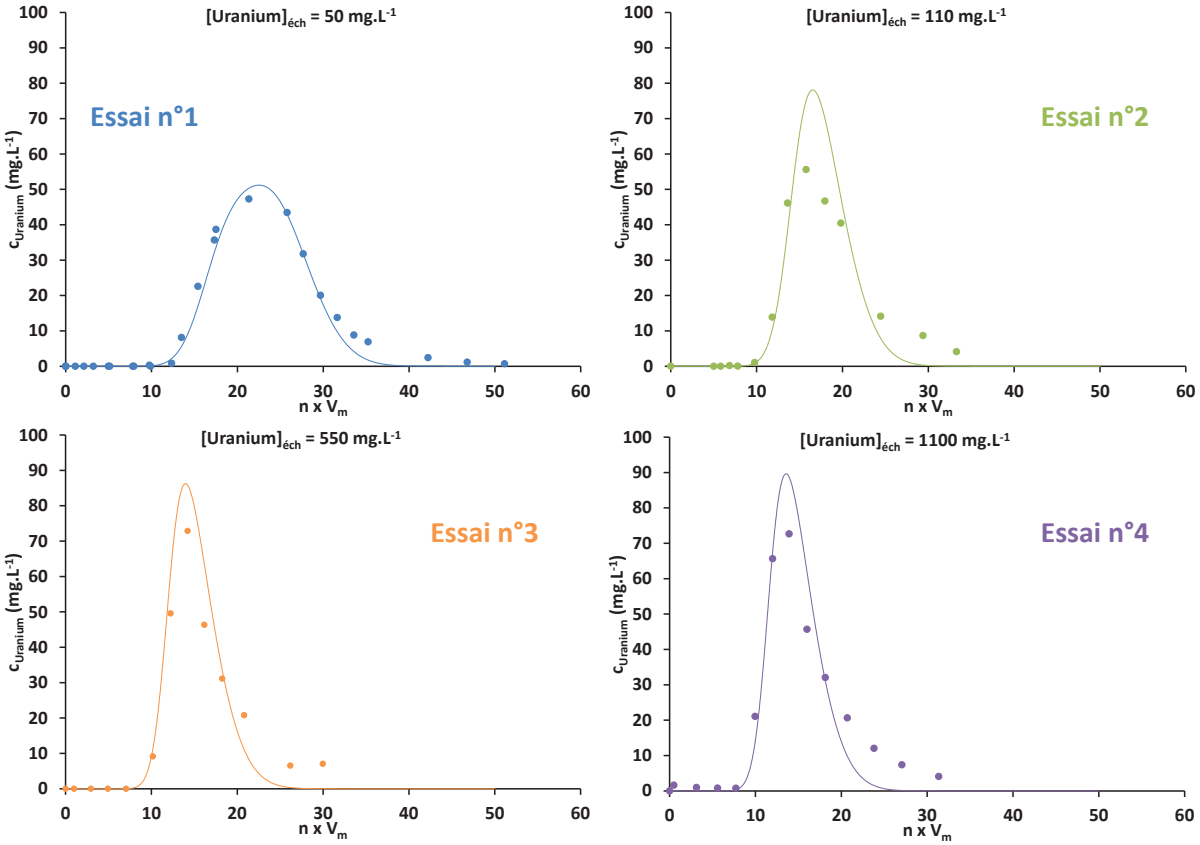


Figure 4-9 : Superposition des profils d'élution expérimentaux (courbes pleines) et simulés (courbes en pointillés) de l'U (VI) en milieu HCl 9,5 M pour différentes concentrations d'Uranium initiales. Colonne capillaire : 100 µm x 6,5 cm.

4.4.3 Influence du volume d'injection sur la co-élution PF – U (VI)

Bien que la co-élution PF – U (VI) ait été observée au paragraphe 4.3.3. pour l'injection d'un volume d'échantillon de 12 V_m (figure 4-10, 1), elle est évitable lorsque le volume d'injection diminue : dans le cas de l'essai n°2 (V_{inj} = 5 V_m) la fin de l'élution des PF intervient avant le début de celle de l'U (VI) (figure 4-10, 2). Par conséquent, pour une quantité fixe d'Uranium injectée, le paramètre déterminant la co-élution est le volume d'injection.

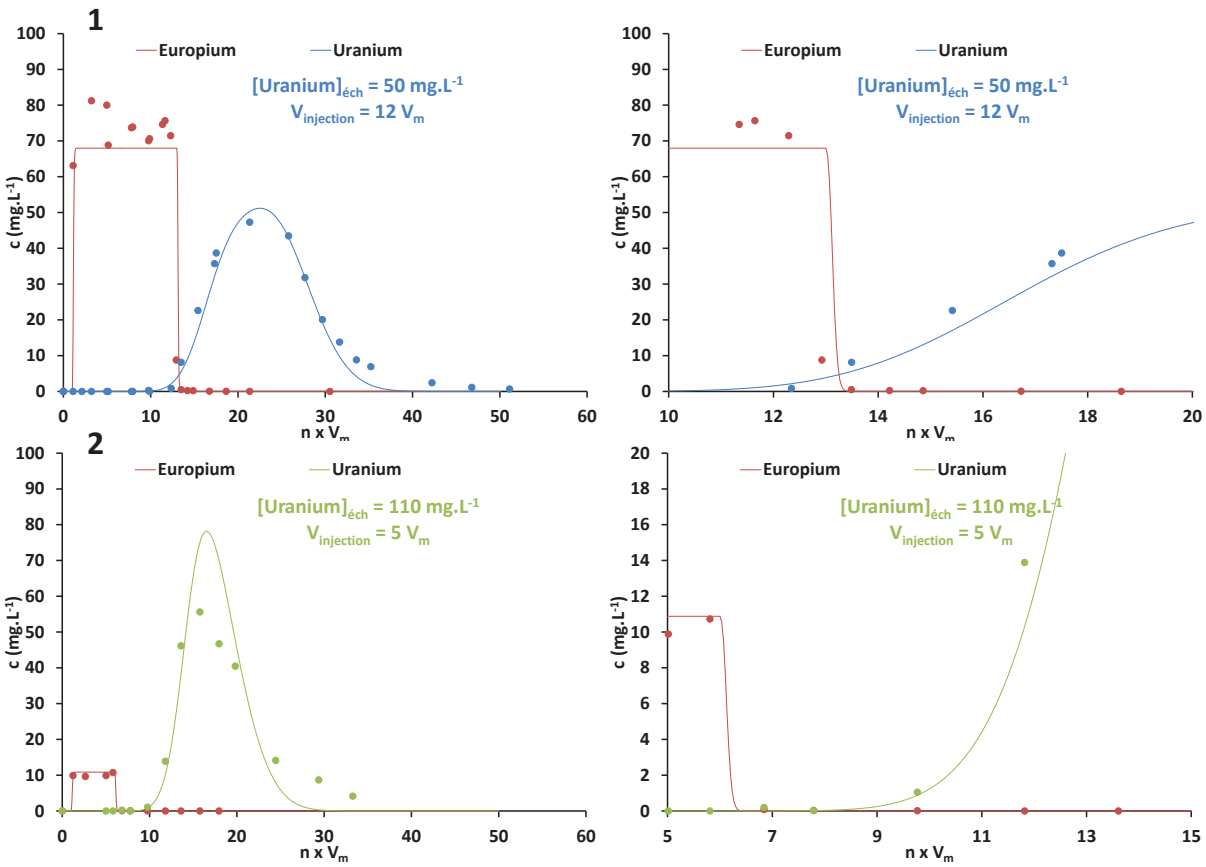


Figure 4-10 : Superposition des profils d'élution expérimentaux (courbes pleine) et simulés (courbes en pointillés) de l'U (VI) et de l'Eu (III) en milieu HCl 9,5 M : pour [U] = 50 (1) et 110 mg.L^{-1} (2) avec respectivement [Eu] = 70 et 11 mg.L^{-1}. Colonne capillaire : 100 µm x 6,5 cm.

Il apparait donc nécessaire d'identifier le volume d'injection limite, en-dessous duquel la co-élution est évitée, et au-dessus duquel la co-élution apparait. Ce volume limite, déterminé pour des quantités d'Uranium injectées croissantes, permettra de définir un ensemble de couples quantité / volume injectés représentant le domaine limite d'utilisation de la colonne capillaire monolithique (de dimensions 100 µm x 6,5 cm), pour lequel la co-élution PF – U (VI) est évitée.

4.5 Domaine d'utilisation des colonnes capillaires monolithiques pour la séparation U/Pu/PF

L'intégralité de cette étude a été réalisée à l'aide de l'outil de simulation développé au paragraphe précédent.

4.5.1 Qualification de la co-élution U (VI) – PF (III)

Dans un premier temps, il est nécessaire de définir la condition limite à partir de laquelle on considère la co-élution PF – U (VI) effective ; l'objectif étant d'obtenir à la fois des fractions pures de PF et d'Uranium. Le critère choisi est basé sur les intensités des pics

des PF et de l'Uranium : la co-élution est évitée lorsque l'intensité des deux pics, mesurée à leur intersection, est égale à I = 0,01 % x I_{max} comme l'illustre la figure 4-11.

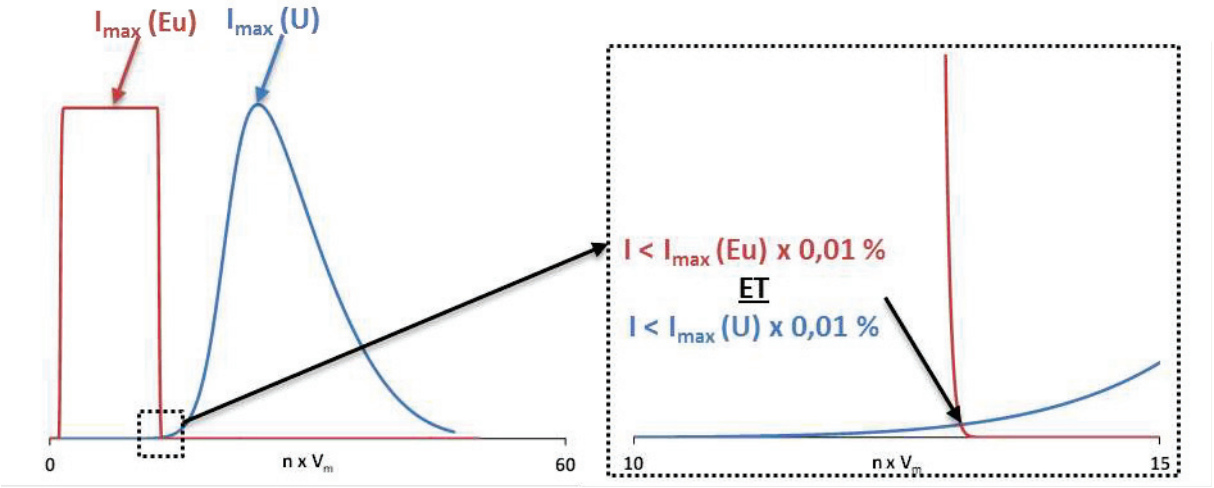


Figure 4-11 : Schéma de principe représentant le critère utilisé pour affirmer la co-élution PF – U (VI).

Parce que les intensités maximum des pics sont fonction des concentrations des éléments dans l'échantillon de départ, la concentration de l'Europium a été fixée à une valeur critique de 100 $mg.L^{-1}$, largement supérieure à celle rencontrée dans les échantillons de combustible afin de se placer dans des conditions très défavorables. La concentration d'Uranium a quant à elle été fixée suivant le volume d'injection et la quantité à injecter dans la colonne.

4.5.2 Calcul des limites du domaine d'utilisation

La méthodologie utilisée pour définir les limites du domaine d'utilisation des colonnes capillaires de dimension 100 µm x 6,5 cm est la suivante :

- choix de la quantité d'Uranium à injecter : $n_{inj}(U)$
- recherche du volume limite d'injection, V_{limite}, pour lequel la co-élution PF – U (VI) est évitée suivant le critère défini au paragraphe précédent. Ce volume détermine ainsi la concentration limite d'Uranium dans l'échantillon :

$$[U]_{limite} = \frac{n_{inj}(U)}{V_{limite}} \qquad \textbf{4-7}$$

De cette façon, il est possible de définir un domaine d'utilisation des colonnes capillaires monolithiques (de géométrie fixe telle que définie au tableau 4.3) en fonction de la quantité d'Uranium injectée comme l'illustre la figure 4-12 (cette dernière étant représentée

sous la forme d'une fraction de la capacité d'échange totale de la colonne). Les informations obtenues sont alors :

- la quantité maximum injectable sur la colonne, $n_{inj,\ max}$ (U) au-delà de laquelle la co-élution PF – U (VI) ne peut pas être évitée : égale à 0,7 fois la capacité d'échange totale soit, dans notre cas, 35,8 nmol ou 8,5 µg d'Uranium,
- le volume maximal injectable sur la colonne, V_{max} au-delà duquel la co-élution PF – U (VI) ne peut pas être évitée : égal à environ 12 V_m soit, dans notre cas, 5,2 µL,
- les volumes limites injectables, V_{limite}, pour des quantités d'Uranium injectées comprises entre 0 et 0,7 fois la CE_a. Ces volumes limites correspondent alors à des concentrations d'Uranium limites calculées à partir de la relation 4-7.

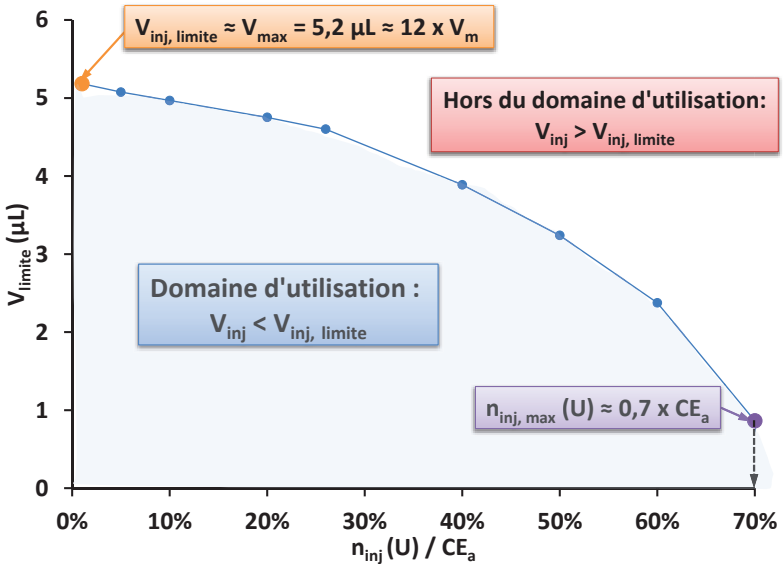


Figure 4-12 : Domaine d'utilisation des colonnes capillaires monolithiques : évolution du volume limite d'injection, $V_{inj,\ limite}$, en fonction de la quantité d'Uranium injectée n_{inj}(U).

Il est possible de représenter les volumes d'injection limites, non-plus en fonction de la quantité injectée, mais de la concentration d'Uranium limite dans l'échantillon comme le montre la figure 4-13. On retrouve alors par exemple la concentration d'Uranium maximale, $[U]_{max}$ pour un volume d'injection de 0,86 µL, correspondant à la quantité maximale traitable par la colonne capillaire : 0,7 fois la CE_a.

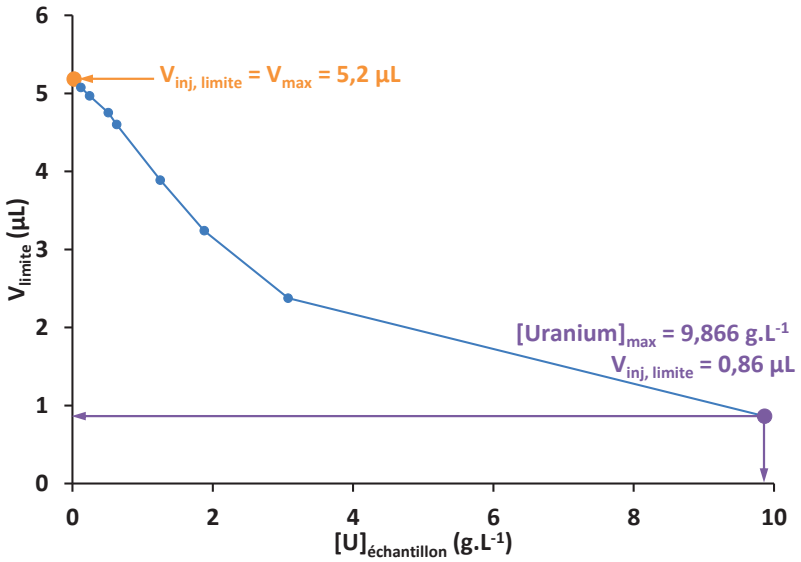


Figure 4-13 : Domaine d'utilisation des colonnes capillaires monolithiques : évolution du volume limite d'injection, $V_{inj, limite}$, en fonction de la concentration initiale d'Uranium dans l'échantillon $[U]_{échantillon}$.

La figure 4-14 permet d'illustrer la lecture du domaine d'utilisation défini pour une quantité d'Uranium injectée égale à 1 nmol, correspondant aux essais n°1 à 4 du paragraphe 4.4.2. Ainsi, dans le cas de l'essai n°1, parce que le volume d'injection utilisé est supérieur au volume limite, la co-élution PF – U (VI) est effective. Ce n'est pas le cas pour les autres essais car les volumes d'injection sont alors inférieurs au volume limite. Finalement, dans ce cas (injection de 1 nmol), le volume limite d'injection est similaire au volume maximal V_{max} : 5,1 µL.

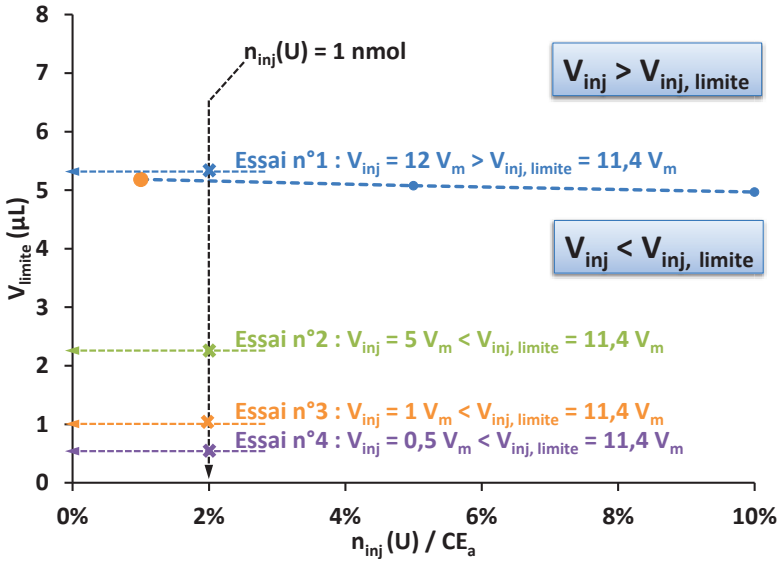


Figure 4-14 : Comparaison des volumes d'injection des essais 1 à 4 avec le volume d'injection limite ($V_{inj, limite}$) pour une quantité d'Uranium injectée de 1 nmol, soit 2 % de la CE_a.

Finalement, grâce à l'utilisation du domaine défini figure 4-12, il est possible de vérifier la compatibilité des colonnes capillaires monolithiques avec une séparation U/Pu/PF conduite sur un échantillon réel caractéristique des combustibles usés de type UOx.

4.5.3 Compatibilité de la dimension des colonnes capillaires monolithiques avec la séparation U/Pu/PF sur échantillon réel

Lors des séparations U/Pu/PF réalisées sur combustible usé, le volume d'échantillon à injecter est calculé à partir d'une contrainte imposée par les analyses isotopiques par spectrométrie de masse TIMS : la quantité minimale d'élément analysable, n_{TIMS}. Cette quantité a été déterminée au laboratoire pour chaque élément en fonction de l'appareillage utilisé. Ainsi, pour chaque nouvel échantillon de combustible usé et pour chaque élément, il est nécessaire de calculer le volume à injecter, V_{inj}, de la façon suivante :

$$V_{inj} = \frac{n_{TIMS}(X)}{[X]_{échantillon}} \qquad \textbf{4-8}$$

avec $n_{TIMS}(X)$ la quantité minimale nécessaire à une analyse isotopique par TIMS pour l'élément X et $[X]_{échantillon}$ la concentration de l'élément x dans l'échantillon de combustible.

Le tableau 4-5 expose ainsi, pour une composition type d'un échantillon de combustible UOx, le volume à injecter pour chaque élément. Le volume d'injection minimal ($V_{inj,\ min}$) est ainsi imposé par un élément limitant, dont la concentration dans l'échantillon est faible, et dont la quantité nécessaire à l'analyse TIMS est élevée. Finalement, $V_{inj,min}$ est égal au volume d'injection calculé le plus élevé dans le tableau 4-5.

Il est important de noter que les valeurs n_{TIMS} sont estimées sur la base de récents travaux de thèse conduits au laboratoire [4] : l'utilisation d'une méthode particulière en spectrométrie de masse TIMS permet, dans ce cas, de réduire les quantités d'élément nécessaires. Ces valeurs ont été vérifiées dans le cas des lanthanides (Nd, Sm, Eu, Gd) mais restent des estimations pour l'ensemble des autres éléments. Les volumes d'injection calculés sont, dans le cas des actinides mineurs (Am et Cm), encore beaucoup trop élevés pour envisager leur analyse isotopique suite à leur séparation sur microsystème. Dans leur cas, il est indispensable d'optimiser la mesure TIMS afin de diminuer les quantités minimales analysables ainsi que d'utiliser des colonnes de dimensions plus grandes. C'est pourquoi la suite de l'étude s'est basée uniquement sur les autres éléments présents dans le tableau 4-5.

Tableau 4-5 : Composition type d'un combustible UOx usé et calcul du volume minimal à injecter lors de la séparation U/Pu/PF en fonction des quantités minimales analysables en TIMS pour chaque élément.

Elément	Concentration ($mg.L^{-1}$)	n_{TIMS} (ng)	V_{inj} (µL)
Uranium	631,289	100*	0,158
Plutonium	8,891	100*	11,25
Néodyme	5,767	5**	0,87
Samarium	1,070	5**	4,67
Europium	**0,249**	**5****	**20,08**
Gadolinium	0,339	5**	14,75
Américium	0,660	100*	151,52
Curium	0,201	100*	497,51
Césium	3,435	25*	7,28

** Valeurs estimées au LANIE*

*** D'après [4]*

Finalement, le volume minimal d'injection nécessaire dans le cas du combustible UOx du tableau 4-5 est imposé par l'Europium : ce dernier est largement supérieur au volume maximal d'injection calculé au paragraphe 4.5.2 dans le cas de l'utilisation de la colonne capillaire monolithique :

$$V_{inj,min} = 20{,}08\ \mu L \gg V_{max} = 5{,}2\ \mu L \qquad \textbf{4-9}$$

Par conséquent, dans ces conditions, la co-élution U (VI) – PF (III) est inévitable et la géométrie de la colonne capillaire n'est pas adaptée à la réalisation de la séparation U/Pu/PF sur échantillons réels.

Malgré cela, et afin de démontrer la faisabilité de l'application du nouveau protocole de séparation U/Pu/PF sur colonne capillaire monolithique, le prochain paragraphe détaille la réalisation d'une première séparation complète pour un échantillon initial présentant une composition adaptée à la dimension de la colonne.

4.6 Faisabilité de la séparation U/Pu/PF en colonne capillaire monolithique

L'objectif est ici de démontrer la faisabilité du protocole de séparation envisagé au paragraphe 4.3.4. (figure 4-15, 2) afin de confirmer :

- La validité du domaine d'utilisation défini pour éviter la co-élution PF – U (VI),
- l'élution du Plutonium, après celle de l'Uranium.

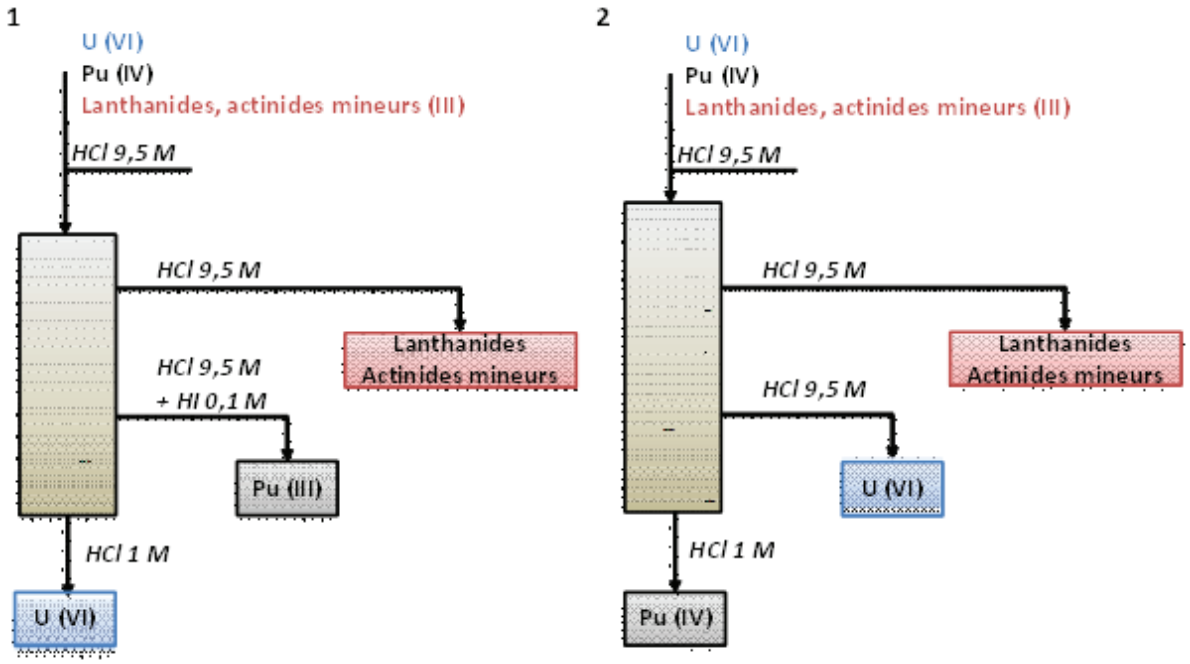


Figure 4-15 : Schémas des protocoles de séparation U/Pu/PF utilisé sur les résines AGX (1) et envisagé pour les colonnes capillaires monolithiques (2).

La composition de l'échantillon a été définie de façon à satisfaire au domaine limite d'utilisation de la colonne pour l'Uranium ($V_{inj} < V_{limite}$ pour $n_{inj}(U) \approx 1,3$ nmol), ainsi qu'au rapport [U] / [Pu] caractéristique des combustibles usés (ici, [U] / [Pu] = 187), pour des concentrations d'Uranium et de Plutonium proches de celles des combustibles usés de type UOx. Le tableau 4-6 reprend l'ensemble des conditions initiales et détaille les volumes utilisés pour effectuer les étapes d'injection puis d'élution des différentes fractions :

- le volume d'injection utilisé (1 V_m) est largement inférieur au volume limite calculé pour une concentration initiale d'Uranium de 692 $mg.L^{-1}$: ≈ 10 V_m,
- le volume de collecte des PF est supérieur à V_{inj} + 1,5 V_m (tel que défini au paragraphe 4.3.4.) afin de s'assurer la collecte de la totalité de la quantité injectée : 5 V_m > 1V_m + 1,5 V_m = 2,5 V_m,
- le volume de collecte de l'Uranium (VI) a été fixé à 48 V_m afin d'assurer la collecte de la totalité de la quantité injectée en prenant en compte la traînée du pic identifiée au paragraphe 4.4.2. pour les essais 1 à 4,
- le volume de collecte du Plutonium (IV) a été arbitrairement fixé à 10 V_m.

Tableau 4-6 : Conditions expérimentales utilisées pour la séparation U/Pu/PF.

Descriptif des conditions	
Colonne capillaire	100 µm x 6,5 cm : V_m = 440 nL capacité d'échange = 51 nmol
Débits utilisés	≈ 60 nL.min^{-1} (ΔP ≈ 12 bars) pour HCl 9,5 M (η = 1.73 cP, 25 °C)
Echantillon	[Pu] = 3,7 mg.L^{-1} et [U] = 692 mg.L^{-1} et [Eu] = 52 mg.L^{-1}
Protocole de séparation	
Injection *Volume collecté par fraction d'élution*	V_{inj} ≈ 1 V_m soit n_{inj}(U+Pu) ≈ n_{inj}(U) ≈ 1,3 nmol en milieu HCl 9,5 M • V_{col} (Eu) ≈ 5 V_m (2,061 µL) en milieu HCl 9,5 M • V_{col} (U) ≈ 48 V_m (21,174 µL) en milieu HCl 9,5 M • V_{col} (Pu) ≈ 10 V_m (4,382 µL) en milieu HCl 1 M

La figure 4-16 illustre les résultats obtenus pour la séparation U/Pu/PF réalisées dans les conditions du tableau 4-6 avec les rendements obtenus dans chaque fraction pour l'Europium, l'Uranium et le Plutonium calculés par la relation suivante :

$$rendement(X) = \frac{n_{collectées}(X)}{n_{injectées}(X)} = \frac{[X]_{col} \cdot V_{col}}{[X]_{éch} \cdot V_{inj}} \qquad \textbf{4-10}$$

avec $n_{injectées}$(X) et $n_{collectées}$(X) les quantités injectée et collectée d'élément X, $[X]_{éch}$ et $[X]_{col}$ les concentrations de l'élément X dans l'échantillon de départ et dans la fraction de collecte et V_{col} le volume collecté pour chaque fraction.

Le nouveau protocole de séparation mis en place permet ainsi d'obtenir des rendements pour l'Europium et pour l'Uranium proches de 100 %. L'incertitude sur la valeur des rendements provient majoritairement de l'incertitude sur le volume injecté, mesuré par pesée. De plus, la pureté des deux fractions correspondantes est très satisfaisante avec la présence du seul élément d'intérêt :

- compte tenu des limites de quantification de l'Eu et de l'U par ICP-MS, la quantité d'U dans la fraction PF ainsi que celle de l'Eu dans la fraction U sont inférieures ou égales à 0,06 ng, soit 0,02 % et 0,1 % des quantités injectées au départ respectivement d'Uranium et d'Europium,
- compte tenu de la limite de quantification du ^{239}Pu en spectroscopie alpha (dans notre cas, 8.10^{-3} Bq soit 1,5.10^{-14} mol), ces deux premières fractions contiennent moins de 0,4 % de la quantité de Plutonium injectée au départ.

Ces résultats confirment d'une part l'intérêt du domaine d'utilisation défini afin d'éviter la co-élution PF – U (VI) et d'autre part la rétention élevée de Pu (IV) sur le monolithe en milieu HCl 9,5 M qui permet d'éluer d'abord les PF, puis l'Uranium. Par ailleurs, il est important de noter que le rendement obtenu pour l'Uranium est nettement supérieur à celui obtenu sur résines AGX en milieu HCl : 60 %.

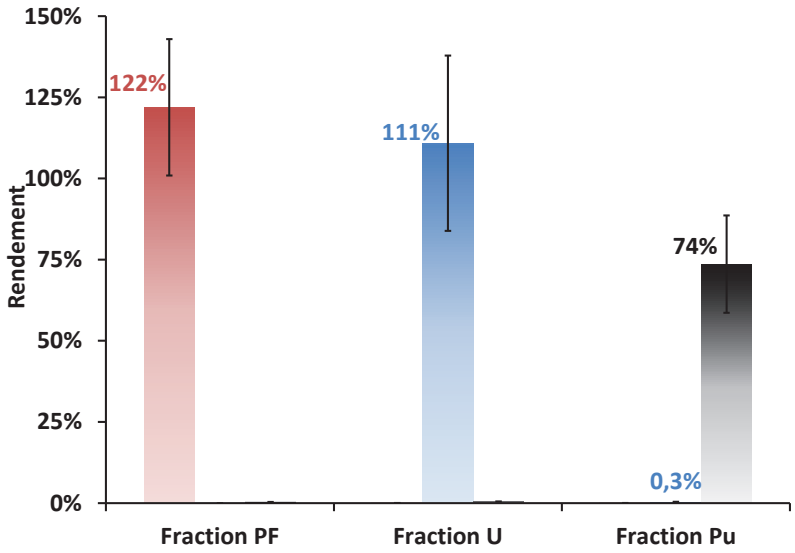


Figure 4-16 : Rendements d'extraction obtenus, dans chaque fraction de collecte, pour l'Europium (rouge), l'Uranium (bleu) et le Plutonium (noir) suivant le protocole de séparation établi au tableau 4-6 pour une colonne capillaire monolithique de longueur 6,4 cm.

Par ailleurs, la figure 4-16 démontre aussi la faisabilité de l'élution du Plutonium sous la forme Pu (IV) seulement par la diminution de la concentration d'HCl dans la phase mobile. Dans ce cas, environ 75 % de la quantité injectée au départ est collectée en 10 Vm. Si l'utilisation de cette phase mobile est plus aisée, elle ne permet pas d'atteindre les performances obtenues pour l'élution du Plutonium sous la forme Pu (III) avec une phase mobile contenant de l'acide iodhydrique : rendement d'environ 100 % avec un volume de 7 V_m. En revanche, ce rendement est là-aussi supérieur à celui obtenu au laboratoire sur les résines AGX en milieu HCl : 60 %.

Malgré cela, la fraction de collecte du Plutonium contient encore une proportion significative d'Uranium : environ 0,3 % de la quantité injectée au départ. Compte tenu du rapport [U] / [Pu] dans l'échantillon de départ, cette présence d'Uranium ne peut être négligée car elle conduit à l'obtention de rapports isotopiques du Pu faussés en spectrométrie de masse TIMS. Le facteur de décontamination calculé ici pour le Pu est le suivant :

$$FD = \frac{[Impureté]_{init} / [Produit]_{init}}{[Impureté]_{fin} / [produit]_{fin}} \quad \textbf{4-11}$$

$$FD = \frac{187}{n_{collectées}(U) / n_{collectées}(Pu)} \quad \textbf{4-12}$$

$$FD = \frac{187}{3{,}15\ pmol / 8{,}28\ pmol} = 491 \quad \textbf{4-13}$$

Ce facteur de décontamination, inférieur à ceux décrits dans l'étude bibliographique pour des séparations U/Pu sur résines (10^4 – 10^5), reste néanmoins très satisfaisant compte tenu du fait que cet essai constitue la première réalisation de séparation chromatographique U/Pu/PF sur colonnes au format miniaturisé.

Par ailleurs, la présence d'Uranium dans la dernière fraction peut s'expliquer par la traînée de son pic d'élution. En effet, comme précisé au paragraphe 4.4.2., cette traînée étant mal simulée, le volume de collecte choisi pour l'élution de l'Uranium peut être trop faible. L'obtention d'une meilleure pureté de la fraction Plutonium peut être alors envisagée simplement en augmentant le volume de collecte de la fraction Uranium.

4.7 Conclusion

L'utilisation d'une nouvelle phase stationnaire (monolithe poly(GMA-co-EDMA) fonctionnalisé), couplée au passage vers une échelle miniaturisée (colonne capillaire) a imposé la modification du protocole de séparation U/Pu/PF. Bien que les comportements observés pour les PF et pour le Plutonium soient équivalents sur les résines AGX et sur le monolithe, cela n'est pas le cas pour l'Uranium. En effet, le rapport des coefficients de distribution mesurés pour l'U (VI) en milieu chlorhydrique sur le monolithe et sur les résines est globalement de 10. Ce comportement inattendu a imposé de repenser le protocole de séparation en éluant successivement les cations trivalents, l'Uranium puis le Plutonium (ordre d'élution de l'Uranium et du Plutonium inversé par rapport au protocole initial).

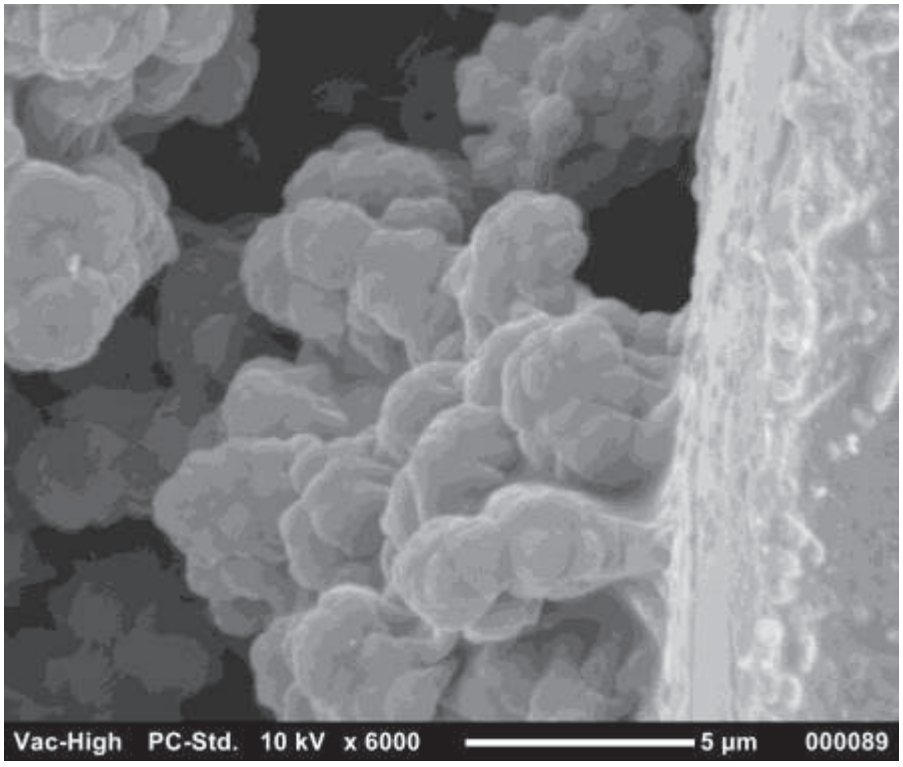
Le développement d'un outil de simulation a ensuite permis de mettre en évidence l'influence de la composition de l'échantillon (concentration d'Uranium) et des conditions d'injection (volume et quantité injectés) sur le profil d'élution de l'Uranium et donc sur sa co-élution avec les PF. Après avoir défini un critère qualifiant cette co-élution, l'extrapolation

des résultats obtenus par simulation a permis de définir les limites du domaine d'utilisation d'une colonne capillaire monolithique de dimensions 100 µm x 6,5 cm, pour lequel, la co-élution PF – U (VI) est évitée. Basé sur ces résultats, un premier essai de séparation U/Pu/PF a conduit à l'obtention de rendements et de puretés de fractions satisfaisants.

Bien que la faisabilité du nouveau protocole de séparation sur colonnes capillaires monolithiques ait été démontrée, la géométrie limitée de ces colonnes ne permet pas d'envisager la réalisation de la séparation U/Pu/PF pour des échantillons réels et des conditions d'injection compatibles avec les analyses isotopiques par TIMS. Par conséquent, le dimensionnement de la colonne intégrée au microsystème devra prendre en compte cette contrainte à l'aide notamment de l'outil de simulation développé afin d'agrandir le domaine d'utilisation.

Chapitre

5 Intégration de la phase stationnaire monolithique à l'intérieur de micro-canaux en COC



Cliché MEB du monolithe poly(GMA-co-EDMA) ancré à la paroi d'un micro-canal en Copolymère d'Oléfine Cyclique

L'étude bibliographique a permis de sélectionner les Copolymères d'Oléfine Cyclique pour la fabrication des microsystèmes séparatifs en raison des nombreux avantages que présente ce thermoplastique comme ses résistances chimique, thermique et mécanique, mais aussi parce qu'il est facilement structurable par pressage à chaud (voir paragraphe 2.2.5). Si l'utilisation du COC s'avère donc particulièrement pertinente pour la fabrication des microsystèmes de séparation U/Pu/PF, elle nécessite néanmoins d'adapter la synthèse par photopolymérisation du monolithe en tenant compte de :

- la transmission optique du COC à 365 nm (longueur d'onde utilisée pour l'initiation photochimique de la polymérisation du monolithe),
- la nécessité d'ancrer le monolithe aux parois des micro-canaux en COC afin de garantir sa résistance mécanique (perte de charge induite par un écoulement hydrodynamique de liquide à travers le monolithe). Or la chimie d'ancrage utilisée pour les synthèses en capillaire de silice n'est pas adaptable dans le cas des canaux en COC,
- la résistance mécanique des microsystèmes fabriqués en COC (perte de charge induite par l'écoulement hydrodynamique de liquide à travers le monolithe),
- la résistance thermique des microsystèmes fabriqués en COC (température de 85 °C utilisée pour la fonctionnalisation du monolithe).

La mise en place de protocoles de synthèse et de fonctionnalisation du monolithe a été conduite à l'aide d'une première génération de microsystèmes dédiés (microsystèmes M1). La fabrication de ces microsystèmes sera décrite dans un premier temps, avant de détailler leur mise en œuvre pour le développement des protocoles de photopolymérisation du monolithe et de fonctionnalisation de surface par le greffage de la TEA adaptés aux micro-canaux en COC.

5.1 Matériels et méthodes

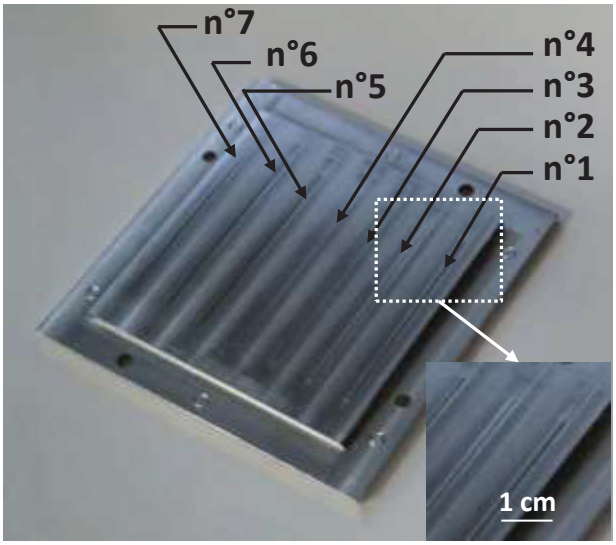
5.1.1 Fabrication des microsystèmes en COC (microsystèmes M1)

La fabrication de l'ensemble des microsystèmes par pressage à chaud ainsi que des moules utilisés pour la réplication (voir paragraphe 2.2.4.), a été effectuée au laboratoire Macromolécules et Microsystèmes pour la Biologie et la Médecine (MMBM, CNRS UMR 168) de l'Institut Curie à Paris.

5.1.2 Fabrication du moule

Le moule utilisé pour la réplication des microsystèmes M1 a été usiné à partir d'une plaque d'aluminium d'une épaisseur de 8 mm à l'aide d'une machine de micro-usinage MiniMill/3 (Minitech) pilotée par le logiciel Mach 3. Le motif des canaux du microsystème a été créé à l'aide du logiciel Catia avant exportation vers la plateforme de micro-usinage. Le

moule métallique obtenu (figure 5-1) permet la fabrication de microsystèmes de forme rectangulaire (7 x 7 cm) intégrant 7 canaux de longueur 4,5 cm et de section variables (voir tableau intégré à la figure 5-1) afin d'étudier l'impact de la géométrie du micro-canal en COC sur la photopolymérisation du monolithe.



Canal	Hauteur (µm)	Largeur (µm)
n°1	250	950
n°2	150	950
n°3	250	450
n°4	150	450
n°5	250	150
n°6	200	100
n°7	150	100

Figure 5-1 : Moule en aluminium utilisé pour la réplication des microsystèmes M1 contenant 7 canaux de dimensions différentes.

Les valeurs regroupées dans la figure 5-1 sont les moyennes de trois mesures, effectuées sur la longueur de chaque canal, à l'aide d'un profilomètre optique Veeco 6 M. Par la suite, seuls les canaux 1 à 4 ont été utilisés en raison d'une dégradation rapide du moule en aluminium conduisant à une trop faible qualité de réplication des autres canaux (défauts sur les parois, voire obstruction totale du canal).

5.1.3 Fabrication du microsystème par pressage à chaud

La réplication des microsystèmes est réalisée par pressage à chaud, de la façon suivante : environ 20 g de granulés de COC 6013 (Topas®, T_g 130 °C), préalablement lavés à l'isopropanol (1h, sous ultrasons), sont disposés à la surface d'un ensemble composé du moule précédemment usiné et d'un cadre métallique solidaire au moule, permettant de confiner le COC durant le pressage comme l'illustre la figure 5-2. La quantité de COC introduite permet de réaliser un microsystème de 7 x 7 cm, d'épaisseur environ 5 mm. Après l'ajout du contre moule, l'ensemble est placé sous une presse hydraulique Atlas Series de la société Specac équipée de plateaux chauffants permettant un pressage thermalisé jusqu'à 15 T et une température de 300 °C. Après thermalisation de l'ensemble à une température de 170 °C (supérieure à la T_g du COC 6013 et choisie par expérience), le pressage à chaud s'effectue sous une pression de 1 T pendant 5 minutes avant de laisser revenir l'ensemble à température

ambiante, sous pression. Finalement, l'ensemble est retiré de la presse puis les différentes pièces sont désolidarisées afin de démouler le microsystème en COC.

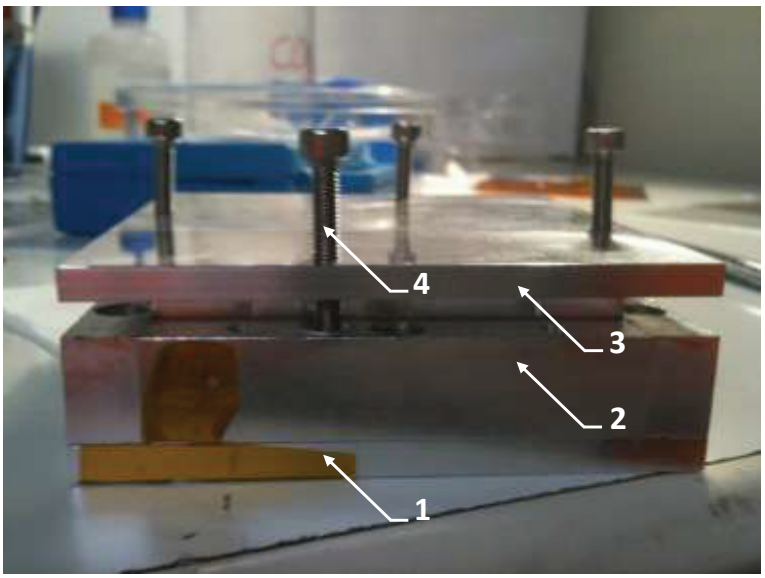


Figure 5-2 : Ensemble permettant la réplication, par pressage à chaud, des microsystèmes M1 : 1. moule, 2. pièce solidaire du moule permettant de confiner les granulés de COC, 3. contre moule et 4 vis de démoulage.

5.1.4 Usinage et connexions

La réalisation des accès d'entrée et de sortie des microsystèmes est nécessaire afin de permettre i. la synthèse du monolithe, ii. sa fonctionnalisation et iii. la caractérisation chromatographique des colonnes obtenues. Les usinages sont réalisés manuellement au moyen d'un forêt de 4,2 mm HSS (Presto) et d'un taraud M5-IS02 (Presto) permettant la création de connexions compatibles avec les connexions chromatographiques commerciales proposées par la société IDEX Health & Science.

La figure 5-3 représente la connexion utilisée (schéma et photographie) afin de connecter les canaux du microsystème au système Nanobaume® (précédemment décrit) ou à une pompe chromatographique ICS 3000 (Dionex). Ce type de connexion et un joint adapté (film FEP épaisseur 0,5 mm, Goodfellow) assure l'étanchéité jusqu'à 30 bars de pression. Toutes les références précisées dans la légende de la figure 5-3 sont extraites du catalogue IDEX Health & Science 2011.

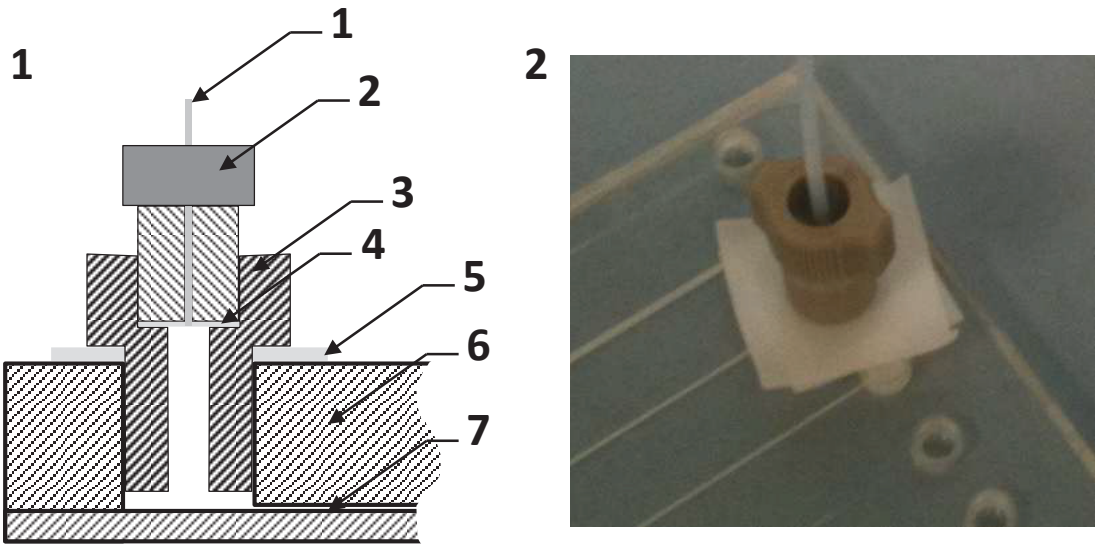


Figure 5-3 : représentation schématique de la connexion chromatographique utilisée pour les microsystèmes (1) : 1. tube chromatographique FEP 1/16'' 1549, 2. Connecteur P-251, 3. Adaptateur 1/4-28 – 10/32 P-672, 4. férule P-250, 5. joint FEP, 6. microsystème en COC et 7. micro-canal ; photographie de la connexion montée sur la colonne n°3 d'un microsystème M1 remplie avec un monolithe poly(GMA-co-EDMA) (2).

5.1.5 Etape de fermeture des micro-canaux (collage d'un capot)

La fermeture des micro-canaux structurés lors de l'étape de fabrication du microsystème est réalisée par le collage d'un film de COC 6013 (TOPAS® F09-61-1, d'épaisseur 381 µm). Après une première étape de lavage du microsystème et du film à l'isopropanol sous ultrasons, une fine couche d'un mélange hexadécane/cyclohexane (25:75 v/v) est déposée à la surface du microsystème à l'aide d'un coton tige. Après un rapide séchage sous air comprimé, le film est déposé sur le microsystème et l'ensemble est soumis à une pression de 2 T pendant 10 à 15 min à une température de 110 °C afin d'assurer l'uniformité du collage et l'étanchéité des micro-canaux.

5.1.6 Photopolymérisation du monolithe à l'intérieur des micro-canaux des microsystèmes M1

La synthèse du monolithe poly(GMA-co-EDMA) à l'intérieur des micro-canaux en COC est réalisée de la façon suivante : la première étape consiste au lavage du micro-canal à l'acide nitrique 68 % afin de retirer toute trace métallique en surface pouvant provenir du moule, puis à l'isopropanol pour retirer cette fois toute contamination organique. Finalement, le micro-canal est séché sous flux d'azote à l'aide du système Nanobaume®. Le mélange réactionnel de polymérisation du monolithe est préparé selon le protocole établi au paragraphe 1.1.2.2. à l'exception de la concentration d'initiateur radicalaire (AIBN) qui est portée à 2,5 % en masse par rapport aux monomères (la concentration utilisée pour les synthèses en colonne capillaire est de 1 %). Le mélange réactionnel est ensuite introduit en continu à

l'intérieur du micro-canal à l'aide du système Nanobaume® sous une pression de 0,5 bar et laissé en circulation pendant 2 h (environ 1,5 mL de mélange réactionnel sont nécessaires pour cette étape). Finalement, la synthèse du monolithe est réalisée sous irradiation UV, dans les mêmes conditions qu'au paragraphe 3.2.4.

Après la polymérisation, le monolithe est rincé à l'acétonitrile à l'aide de la pompe chromatographique ICS 3000, à des débits compris entre 2 et 30 µL.min^{-1} (en fonction de la géométrie du canal), pendant 2 h au minimum.

5.1.7 Caractérisation du monolithe

La qualification du monolithe est réalisée, après chaque synthèse, par la mesure de la perte de charge donnée par la pompe chromatographique (à l'aide du logiciel Chroméléon, Dionex) pour au minimum 4 débits différents imposés. La perméabilité K_0 calculée pour chaque point expérimental (d'après la relation 3.4), permet d'obtenir une moyenne associée à une incertitude correspondant à ± 2 σ. L'évolution linéaire de la perte de charge en fonction du débit appliqué permet de vérifier la résistance mécanique de la colonne monolithique (et donc la qualité de l'ancrage aux parois).

Les clichés MEB des micro-canaux COC remplis de monolithe ont été obtenues après découpe des microsystèmes afin d'obtenir des coupes transversales. Les échantillons obtenus ont été métallisés par dépôt d'une couche d'or.

5.1.8 Fonctionnalisation du monolithe et mesure de la capacité d'échange d'anions

La fonctionnalisation du monolithe synthétisé à l'intérieur des micro-canaux en COC est réalisée de la même façon que pour les capillaires de silice fondue (voir paragraphe 3.2.4.). La réaction est conduite sous flux continu de TEA solubilisée dans un mélange EtOH/Eau 50:50 v/v à des débits compris entre 1 et 5 µL.min^{-1} (en fonction de la géométrie du canal) pendant 4 heures dans un four chromatographique thermostaté à 85 °C. En fin de réaction, la colonne monolithique fonctionnalisée est rincée à l'éthanol aux mêmes débits (fonction de la géométrie du canal), puis avec des mélanges Eau/Ethanol contenant des proportions volumiques d'eau croissantes (25, 50, 75 puis 100 %) pendant 10 minutes à chaque fois.

La mesure de la capacité d'échange de la colonne monolithique fonctionnalisée est réalisée de la façon suivante : tout d'abord la colonne est saturée par une solution de chlorure de sodium 10 mM jusqu'à avoir fait passé une quantité d'ions chlorure n_{Cl^-} (nmol) définie de la façon suivante :

$$n_{Cl^-} = 10 \times CE_a \times V_{col} \qquad \textbf{5.1}$$

avec CE_a la valeur de capacité d'échange déterminée pour les colonnes capillaires en $nmol.\mu L^{-1}$ et V_{col} le volume de la colonne monolithique en µL.

Après une étape de rinçage à l'eau afin de retirer l'excès d'ions chlorures (au minimum 2 h à des débits compris entre 1 et 5 $\mu L.min^{-1}$), l'élution totale des ions chlorures est réalisée avec une solution de nitrate de sodium 50 mM jusqu'à obtenir un volume collecté de 1,5 mL. La mesure de la concentration en ions chlorure dans la solution collectée c_{Cl^-} (mesurée par chromatographie ionique), permet alors de calculer la capacité d'échange d'anions de la façon suivante :

$$CE_a = \frac{c_{Cl^-} \times V_{collecté}}{V_{col}} \quad (en\ nmol.\mu L^{-1}) \qquad \textbf{5.2}$$

Avec $V_{collecté}$ le volume collecté lors de l'étape d'élution (mesuré en masse) et V_{col} le volume de la colonne du microsystème.

5.2 Etat de l'art des méthodes de synthèse de monolithes organiques à l'intérieur de micro-canaux en COC

Si l'initiation UV de la polymérisation du monolithe ne pose pas de problèmes majeurs (la transmittance du COC à 365 nm est équivalente à celle de la silice fondue), son ancrage aux parois du micro-canal en COC reste problématique. En effet, bien que de nombreux protocoles aient été décrits dans la littérature pour l'ancrage des monolithes organiques en capillaire de silice fondue [257], ce n'est pas le cas pour des synthèses en microsystèmes COC. Ainsi, les approches développées, similaires aux méthodes utilisées en capillaire de silice, font d'abord intervenir une étape de fonctionnalisation des parois du COC qui permet ensuite l'ancrage du monolithe lors de sa synthèse. La principale limitation de ces méthodes reste la faible énergie de surface du COC [258] (faible réactivité chimique), constitué uniquement de chaînes aliphatiques saturées. De plus, la fonctionnalisation doit se faire directement à l'intérieur du micro-canal ce qui limite le nombre de techniques envisageables (il n'est par exemple pas possible d'utiliser les techniques de fonctionnalisation induites par plasma d'oxygène [259]). C'est pourquoi, à notre connaissance, les fonctionnalisations de surface des parois de micro-canal sont en général réalisées par traitement photochimique.

Une première solution, proposée par le groupe de Mecomber [260], fait intervenir une fonctionnalisation de surface radicalaire du COC à l'aide d'un azide aromatique perfluoré. Une irradiation UV permet la création d'une forme réactive nitrène, à même de réagir rapidement avec les liaisons C-H de la structure chimique du COC. Cette première

modification de surface est ensuite suivie d'une seconde réaction chimique permettant la fonctionnalisation du COC par une fonctionnalité chimique adaptée à l'application finale.

Une seconde approche concerne la photo-activation des liaisons C-H de la surface du COC via une réaction de « soustraction » d'hydrogène induite par l'utilisation de la benzophenone. S'ensuit alors une polymérisation radicalaire en chaîne initiée, en surface, par les radicaux libres formés. Cette méthode, introduite par Ranby *et al.* [227, 261-263], est d'autant plus efficace que la surface du plastique contient une grande proportion de fonction R_3-C-H et constitue donc une méthode de choix pour la fonctionnalisation du COC. Par le biais de cette méthode, Stachowiak *et al.* [121] ont ainsi fonctionnalisé les parois d'un micro-canal en COC par un monomère méthacrylate hydrophile : le polyéthylène glycol méthacrylate, afin d'éviter l'adsorption de protéines. Le même groupe a par la suite utilisé cette méthode afin de créer plusieurs couches polymériques successives constituées d'acrylamide [96].

La modification de surface du COC par la méthode développée par Ranby a ensuite été utilisée pour l'ancrage des monolithes organiques. Dans ce cas, l'utilisation d'un monomère di ou tri-fonctionnel permet de créer une couche polymérique réactive en surface du COC, (de la même manière que pour la vinylisation des capillaires de silice décrite précédemment), avant la synthèse du monolithe. Cette méthode a été introduite par Stachowiak *et al.*[264] avec la création d'une couche intermédiaire d'éthylène diacrylate avant la synthèse d'un monolithe poly(ButylMéthacrylate-co-EDMA). Le concept a été ensuite amélioré par Ro *et al.* [265] avec la fonctionnalisation du COC par un triacrylate afin d'assurer la création d'une couche contenant une densité plus élevée de fonctions réactives en surface. Si cette méthode est attractive, l'épaisseur de la couche polymérique à la surface du COC est difficilement contrôlable. En effet, la présence en solution à la fois d'un initiateur radicalaire et de molécules méthacrylates réactives peut conduire à la formation d'homopolymères qui ne seront pas nécessairement intégrés à la couche de surface. Par conséquent, cette méthode reste peu reproductible.

Afin de palier à ce problème, une alternative proposée par Stachoviack *et al.* [96] puis par Deverell *et al.* [74] consiste à retirer la couche polymérique créée en surface du COC et à initier l'ancrage du monolithe directement depuis la surface du COC. Comme l'illustre la figure 5-4, la première étape consiste alors à « activer » la surface par la création de sites réactifs « semipinacol ». Ces sites résultent de la soustraction d'un hydrogène de surface par la benzophenone, puis en la « re-combinaison », en surface, des deux radicaux formés. La fonctionnalisation créée est peu stable et il est très facilement possible de recréer deux radicaux, notamment lors de l'irradiation UV utilisée pour initier la synthèse du monolithe. Se faisant, l'ancrage du monolithe est réalisé directement depuis la surface du COC.

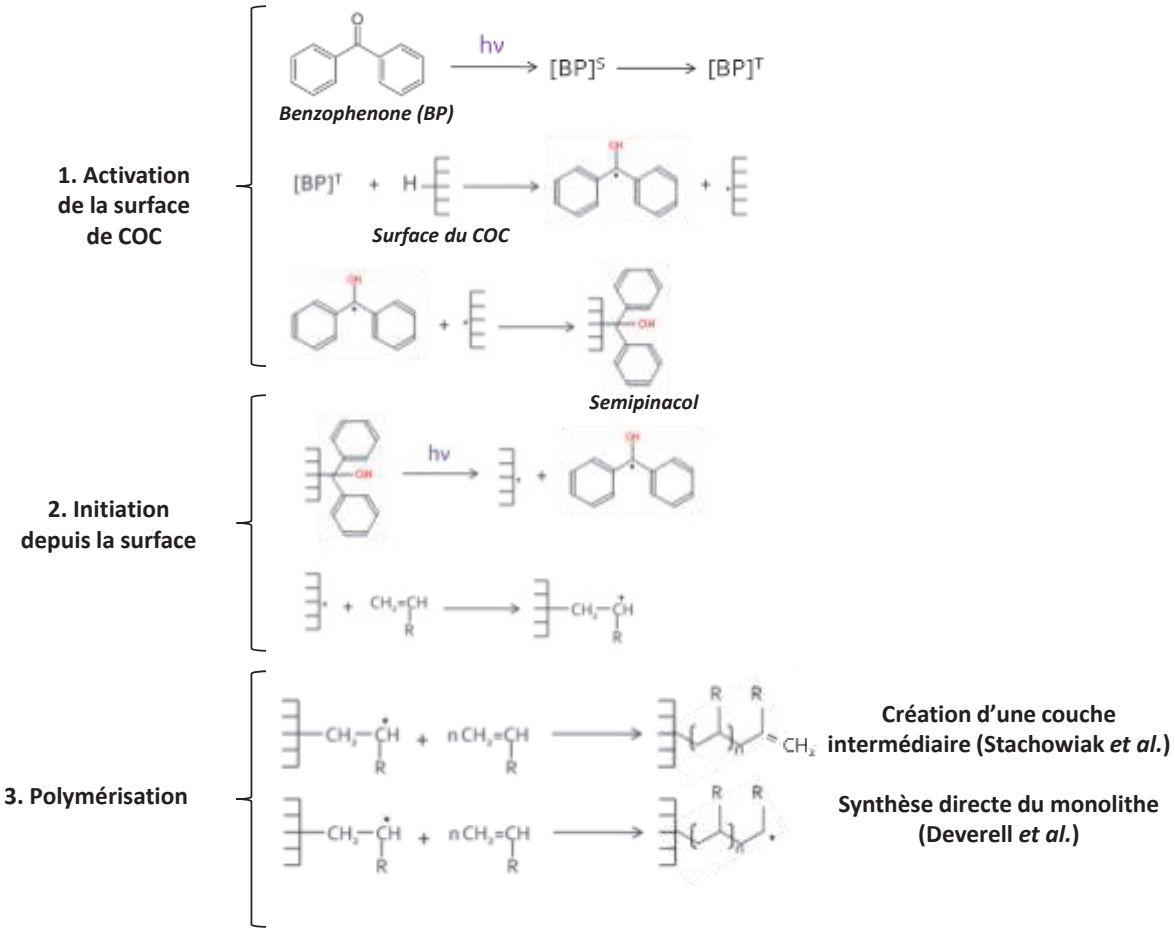


Figure 5-4 : Mécanisme réactionnel d'activation du COC par la benzophénone : ancrage du monolithe depuis une couche polymérique réactive ou directement depuis les parois du COC ; schéma adapté de [266].

Malgré ses nombreux avantages, la fonctionnalisation de surface du COC par la benzophenone pour assurer l'ancrage du monolithe présente trois sérieux inconvénients :

- un processus long, faisant intervenir un grand nombre d'étapes de conditionnement, de lavage pouvant induire un manque de reproductibilité de la méthode,
- selon Ranby [262], la photo-activation de la benzophenone requiert l'utilisation d'une irradiation à 254 nm, peu compatible avec le COC qui présente une transmittance d'environ 20 % à 254 nm (il est important de noter ici que certains groupes ont démontré la possibilité d'utiliser aussi une longueur d'onde de 365 nm [267]),
- la présence d'une couche intermédiaire polymérique pouvant induire un manque d'homogénéité radiale du monolithe, et donc une perturbation des écoulements à l'intérieure de la colonne.

Afin de palier à ces inconvénients, nous avons décidé de développer une méthode alternative en une seule étape, ne faisant intervenir aucun autre réactif que ceux déjà utilisés dans le mélange réactionnel décrit aux chapitres précédents. Le développement du protocole assurant à la fois l'ancrage et la synthèse du monolithe poly(GMA-co-EDMA) a été réalisé à l'aide des microsystèmes M1. Suite à sa validation, un protocole de fonctionnalisation du monolithe par la TEA a été développé en tenant compte des contraintes techniques imposées par le microsystème en COC.

5.3 Conception d'une nouvelle méthode pour l'ancrage et la synthèse simultanée du monolithe poly(GMA-co-EDMA) à l'intérieur des micro-canaux en COC

La résistance mécanique d'un monolithe organique synthétisé à l'intérieur d'un micro-canal est assurée par son ancrage aux parois, et constitue une condition préalable à l'utilisation de la colonne monolithique en chromatographie liquide. Les protocoles d'ancrage décrits dans le cas de micro-canaux en COC sont majoritairement basés sur l'utilisation de la benzophenone. Néanmoins, des essais réalisés au laboratoire ont révélé le manque de reproductibilité de cette méthode témoignant d'un manque significatif de robustesse. C'est pourquoi une nouvelle approche a été envisagée.

L'idée de départ a été d'utiliser l'initiateur radicalaire présent dans le mélange réactionnel (l'AIBN) afin d'assurer l'initiation de la réaction de polymérisation du monolithe à la fois au sein du micro-canal en COC, mais aussi depuis ses parois. L'initiateur doit donc, à l'image de la benzophenone, être capable de soustraire un hydrogène en surface du COC pour créer des sites radicalaires en surface. Ce type de mécanisme est observé pour les initiateurs radicalaires dits de type Norrish II [268]. Dans notre cas, et à notre connaissance, la décomposition de l'AIBN sous irradiation UV n'est pas connue et seule sa décomposition thermique est détaillée [269, 270]. Cette dernière conduit, après coupure homolytique, à la formation de deux radicaux comme l'illustre la figure 5-5 (initiateur dit de type Norrish I [268]).



Figure 5-5 : Décomposition thermique par clivage homolytique de l'AIBN.

Si la décomposition de l'AIBN induite par irradiation UV est avérée, et couramment employée pour la synthèse de monolithes [196, 271], le mécanisme de décomposition n'est

quant à lui pas élucidé. D'ailleurs, Tomasek *et al.* [272] ont récemment montré son aptitude à soustraire un hydrogène d'une surface hydrocarbonée, et donc à réagir aussi comme un initiateur de type Norrish II. Dans ce cas, l'utilisation de l'AIBN a permis le greffage de méthyl méthacrylate sur une surface d'éthylène propylène.

5.3.1 Vérification de la réactivité de l'AIBN vis-à-vis du COC

La première étape a donc consisté à vérifier la réactivité de l'AIBN sur une surface de COC, afin de confirmer les résultats de Tomasek et al. [272].

Pour ce faire, et de la même façon que Stachowiak et al. [96], le greffage du polyéthylène glycol méthacrylate (PEGMA) sur une surface d'un film fin de COC 6013 a été envisagé. Cette fonctionnalisation est possible seulement si l'AIBN est capable d'initier la création de radicaux en surface du COC par soustraction d'hydrogène. L'efficacité de la fonctionnalisation est ainsi aisément suivie par l'évaluation de la variation de l'angle de contact de gouttelettes d'eau mesuré, sur la surface de COC, avant et après fonctionnalisation. Cette variation vient de l'évolution des propriétés physico-chimiques de la surface : passage d'un angle de contact élevé, caractéristique d'un matériau hydrophobe, à un angle de contact faible, caractéristique de la présence, en surface, d'une couche hydrophile.

Ainsi, la solution permettant la fonctionnalisation est obtenue en mélangeant 30 µL d'une solution de polyéthylène glycol méthacrylate à 0,1 M dans l'acétone (PEGMA, Sigma Aldrich) avec 70 µL d'acétone. L'AIBN est ensuite ajouté afin d'obtenir des concentrations comprises entre 0,5 et 5 % en masse par rapport à la quantité de PEGMA. La solution réactive est ensuite déposée en surface d'un film de COC 6013 (381 µm) et recouverte d'un second film. L'ensemble est ensuite irradié à 365 nm pendant des temps compris entre 1 et 30 minutes avec une puissance de 1,4 $mW.cm^{-2}$. Suite à la réaction de greffage, les plaques de COC sont placées successivement dans des bains d'eau ultra pure, puis d'éthanol sous ultrasons pendant 15 minutes, afin de retirer les chaînes polymériques non-ancrées de façon covalente à la surface du COC. Pour chaque durée d'irradiation un blanc est réalisé avec une solution réactive ne contenant pas d'AIBN afin de confirmer que la fonctionnalisation ne s'opère pas sans AIBN. Ainsi, la figure 5-6 (courbe violette) montre une variation non significative de l'angle de contact de l'eau (< 1%), même après 30 minutes d'irradiation.

La figure 5-6 montre l'évolution de l'angle de contact de l'eau mesuré à la surface de films de COC 6013 pour un ensemble de 5 essais de fonctionnalisations par le PEGMA pour des solutions réactionnelles contenant 0,5 %, 2,5 % et 5 % d'AIBN (en masse par rapport au PEGMA). La fonctionnalisation du COC est effective dans les trois cas avec la diminution de l'angle de contact initial (≈ 87 °), après 30 minutes de greffage, jusqu'à des angles de 76, 46 et 63 ° respectivement. D'après ces résultats, la concentration d'AIBN influence l'efficacité de

greffage du PEGMA. Ainsi, une faible concentration conduit à un greffage peu efficace. L'augmentation de la concentration d'AIBN conduit ainsi à l'augmentation de la densité de PEGMA greffé en surface jusqu'à une concentration critique au-dessus de laquelle, elle diminue. Cette tendance a également été observée par Stachowiak *et al.* [96]. Une concentration d'AIBN trop élevée peut ainsi entraîner deux phénomènes :

- l'initiateur agit comme un agent masquant, absorbant la majeure partie du rayonnement incident, qui ne pénètre plus assez dans la solution pour engendrer la réaction radicalaire au niveau de la surface du COC,
- le quenching de l'initiation radicalaire en raison d'une trop forte densité locale de molécule d'initiateur.

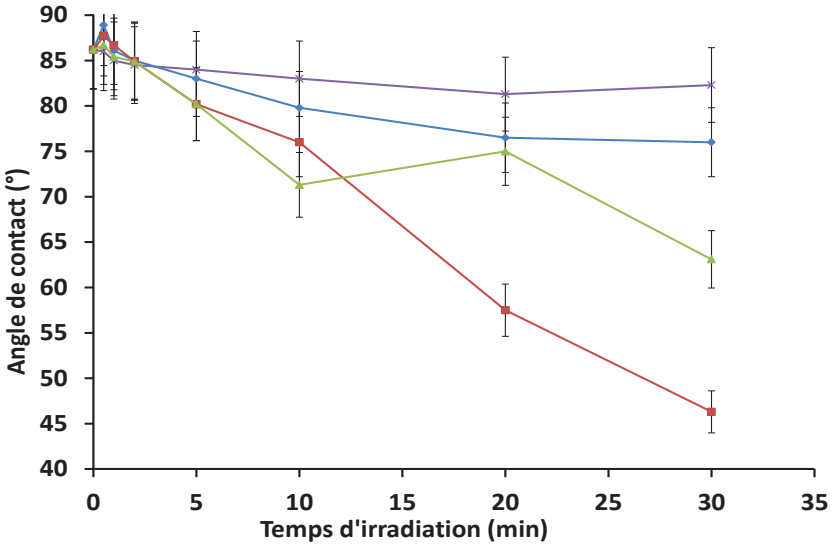


Figure 5-6 : Variation de l'angle de contact de l'eau mesuré à la surface de films de COC 6013 (381 µm) en fonction du temps d'irradiation après fonctionnalisation avec du polyéthylène glycol méthacrylate pour des concentrations en AIBN (en masse par rapport à la quantité de PEGMA) de : 0 % (x), 0,5 % (♦), 2,5 % (■) et 5 % (▲).

Ces résultats semblent confirmer les observations de Tomasek et al. [272] : sous irradiation UV à 365 nm, l'AIBN est capable d'initier des réactions radicalaires depuis la surface du COC. L'étude montre aussi que la concentration d'AIBN optimale pour le greffage du PEGMA en surface du COC est de 2,5 % en masse par rapport au monomère utilisé.

Ces résultats ont été exploités pour réaliser, en une seule étape, à la fois l'ancrage du monolithe (réactivité de l'AIBN avec la surface du COC) et sa polymérisation en chaîne (initiation radicalaire issue de l'activation photochimique de l'AIBN), à l'intérieur des micro-canaux des microsystèmes en COC de type M1.

5.3.2 Développement du protocole de synthèse et d'ancrage simultané du monolithe

Le canal n°4 a été choisi pour cette étude car ses dimensions sont les plus proches de celles des capillaires de silice fondue (sections de 68 µm² et de 8 µm² respectivement).

Par rapport au protocole utilisé en capillaire de silice, la concentration d'AIBN au sein du mélange réactionnel a été augmentée et fixée à 2,5 % en masse par rapport aux quantités cumulées de GMA et d'EDMA. L'hypothèse est alors qu'une partie de la quantité d'initiateur introduite au départ réagisse préférentiellement avec les parois du canal pour assurer l'ancrage, quand la partie restante assure la polymérisation du monolithe. De la même façon qu'en capillaire de silice, le mélange est introduit à l'intérieur du micro-canal puis le microsystème est soumis à une irradiation UV à 365 nm pendant 30 minutes avec une puissance de 1,4 $mW.cm^{-2}$. Les colonnes monolithiques obtenues dans ces conditions sont caractérisées par une perméabilité très élevée, $\approx 46.10^{-14}$ m² (figure 5-8), et les monolithes sont rapidement expulsés du micro-canal dès l'application d'une perte de charge de quelques bars.

L'observation des clichés MEB de la coupe transversale du micro-canal (figure 5-7) met en évidence l'absence de continuité entre le monolithe et les parois. Toutefois, la structure du monolithe apparaît homogène et la dimension des globules proche de celle observée en colonne capillaire. Des agrandissements réalisés à l'interface parois / monolithe permettent néanmoins de constater la présence, à certains endroits, de points d'ancrage du monolithe (formation de petites structures polymériques semblant être ancrées à la paroi en COC). Ces points de contact sont trop peu nombreux pour assurer une résistance mécanique suffisante pour l'utilisation de la colonne monolithique en chromatographie liquide (séparation U/Pu/PF).

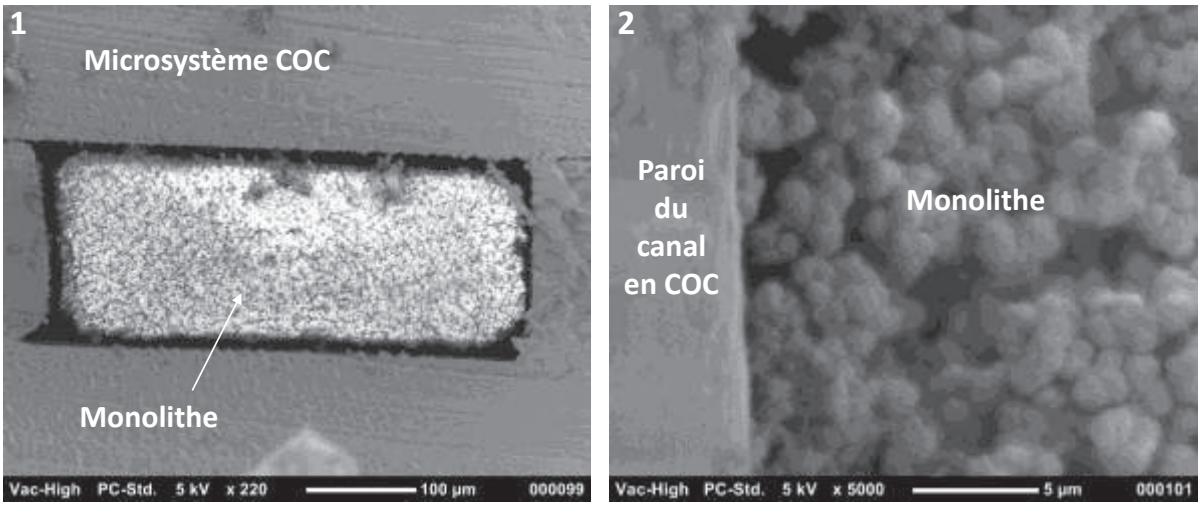


Figure 5-7 : Clichés MEB du monolithe poly(GMA-co-EDMA) synthétisé dans le canal n°4 des microsystèmes M1 avec une concentration d'AIBN de 2,5 % en masse par rapport à la quantité de GMA et d'EDMA : vue générale du canal (1) et zoom sur une partie de la paroi du canal (2).

Bien que ces résultats ne soient pas satisfaisants, ils confirment l'aptitude de l'AIBN à initier à la fois des réactions radicalaires depuis la surface du COC mais aussi au sein du micro-canal. Afin d'améliorer la qualité de l'ancrage, des essais complémentaires ont ensuite été réalisés en augmentant la concentration d'AIBN. Ces essais se sont révélés infructueux.

Une seconde voie d'optimisation a alors été identifiée et concerne l'impact de la quantité d'AIBN présente à proximité de la surface du COC dans les premiers instants de la réaction radicalaire. L'objectif est alors de saturer les parois du COC avec les constituants du mélange réactionnel : monomères méthacrylates (GMA et EDMA) et AIBN. Ceci doit garantir leur présence en grande quantité à proximité directe de la surface lors de l'irradiation UV, afin d'initier des réactions de polymérisation en chaîne depuis la paroi du micro-canal.

Plusieurs essais ont été réalisés en conditionnant de façon dynamique les parois du micro-canal avec le mélange réactionnel (le même qu'utilisé lors des précédents essais), pendant des temps croissants compris entre 10 minutes et 2 heures. L'écoulement continu est assuré par l'utilisation du système Nanobaume®, avec une pression de 0,5 bar. La qualification des monolithes obtenus après polymérisation est réalisée par le suivi de leur résistance mécanique et par la détermination de leur perméabilité (calculée à partir de la relation 3.4). Ainsi la figure 5-8 montre les résultats obtenus avec le temps de conditionnement maximal (2 h) et sans conditionnement. L'obtention d'une relation linéaire entre la perte de charge mesurée et le débit appliqué jusqu'à environ 35 bars montre la résistance mécanique du monolithe et donc la qualité de l'ancrage obtenu de cette façon. Aucune dégradation de l'ancrage n'est observée sur la plage de débits testés (l'augmentation de la pression a par la suite conduit à la dégradation du microsystème avec le décollement du capot).

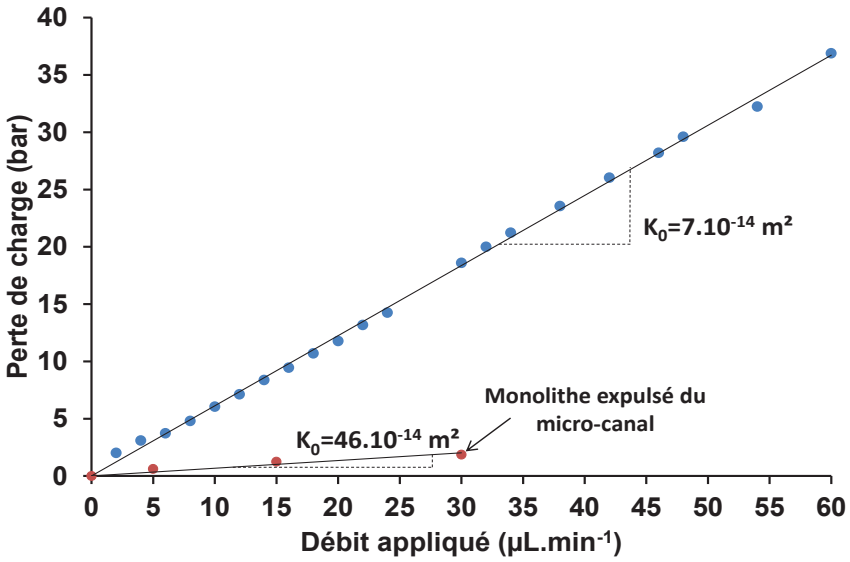


Figure 5-8 : Evolution de la perte de charge mesurée en fonction du débit d'ACN appliqué sur deux monolithes synthétisés dans le canal n°4 de deux microsystèmes M1 : après 2 heures de conditionnement du canal (●), et sans conditionnement (●).

La perméabilité moyenne mesurée sur l'ensemble des points expérimentaux est égale à $7{,}0.10^{-14} \pm 1{,}1.10^{-14}$ m² (l'incertitude de mesure est élevée notamment en raison de la faible précision de la mesure de la perte de charge effectuée par le capteur de pression de la pompe chromatographique ICS 3000 : ± 0,25 bar). L'écart de perméabilité mesuré entre les monolithes synthétisés avec et sans étape de conditionnement est significatif (la perméabilité du monolithe synthétisé sans conditionnement est 7 fois supérieure) et confirme l'influence de l'étape de conditionnement avant la synthèse du monolithe. La figure 5-9 illustre ainsi la qualité de l'ancrage obtenu avec :

- le micro-canal COC totalement rempli par le monolithe (il n'existe aucun espace vide entre ce dernier et les parois),
- la présence de structures polymériques dont la croissance a clairement démarré depuis la surface des parois en COC.

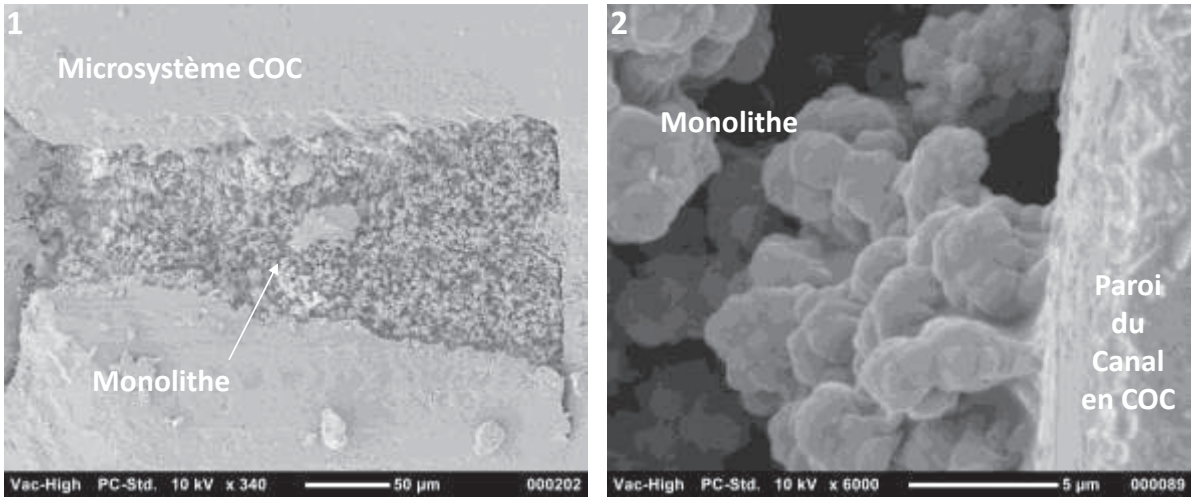


Figure 5-9 : Clichés MEB du monolithe poly(GMA-co-EDMA) synthétisé dans le canal n°4 des microsystèmes M1 avec une concentration d'AIBN de 2,5 % en masse par rapport à la quantité de GMA et d'EDMA, après le conditionnement du canal avec le mélange réactionnel pendant 2 h : vue générale du canal (1) et zoom sur une partie de la paroi du canal (2).

5.3.3 Impact de la géométrie du micro-canal sur la qualité de la synthèse du monolithe

Afin de vérifier l'impact de la géométrie du micro-canal sur la qualité de l'ancrage du monolithe mais aussi sur sa structure polymérique, des synthèses ont été réalisées à l'intérieur des canaux 1, 2 et 3. De la même façon que pour le canal n°4, la mesure de la perméabilité des colonnes monolithiques calculées renseigne à la fois sur la qualité de l'ancrage et sur la structure du polymère formé. Le tableau 5-1 regroupe les valeurs moyennes obtenues pour 3 synthèses dans chaque géométrie de canal. Il semble que pour les géométries testées, la dimension du canal n'influence pas la qualité de la synthèse du monolithe. En effet un test statistique de Student, afin de comparer les moyennes de perméabilité obtenues sur chacun des canaux à la valeur moyenne générale ($6{,}4.10^{-14} \pm 1{,}6.10^{-14}$ m²), a permis de montrer que les moyennes sont égales avec un risque de 5 % : la géométrie du micro-canal n'influence pas la structure du monolithe obtenu.

Tableau 5-1 : Perméabilités mesurées sur des monolithes synthétisés, après conditionnement, dans les canaux n°1 à 4 des microsystèmes M1.

	Canal n°1 (250x950 µm)	**Canal n°2 (150x950 µm)**	**Canal n°3 (250x450 µm)**	**Canal n°4 (150x450 µm)**	**Moyenne générale**
Perméabilité $K_0 \pm 2\sigma$ x 1.10^{-14} (m²)	5,7 ± 1,2	6,0 ± 1,2	6,4 ± 0,6	7,4 ± 0,6	**6,4 ± 1,6**

Finalement la valeur moyenne de perméabilité obtenue sur l'ensemble des synthèses en micro-canaux COC a été comparée avec celle mesurée en capillaire ($5{,}0.10^{-14} \pm 1{,}2.10^{-14}$ m²) à l'aide d'un second test de Student. Bien que ce test ait mis en évidence la différence entre ces deux valeurs, la comparaison des clichés MEB des monolithes synthétisés en colonne capillaire et en micro-canaux (figure 5-10) semble pourtant montrer des structures polymériques équivalentes avec des tailles moyennes de globules égales à environ 1 µm. Nous avons donc été considéré que, d'un point de vue opérationnel, le nouveau protocole de synthèse du monolithe développé pour les micro-canaux en COC était satisfaisant.

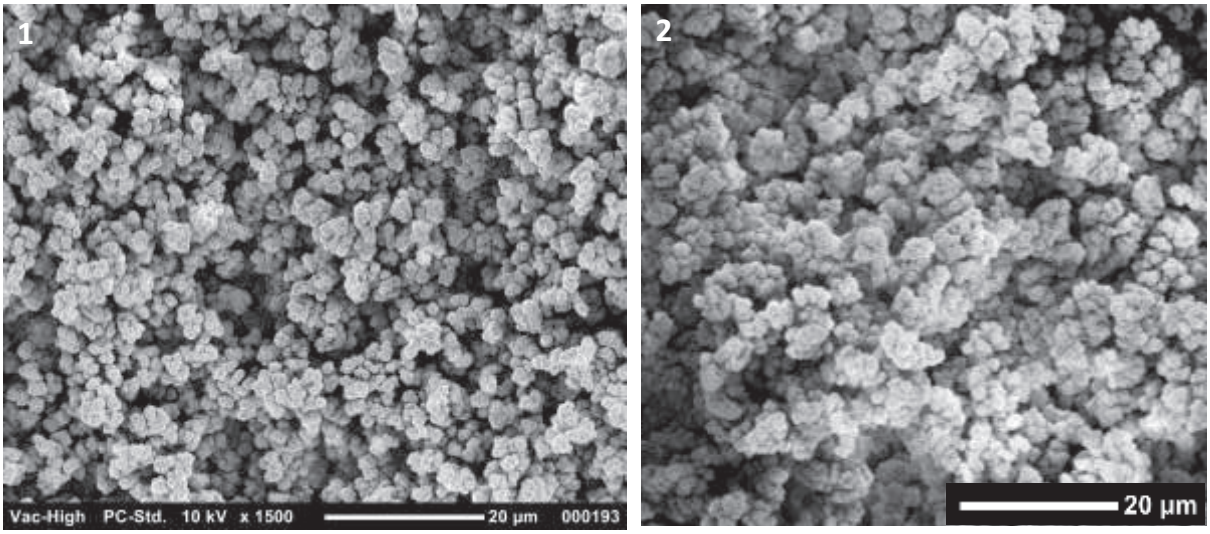


Figure 5-10 : Clichés MEB du monolithe poly(GMA-co-EDMA) : synthétisé 1. dans le canal n°4 des microsystèmes M1 suivant le protocole optimal et 2. dans un capillaire de silice fondue.

Par ailleurs, la mesure de la capacité d'échange du monolithe, après sa fonctionnalisation, permettra aussi d'évaluer la qualité du transfert de synthèse en comparant les valeurs obtenues en micro-canal COC et en capillaire de silice.

5.4 Fonctionnalisation du monolithe synthétisé à l'intérieur des microsystèmes M1

Le transfert de la synthèse du monolithe poly(GMA-co-EDMA) depuis les capillaires de silice fondue vers les micro-canaux en COC a nécessité une importante adaptation des conditions opératoires. La fonctionnalisation s'effectue quant à elle dans les mêmes conditions. Seul le débit utilisé pendant le greffage a été modifié afin de prendre en compte les différences de dimensions entre les colonnes capillaires et les micro-canaux en COC. Dans un premier temps, le débit utilisé lors de la réaction de greffage a été augmenté proportionnellement au rapport des sections entre ces deux types de colonnes. Dans ces conditions, le greffage du monolithe synthétisé dans le canal n°1 aurait dû être réalisé à un

débit de 53 µL.min^{-1}. Or, à ce débit, et avec la phase mobile utilisée pour le greffage (TEA solubilisée dans un mélange Ethanol/eau 50:50 v/v), la perte de charge s'avère beaucoup trop importante (> 35 bar) et conduit très rapidement à la dégradation du microsystème en raison de la combinaison pression / température appliquée (la réaction de greffage est conduite à 85 °C). De ce fait, indépendamment de la dimension des canaux, les débits utilisés lors des réactions de greffage ont par la suite été fixés de façon à correspondre à une perte de charge maximale de 5 bars (aucune dégradation du microsystème n'a été constatée lors de réactions de greffage conduites ainsi). Les débits appliqués sont alors de l'ordre de quelques microlitres par minute au maximum.

Après 4 h de réaction de fonctionnalisation, les colonnes monolithiques sont rincées à l'éthanol puis avec des phases mobiles contenant une proportion croissante d'eau, jusqu'à atteindre une phase mobile totalement aqueuse. En effet, nous avons constaté qu'un passage trop brutal d'une phase mobile composée à 100 % d'éthanol à une phase mobile totalement aqueuse provoque une dégradation significative de l'ancrage du monolithe suite à une forte rétractation des chaînes polymériques. Une telle observation a déjà été mentionnée par Smirnov *et al.* [203] avec la synthèse d'un monolithe poly(divynilbenzène-co-éthylvinylbenzène-co-2-hydroxyéthyl méthacrylate) à l'intérieur d'un capillaire de silice fondue. Pratiquement, l'utilisation de phases mobiles constituées successivement de 25, 50, 75 et 100 % d'eau permet de conserver l'ancrage du monolithe (résistance mécanique testée jusqu'à 20 bars).

La qualification des colonnes monolithiques échangeuses d'anions obtenues a été réalisée par la mesure de la capacité d'échange. La valeur moyenne, mesurée sur 3 monolithes fonctionnalisés synthétisés dans la colonne n°3 du microsystème, est de 96 ± 11 nmol.µL^{-1}. Cette valeur, très proche de celle obtenue pour les colonnes capillaires (100 nmol.µL^{-1}), est satisfaisante et permet de confirmer que la structure monolithique obtenue en micro-canal COC est équivalente à celle obtenue dans les capillaires de silice fondue.

5.5 Conclusion

Si la synthèse du monolithe poly(GMA-co-EDMA) est parfaitement maîtrisée en capillaire de silice fondue, son transfert vers des micro-canaux en COC a nécessité une forte adaptation. Le principal verrou a concerné l'ancrage du monolithe, lors de sa synthèse, aux parois en COC. Si quelques méthodes avaient précédemment été décrites, aucune ne permettait de garantir la robustesse et la reproductibilité de la synthèse. C'est pourquoi une nouvelle approche a été développée, avec l'utilisation d'aucun autre réactif que ceux déjà présents dans le mélange réactionnel de synthèse du monolithe. Ainsi, l'augmentation de la concentration de l'initiateur radicalaire utilisé (dans notre cas, l'AIBN), combinée à un

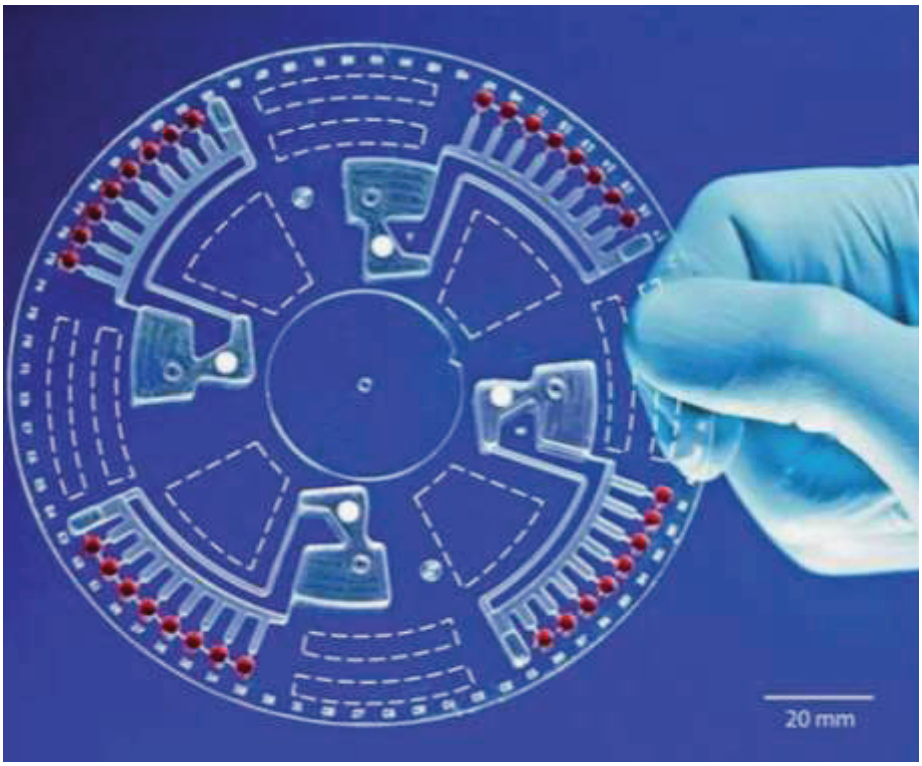
conditionnement dynamique prolongé du micro-canal COC par l'écoulement continu du mélange réactionnel permet d'obtenir à la fois la synthèse du monolithe et son ancrage aux parois du canal. Cette approche permet d'obtenir un monolithe, dont la résistance mécanique est largement satisfaisante (jusqu'à 30 bar) et dont la structure polymérique est équivalente à celle du même monolithe synthétisé en capillaire de silice fondue (taille moyenne des globules égale à 1,1 µm).

L'adaptation du protocole de fonctionnalisation du monolithe par l'ajustement du débit utilisé lors du greffage de la TEA (en fonction des dimensions du canal, et de la résistance mécanique du microsystème) a permis d'obtenir une capacité d'échange égale à celle obtenue en capillaire de silice fondue ou sur monolithe au format macro : environ 100 $nmol.\mu L^{-1}$.

Bien que les microsystèmes M1 aient à la fois permis de maîtriser l'ensemble du protocole de fabrication de microsystèmes en COC (pressage à chaud puis collage du capot) et d'adapter les protocoles de synthèse et de fonctionnalisation du monolithe, ils ne sont pas adaptés à la mise en œuvre de la séparation U/Pu/PF. Ces microsystèmes constituent une étape intermédiaire vers la conception et la fabrication d'un microsystème séparatif adapté, de type lab-on-CD.

Chapitre

6 Microsystème « lab-on-CD » dédié à la séparation U/Pu/PF



Microsystème lab-on-CD pour l'amplification d'ADN [273]

Comme expliqué lors de l'étude bibliographique, l'utilisation de microsystèmes de type « lab-on-CD » apparait particulièrement adaptée à l'étude : l'intérêt principal concerne la gestion des phases mobiles acides sans utilisation de connexion et d'appareillage externe. De plus, les lab-on-CD présentent aussi de nombreux avantages dans leur mise en œuvre :

- simplicité/automatisation : l'écoulement des fluides est simplement réalisé grâce au design du microsystème, par l'application de la force centrifuge, et donc de la rotation du disque à différentes vitesses angulaires. Très facilement automatisés, l'utilisation des lab-on-CD limite fortement la présence de l'opérateur et participe donc à limiter son exposition aux échantillons irradiants,
- parallélisation : la symétrie du disque permet d'envisager d'intégrer plusieurs colonnes de séparation sur le même disque,
- géométries complexes : comme nous le décrirons par la suite, il est possible d'intégrer facilement des vannes, des mélangeurs ou des chambres de collection sur lab-on-CD. Il est aussi possible d'effectuer des injections calibrées en volume.
- maintenance de l'appareillage : un seul moteur est nécessaire à la mise en œuvre du microsystème. En raison de l'environnement corrosif et fortement irradiant, la réduction de l'appareillage à son minimum facilite et diminue le coût de la maintenance.

Les spécificités des lab-on-CD sont détaillées au début de ce chapitre. La seconde partie sera consacrée à la conception d'un prototype de lab-on-CD appliqué à la séparation U/Pu/PF avec : le dimensionnement du système ainsi que son fonctionnement. Finalement, après la mise en place d'un protocole de synthèse localisée du monolithe au sein du microsystème et la modélisation des débits induits par la force centrifuge au travers de la colonne monolithique, une première utilisation de l'outil développé a permis de démontrer la faisabilité de l'extraction de certains produits de fission contenus dans une matrice chargée d' Uranium (conditions proches de celles des combustibles nucléaires usés de type UOx).

6.1 Historique et intérêts des lab-on-CD

L'apparition des premiers systèmes miniaturisés utilisant l'écoulement centrifuge a eu lieu à la fin des années 1960 avec le développement du « Centrifugal Analyzer » par l'équipe de Anderson [274] au laboratoire national d'Oak Ridge (figure 6-1). Ce premier dispositif est alors destiné à l'analyse chimique d'échantillons cliniques. Durant les dix années suivantes, ces nouveaux systèmes centrifuges ont connu un essor significatif grâce à leur simplicité de mise en œuvre et la possibilité de couplage avec une détection optique par transmittance UV-visible ou par fluorescence [275].

Une vingtaine d'années plus tard, les systèmes centrifuges ont connu un net regain d'intérêt notamment grâce aux travaux des équipes de Madou [276] et de Ducrée [277] mais aussi avec la création de la société Gyros [278]. Les systèmes développés, dorénavant nommés « LabCD » ou « Lab-on-CD » sont utilisés comme outils de criblage [279], de diagnostic ou d'immuno-essais [103].

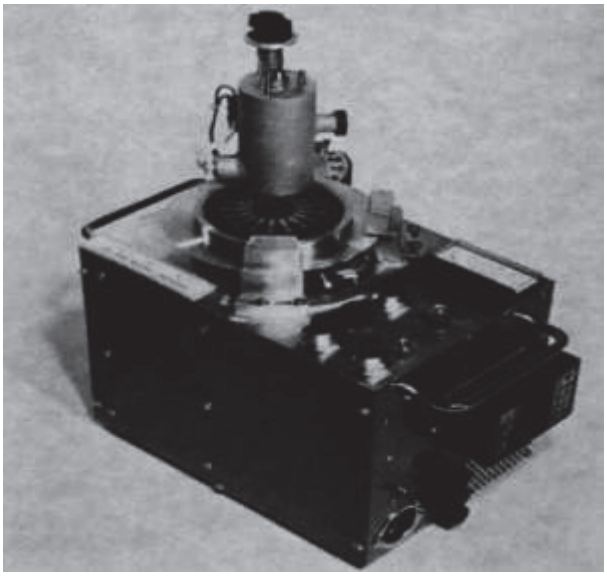


Figure 6-1 : L'analyseur centrifuge du groupe d'Anderson, 1960 [274].

Ce n'est que plus récemment que Penrose *et al.* [106], puis Lafleur *et al.* [104] ont démontré l'intérêt d'utiliser les lab-on-CD pour la chromatographie ou pour l'extraction sur phase solide respectivement. Par la suite, l'équipe de Salin a d'ailleurs utilisé les lab-on-CD pour l'analyse environnementale des nitrites et nitrates [280], du chrome hexavalent [281] ou de contaminants métalliques à l'état de traces [105] en couplant les systèmes séparatifs centrifuges à la spectrométrie de masse par ablation laser notamment.

6.2 Ecoulements induits par centrifugation

Les microsystèmes sur disque, ou « lab-on-CD », sont donc caractérisés par leur forme circulaire et par l'écoulement des liquides depuis le centre vers l'extérieur du disque (figure 6-2). La mise en mouvement du liquide, à l'intérieur d'un micro-canal est alors simplement dû à l'application de la force centrifuge et dépend de la vitesse de rotation, de la géométrie des micro-canaux, de la position et des propriétés du liquide en mouvement (viscosité, masse volumique, etc…) [282]. La prise en compte de l'ensemble de ces paramètres permet de décrire la relation entre la force centrifuge appliquée (proportionnelle à la vitesse de rotation) et le débit induit dans un micro-canal.

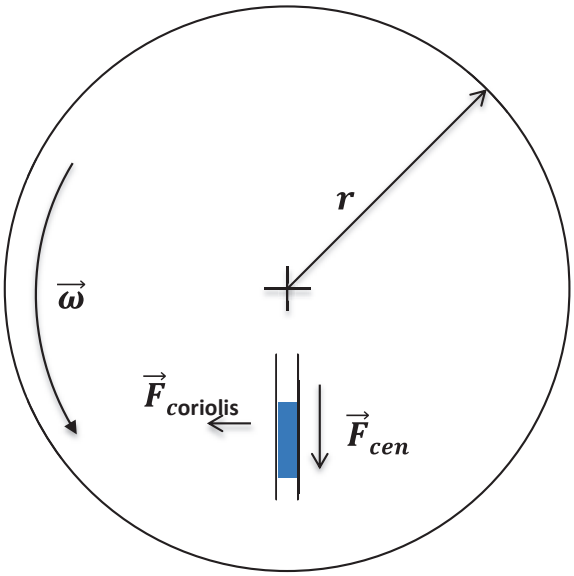


Figure 6-2 : Géométrie des lab-on-CD et forces mises en jeu dans l'écoulement de liquides.

6.2.1 Expression du débit induit par la force centrifuge à l'intérieur d'un canal vide de section rectangulaire

On définit le débit volumique à l'intérieur d'un canal vide par [282] :

$$D = u \,.\, A \qquad \textbf{6-1}$$

avec D le débit, u la vitesse linéaire et A la section du canal dans lequel s'écoule le liquide. La loi d'Hagen-Poiseuille permet de décrire le débit, D ($m^3.s^{-1}$), d'un fluide incompressible de viscosité η (Pa.s), à l'intérieur d'un conduit de section rectangulaire de largeur l, de hauteur h et de longueur L (m), pour une perte de charge ΔP (Pa), de la façon suivante [283] :

$$D = \frac{l h^3 \Delta P}{12 \eta L} \qquad \textbf{6-2}$$

De la même façon, la vitesse ($m.s^{-1}$) est exprimée par :

$$u = \frac{h^2 \Delta P}{12 \eta L} \qquad \textbf{6-3}$$

Dans un microsystème de type lab-on-CD, la perte de charge nécessaire à l'écoulement du liquide est induite par la force centrifuge, $F_{centrifuge}$ [284] :

$$F_{centrifuge} = \rho \omega_c^2 \bar{r} \Delta r \qquad \textbf{6-4}$$

avec ρ la masse volumique du liquide ($kg.m^{-3}$), ω la vitesse angulaire ($rad.s^{-1}$) et r le rayon du disque (m). Par analogie avec l'équation 6-5, Duffy *et al*. [285] ont décrit la vitesse linéaire, u ($m.s^{-1}$), d'un liquide (de masse volumique ρ), à l'intérieur d'un micro-canal vide de lab-on-CD par :

$$u = \frac{D_h^2 \rho \omega^2 \bar{r} \Delta r}{32 \eta L} = \frac{(4r_h)^2 \rho \omega^2 \bar{r} \Delta r}{32 \eta L} \qquad \textbf{6-5}$$

avec D_h le diamètre hydraulique du canal rectangulaire défini par :

$$D_h = \frac{4A}{P_m} = 4r_h \qquad \textbf{6-6}$$

avec A la section du canal (m^2), P_m le périmètre mouillé du canal (m) et r_h le rayon hydraulique du canal (m).

Les quantités $\bar{r}$ et Δr de l'équation 6-5 représentent respectivement la distance moyenne entre la position du liquide dans le canal et le centre du disque, et l'extension radiale du liquide, exprimées par :

$$\bar{r} = \frac{(r_1 + (r_0 - H))}{2} \qquad \textbf{6-7}$$

$$\Delta r = r_1 - (r_0 - H) \qquad \textbf{6-8}$$

avec les termes r_0, r_1 et H (m) caractérisant le volume de liquide pompé comme illustré par la figure 6-3. L'expression du débit est ensuite donnée par :

$$D = u \,.\, A = \frac{(4r_h)^2 \rho \omega^2 \bar{r} \Delta r}{32 \eta L} \times A = \frac{(4r_h)^2 \rho \omega^2 \bar{r} \Delta r}{32 \eta L} \times lh \qquad \textbf{6-9}$$

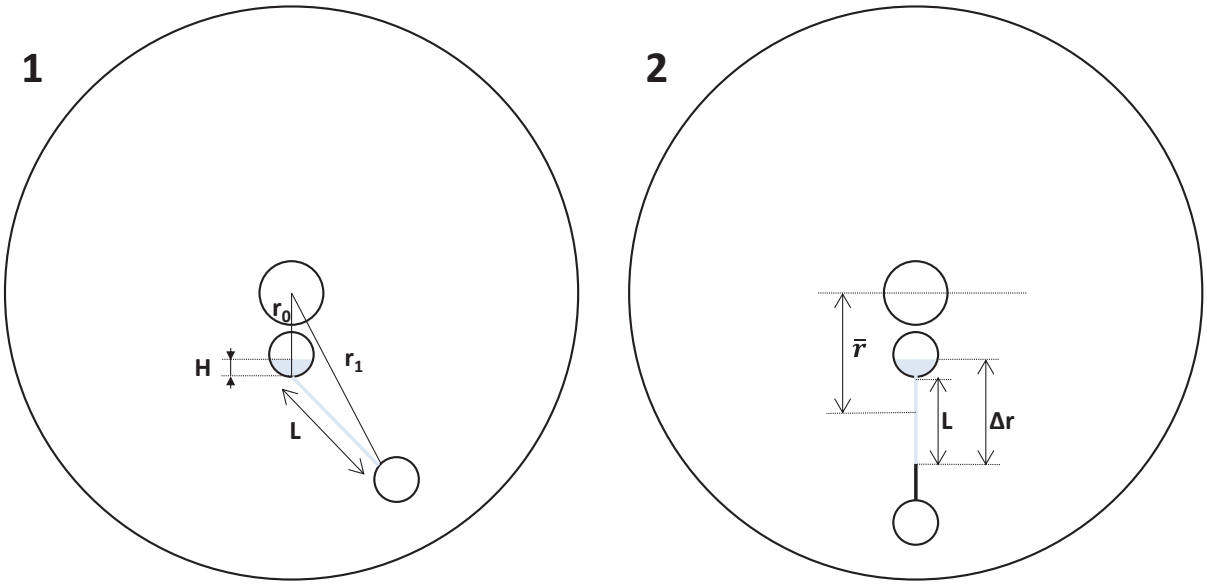


Figure 6-3 : Représentation des paramètres décrivant le débit induit par la force centrifuge sur lab-on-CD, (1) d'après [285] et (2) d'après [286].

L'équation 6-9 permet de décrire de façon précise le débit induit par la force centrifuge comme l'ont montré Duffy *et al.* [285] pour des débits compris entre 0,6 $\mu L.min^{-1}$ et 6000 $\mu L.min^{-1}$ pour des vitesses de rotation comprises entre 400 et 1600 $tr.min^{-1}$ (41,8 et 167,5 $rad.s^{-1}$) et des canaux de sections croissantes de 20 x 16 μm^2 à 500 x 340 mm^2. Ces travaux illustrent l'amplitude des débits utilisables sur lab-on-CD, ici 10^4, comparable à celle des pompes chromatographiques par exemple et très largement supérieure à celle des débits induits par électroosmose (entre 10 et 1000 $nL.min^{-1}$ [286]).

Toutefois, il est important de noter que la relation 6-9 néglige l'effet de friction du liquide sur les parois dû à la force de Coriolis. Si cette force est négligeable à faible vitesse angulaire, Maruyama et Maeuchi [66] ont montré que l'augmentation de la force de friction ne peut plus être négligée à vitesse angulaire élevée (dépend de la géométrie du micro-canal). À ces vitesses, le débit prédit est généralement supérieur au débit mesuré.

6.2.2 Expression du débit induit par la force centrifuge à l'intérieur d'un canal de section rectangulaire, rempli de particules poreuses

De façon à décrire le débit induit par la force centrifuge au travers d'une colonne remplie de particules poreuses, Penrose *et al.* [106] ont proposé de modifier l'équation 6-11 afin de s'approcher d'une relation analogue à celle de la loi de Darcy. L'expression du débit fait alors intervenir le rayon hydraulique de la colonne remplie, noté $r_{h,remplie}$, et suppose que :

- aucun pore n'est bloqué,
- la distribution poreuse est aléatoire,
- la porosité externe n'est pas trop élevée ($\varepsilon_{ext} < 0,6$),

- l'écoulement est considéré comme la somme d'écoulements à travers un lot de capillaires.

Le rayon hydraulique est alors défini comme le rapport du volume poreux par la surface mouillée. Dans le cas d'une colonne particulaire, il est alors possible d'écrire [287] :

$$r_{h,remplie} = \frac{\varepsilon_{ext}}{a_s(1-\varepsilon_{ext})} \qquad \textbf{6-10}$$

avec ε_{ext} la porosité externe de la colonne particulaire et a_s la surface spécifique ($m^2.g^{-1}$) définie par :

$$a_s = \frac{surface\ mouillée}{volume\ de\ solide} = \frac{surface\ spéficique\ des\ particules}{volume\ des\ particules} \qquad \textbf{6-11}$$

$$a_s = \frac{\pi d_p^2}{\pi/6\, d_p^3} = \frac{6}{d_p} \qquad \textbf{6-12}$$

Avec d_p le diamètre des particules. La combinaison des relations 6-10 et 6-12 donne alors :

$$r_{h,packed} = \frac{\varepsilon_{ext} d_p}{6(1-\varepsilon_{ext})} \qquad \textbf{6-13}$$

Finalement, en intégrant la relation 6-13 dans l'expression 6-9, le débit induit par la force centrifuge à l'intérieur d'un micro-canal rempli de particules est donnée par :

$$D = \left(\frac{\left(4r_{h,remplie}\right)^2 \rho\omega^2 \bar{r}\Delta r}{32\eta L_{eff}}\right) \times hl\varepsilon_{ext} = u_{packed}\,.\,A \qquad \textbf{6-14}$$

avec L_{eff} la longueur effective de colonne, caractérisée par :

$$L_{eff} = L \times T \qquad \textbf{6-15}$$

avec T le facteur de tortuosité qui permet de tenir compte de la sinuosité du parcours du fluide au travers de la colonne particulaire [287].

Penrose *et al.* ont montré un accord très satisfaisant entre le modèle proposé et le débit de phase mobile Méthanol/eau 50:50 v/v mesuré sur leur lab-on-CD comme l'illustre la figure 6-4 avec l'utilisation d'un lab-on-CD constitué d'une chambre d'injection de l'échantillon, d'un réservoir de phase mobile et d'une colonne remplie de particules de silice greffées de

diamètre 5,8 µm. Le débit maximal mesuré ici, environ égal à 4,5 µL.min^{-1} (u = 0,57mm.s^{-1}) pour 3500 tr.min^{-1}, démontre la différence significative d'amplitude de débits utilisables dans le cas des canaux vides (voir paragraphe 3.4.2.1) et remplis.

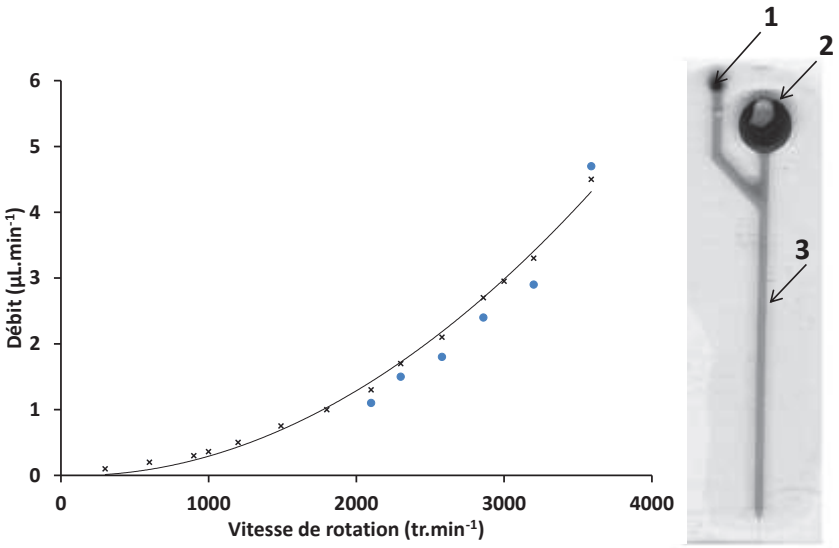


Figure 6-4 : Comparaison de débits prédits (x) et mesurés (●) au travers de la colonne remplie de particules (représentée à droite) ; 1. réservoir d'échantillon, 2. réservoir de phase mobile et 3. colonne de séparation, adaptée [106].

A notre connaissance, aucun exemple de la littérature ne traite de la modélisation des débits induits par la force centrifuge au travers de colonnes monolithiques. Etant données les différences structurales entre les colonnes remplies de particules et les colonnes monolithiques, le modèle proposé par Penrose nécessite une adaptation.

6.3 Opérations fluidiques intégrables sur lab-on-CD

6.3.1 Contrôle de l'écoulement par l'intermédiaire de vannes

Dans tout système fluidique, les vannes permettent de contrôler les écoulements en stoppant ou en laissant passer les fluides. Dans le cas des lab-on-CD, on classe ces vannes en deux catégories [103] : les vannes passives et les vannes actives. La figure 6-5 (A, B et C) illustre, dans un premier temps, le principe des principales vannes passives :

- les vannes capillaires sont les plus employées sur lab-on-CD. Le principe de fonctionnement est basé sur la création d'une restriction géométrique placée entre deux réservoirs successifs du lab-on-CD. Le liquide venant de la zone en amont est alors bloqué à l'entrée de la restriction tant que la force centrifuge F_{cen} est inférieure à la force capillaire F_{cap} comme l'ont démontré Duffy *et al.* [285] :

$$F_{centrifuge} = \rho\omega_c^2\bar{r}\Delta r < a\left({}^{4\gamma}/_{4r_h}\right) + b = F_{cap} \qquad \textbf{6-16}$$

avec ω_c la vitesse angulaire critique (rad.s^{-1}) (permettant le franchissement de la restriction), a un facteur tenant compte de la formation de goutte non-sphérique (dans un canal de forme rectangulaire généralement), b la pression requise pour mouiller la zone en aval de la restriction et γ la tension de surface induite dans la restriction. Badr *et al.* [288] ont montré le bon accord entre les pressions critiques expérimentales et prévues pour une suite de vannes capillaires en série. Ce type de vanne est aisément intégrable en lab-on-CD [284], notamment avec l'utilisation de capillaires de silice de faible diamètre interne comme l'ont montré Lacroix-Fralish *et al* [289].

- les vannes hydrophobes sont constituées par une restriction géométrique hydrophobe [286] : simplement grâce à la création d'une très forte restriction (si le matériau constitutif du microsystème est hydrohobe), soit par l'intermédiaire d'une fonctionnalisation hydrophobe localisée. Ces vannes sont utilisées par la société Gyros sur leur CD Bioaffy® [290].
- les vannes siphon sont utilisées dans les plateformes d'analyses biologiques, principalement pour les étapes qui impliquent des vitesses de rotation faibles [284]. En effet, le liquide ne peut remplir le siphon qu'à basse vitesse de rotation, où la force capillaire est supérieure à la force centrifuge. Une fois la crête du siphon atteinte, la zone en amont de la vanne siphon est entièrement vidangée.

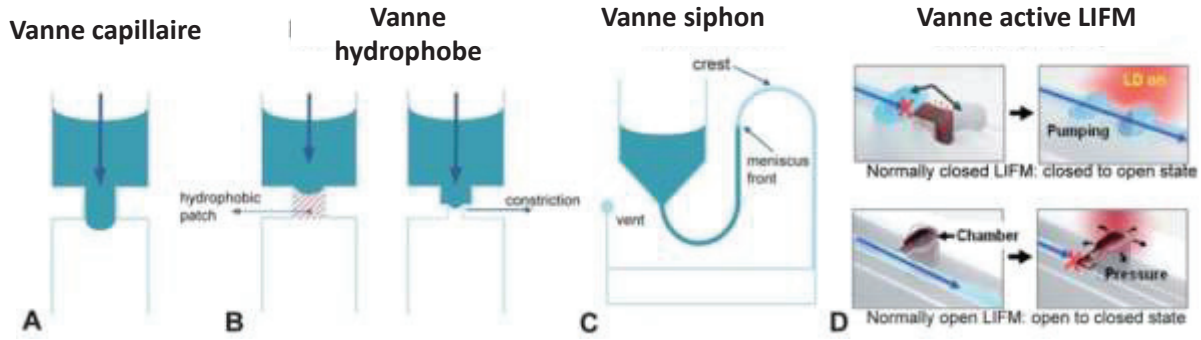


Figure 6-5 : Vannes passives (A, B, C) et actives (D) intégrables en lab-on-CD.

La principale différence entre les vannes passives et actives concerne leur moyen de contrôle. En effet, si les vannes passives sont contrôlées par un ensemble de paramètres (géométrie, vitesse angulaire, force capillaire, force de mouillage, etc …), les vannes actives ne dépendent pas des propriétés physico-chimiques du microsystème et du liquide pompé, mais sont activées directement depuis l'extérieur du microsystème. C'est par exemple le cas

des vannes LIFM pour Laser Induced Ferrowax Microvalves dont l'utilisation permet le contrôle multiplexé de plusieurs vannes sur le même système avec une rapidité d'exécution inférieure à 0,5 s [291]. Ces vannes sont composées de nanoparticules de fer dispersées dans une matrice solide de paraffine. L'excitation laser des nanoparticules induit un échauffement localisé conduisant à la fonte de la paraffine et donc à l'ouverture ou la fermeture de la vanne comme le montre la figure 6-5 (D).

L'intégration de vannes capillaires au sein du microsystème de séparation U/Pu/PF pourrait ainsi permettre de libérer les différentes phases mobiles au moment voulu simplement en ajustant la vitesse de rotation comme le montre l'équation 6-16 : d'abord l'injection de l'échantillon, puis la phase mobile HCl 9,5 M pour l'élution des PF et de l'Uranium et enfin la phase mobile HCl 1 M pour l'élution du Plutonium. Récemment, Seo *et al.* [292] ont utilisé ce principe pour libérer successivement trois phases mobiles différentes afin de réaliser l'extraction sélective d'acide ribonucléique.

6.3.2 Mesure volumétrique (injection calibrée en volume)

La mesure volumétrique est essentielle à la mise en œuvre d'un microsystème séparatif afin d'injecter un volume précis et reproductible d'échantillon. Cette fonction est réalisée sur lab-on-CD pour un canal de trop-plein connecté à la chambre d'injection. Le canal de trop-plein permet alors, une fois la chambre d'injection remplie, d'évacuer l'excès d'échantillon vers une poubelle. Steigert *et al.* [293] ont ainsi montré l'injection reproductible de 300 nL avec un coefficient de variation de 5 %.

L'injection d'un volume calibré n'est pas indispensable dans le cadre de la séparation U/Pu/PF grâce à la spectrométrie de masse à multi-collection, couplée à l'utilisation de la méthode de la double dilution isotopique qui permet de retrouver la quantité injectée au départ [294]. Néanmoins, dans le cadre d'autres applications envisageables pour le microsystème développé (voir conclusions du manuscrit), l'injection d'un volume calibré sera nécessaire au suivi des rendements d'extraction par exemple.

6.3.3 Mélangeur

Le mélange de réactif peut s'avérer intéressant en microfluidique afin d'homogénéiser un échantillon ou pour dissoudre un réactif solide pré-embarqué sur le système par exemple [281]. Dans le cas des lab-on-CD, il est possible d'homogénéiser rapidement un liquide simplement en faisant tourner successivement le disque dans les sens horaires, puis anti-horaire [295].

L'intégration d'un mélangeur peut aussi être envisagée pour la conception d'un microsystème de séparation U/Pu/PF plus évolué. Il pourrait ainsi permettre de réaliser les

étapes de traitement rédox de l'échantillon par exemple en mélangeant l'échantillon de départ avec un agent oxidant du Plutonium III, et donc de les coupler directement, sur le même système, à la séparation chromatographique.

6.3.4 Orientation de l'écoulement des liquides

D'une façon générale, l'orientation d'un liquide à l'intérieur d'un système fluidique est réalisée par l'ouverture ou la fermeture de vanne. C'est aussi le cas sur les microsystèmes lab-on-CD, par l'intermédiaire des vannes passives ou actives. Une possibilité supplémentaire, spécifique aux lab-on-CD, consiste à diriger le liquide, en utilisant une géométrie de canal en Y et la force de Coriolis (F_{cor}) (figure 6-6) :

$$F_{cor} = 2\rho\omega\upsilon \qquad \textbf{6-17}$$

avec υ la vitesse linéaire au sein du micro-canal, comme illustré sur la figure 6-6. Le principe est le suivant [296] : aux faibles vitesses de rotation, la force de Coriolis est négligeable devant la force centrifuge et le liquide est distribué de façon équivalente dans les deux chambres en aval du séparateur en Y. Aux vitesses de rotation plus élevées, la force de Coriolis n'est plus négligeable et le flux de liquide est alors dirigé vers l'une ou l'autre des deux chambres en fonction du sens de rotation du disque.

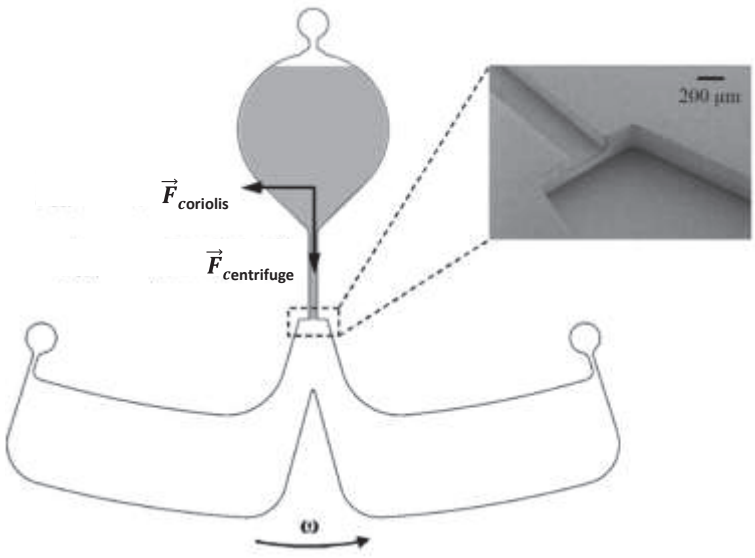


Figure 6-6 : Schéma du système en Y pour diriger le flux de liquide [296].

L'implantation d'une telle géométrie sur le microsystème de séparation U/Pu/PF est indispensable. Même si elle n'a pas été mise en œuvre dans le cadre de notre étude (dans le but de simplifier la fabrication d'un premier prototype), elle permettra de diriger une fraction pure d'intérêt vers un réservoir spécifique quand le reste des effluents chromatographiques seront dirigés vers un réservoir poubelle. Se faisant, le microsystème fabriqué aurait alors

pour vocation non plus la séparation / collection des trois fractions d'intérêts (U/Pu/PF), mais plutôt la séparation / collection d'une seule fraction d'intérêt. Il est alors possible d'envisager la fabrication de microsystèmes dédiés à la purification de l'Uranium, du Plutonium ou des PF.

6.3.5 Conclusions

Finalement, le lab-on-CD développé dans cette thèse sera simplifié et intégrera une chambre d'injection, une colonne monolithique échangeuse d'anions ainsi qu'un réservoir de collecte relié à un évent. Sa conception est décrite dans la partie suivante.

6.4 Conception du prototype lab-on-CD

Si l'objectif à long terme est la conception d'un microsystème lab-on-CD en COC de format circulaire, nous avons envisagé dans un premier temps de concevoir un prototype intégrant une plateforme circulaire sur laquelle sont disposés des microsystèmes au format rectangulaire. Ces deux composants du prototype seront respectivement nommés par la suite : plateforme lab-on-CD et microsystème lab-on-CD. Ce dispositif expérimental permettra une fabrication plus aisée de nouveaux prototypes de microsystèmes en COC (prototypage rapide) car il dispense de l'usinage de moules circulaires métalliques qui est plus difficile à mettre en œuvre.

6.4.1 Choix du moteur et conception de la plateforme lab-on-CD

La plateforme lab-on-CD doit intégrer un moteur et un plateau sur lequel sont disposés les microsystèmes. Le choix raisonné du moteur s'est basé sur les travaux de Park *et al.* [291] et ceux de Penrose *et al.* [106] afin de choisir respectivement le fournisseur et les caractéristiques techniques du moteur. Le moteur Yaskawa de type SGMAV – 01ADA61 permet ainsi de satisfaire à des contraintes de fiabilité (utilisé dans les travaux du groupe de Ko) et à des contraintes techniques comme la vitesse de rotation maximale principalement. En effet, la présence d'une phase stationnaire à l'intérieur du micro-canal impose d'utiliser des vitesses de rotation élevées afin d'assurer la création d'un débit minimum. Par exemple, Penrose *et al.* [106] ont utilisé des vitesses de rotation jusqu'à 4000 $tr.min^{-1}$ afin d'obtenir des débits de quelques $\mu L.min^{-1}$. La comparaison des caractéristiques des colonnes de séparation et des phases mobiles utilisées dans cet exemple et dans notre cas (regroupées dans le tableau 6-1), a permis d'estimer nos besoins en terme de vitesse maximale de rotation du moteur. Si, les perméabilités des deux colonnes sont équivalentes ($\approx 6.10^{-14}$ m^2), la différence de viscosité entre la phase mobile Méthanol/eau utilisée par Penrose *et al.* [106], et la phase mobile HCl 9,5 M intervenant dans la séparation U/Pu/PF laisse supposer l'utilisation de vitesses de rotation supérieures à 4000 $tr.min^{-1}$ afin d'obtenir une perte de charge suffisante. En effet,

d'après la loi de Darcy, la perte de charge (ΔP), pour une vitesse de phase mobile (u) et une perméabilité (K_0) données est directement proportionnelle à la viscosité dynamique (η) :

$$\Delta P = \eta \, . \, \frac{Lu}{K_0} \qquad \textbf{6-18}$$

La configuration choisie pour le moteur permet d'obtenir une vitesse maximale de 6000 tr.min^{-1} (qui peut être portée jusqu'à 10 000 tr.min^{-1} après modification de l'arbre du moteur).

Tableau 6-1 : Comparatif des propriétés de la colonne particulaire utilisée par Penrose *et al.* [106] et de la colonne monolithique du projet.

		Colonne Penrose	**Colonne monolithique**	**Rapport entre les deux valeurs**
Colonnes	*Longueur (cm)*	2,1	2,5 *	0,84
	Section (mm²)	0,25	0,1	2,5
	Perméabilité (m^2)	$6{,}2.10^{-14}$**	$6{,}4.10^{-14}$	0,94
		($MeOH/H_2O$)	(HCl 9,5 M)	
Phases mobiles	*Viscosité (Poise)*	$5{,}47.10^{-3}$	$17{,}3.10^{-3}$ ***	3,2

* *Voir paragraphe 6.4.4.2.*

** *Calculée par la relation :* $K_0 = {d_p^2 \varepsilon_T^3}/{180\,(1-\varepsilon_T)^2}$ *avec d_p le diamètre des particules [255]*

*** *Valeur issue de solvaychemical.com (« Hydrochloric acid dynamic viscosity »)*

Par ailleurs, les caractéristiques techniques du moteur intègrent aussi l'arrêt de la rotation de l'arbre moteur à un angle prédéfini par l'utilisateur (nécessaire dans le cas d'un dispositif intégrant une détection optique par exemple) et la possibilité d'effectuer la rotation dans les sens horaire et anti-horaire (nécessaire pour la mise en œuvre de la géométrie d'orientation des liquides de Kim *et al.* [296]).

Le pilotage du moteur, via un servo moteur de type SGDV – R30A01A (Yaskawa, France), a été réalisé à l'aide du logiciel Sigma Win+. Les accélérations du moteur au démarrage sont imposées par la vitesse de rotation réglée de façon à atteindre la consigne de vitesse en 1 à 2 secondes.

Le deuxième élément constitutif du dispositif est le plateau circulaire. Ce dernier a été usiné dans du PEEK par la société SOMECAP (France), afin de satisfaire aux contraintes de résistance chimique (en particulier à l'acide chlorhydrique), de poids (couple du moteur assez faible par rapport aux accélérations imposées) et de dimensions pour pouvoir accueillir les microsystèmes (encoches de 2,2 cm x 7 cm).

Finalement, la plateforme est fixée sur l'arbre moteur par l'intermédiaire d'une clavette et l'ensemble est fixé à un banc optique au moyen d'un support usiné en acier inoxydable. La solidarisation du moteur au banc optique permet de limiter les vibrations lors de la mise en rotation du système. La figure 6-7 illustre le prototype réalisé, intégrant une plateforme accueillant jusqu'à 4 microsystèmes simultanément.

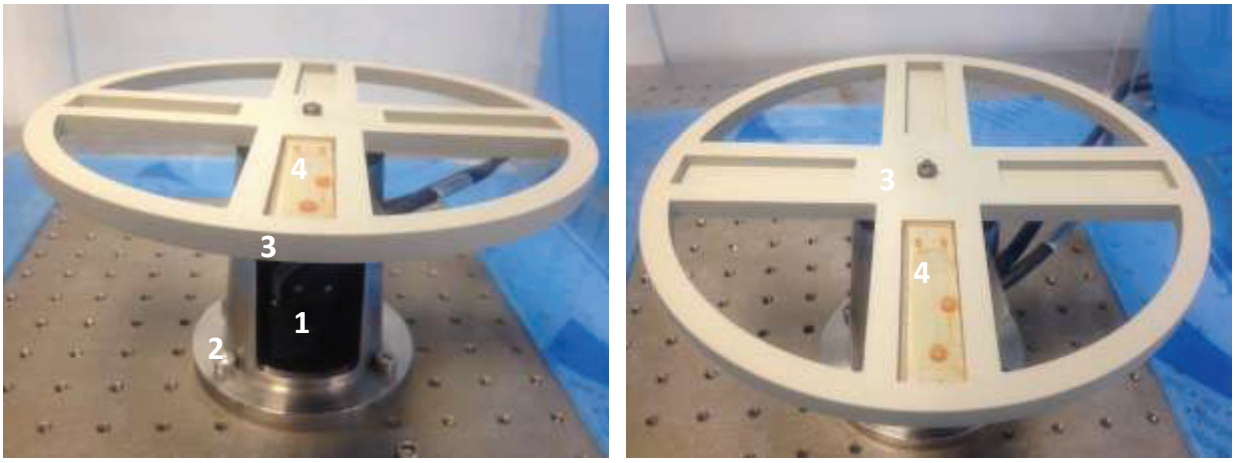


Figure 6-7 : Plateforme lab-on-CD intégrant : 1. le moteur, 2. le support usiné du moteur, 3. la plateforme lab-on-CD et 4. un microsystème lab-on-CD de type M2.

6.4.2 Conception des microsystèmes lab-on-CD (prototypes M2) : dimensionnement

La difficulté de conception de la géométrie des microsystèmes lab-on-CD (prototypes M2) réside dans le fait qu'ils doivent à la fois permettre : de réaliser la séparation U/Pu/PF : c'est-à-dire les étapes d'injection de l'échantillon, de séparation puis de collecte de fractions pures, mais aussi :

- la synthèse du monolithe ainsi que son lavage post-synthèse,
- la fonctionnalisation du monolithe,
- la caractérisation des propriétés d'écoulements du monolithe (perméabilité).

Par conséquent, la géométrie des microsystèmes M2 a d'abord été conçue en considérant les contraintes imposées par la séparation U/Pu/PF (dimensionnement de la colonne de séparation, réservoirs d'injection et de collecte, etc…), avant d'être adaptée à une mise en œuvre aisée de la synthèse et de la fonctionnalisation du monolithe.

6.4.2.1 Dimensionnement de la colonne de séparation

Le chapitre 4.5.3 a permis de mettre en évidence les limites liées à la dimension des colonnes capillaires pour la séparation U/Pu/PF. Pour pallier à cela, l'intégration, au sein des microsystèmes M2, d'une colonne de plus grande dimension s'avère nécessaire. Le dimensionnement de cette colonne a été réalisé en tenant compte :

- de l'encombrement du microsystème : le moule utilisé pour la réplication des microsystèmes ayant un côté de 7 cm, une longueur maximale de colonne de 2,5 cm a été fixée afin de laisser de la place pour la création des réservoirs d'injection et de collection,
- du volume de la colonne : il détermine à la fois le volume maximal d'échantillon injectable ($V_{inj,\ max}$ tel que défini au 4.5.2) et la quantité maximale injectable Uranium + Plutonium,
- de la composition d'un échantillon typique de combustible UOx (tableau 4-5 paragraphe 4.5.3.). Il a été décidé de ne pas tenir compte des cas de l'Américium et du Curium, car les volumes d'injection nécessaires sont à l'heure actuelle trop élevés pour être compatibles avec une application microfluidique. Par conséquent, le volume d'échantillon à injecter (V_{inj}) doit permettre de collecter au minimum 5 ng de chacun des produits de fission de la série des lanthanides. Dans le cas du combustible UOx du tableau 4-5, le volume d'injection minimal est alors fixé par la concentration initiale d'Europium (249 ng.mL^{-1}) :

$$V_{inj,min} = \frac{n_{TIMS}(Eu)}{[Eu]_{UOx}} = \frac{5\ ng}{249\ ng.mL^{-1}} = 20{,}08\ \mu L \qquad \textbf{6-19}$$

D'après les résultats obtenus au paragraphe 4.5.2, il est nécessaire que :

$$V_{inj,min} < V_{inj,limite} \qquad \textbf{6-20}$$

afin d'éviter la co-élution entre les PF et l'U (VI). Par conséquent, de la même façon que pour la colonne capillaire, il a été nécessaire de déterminer à partir de quel volume de colonne cette condition peut être satisfaite. La figure 6-8 illustre ainsi l'évolution du volume limite d'injection d'un échantillon de type UOx (tel que celui du tableau 4-5) en fonction du volume de la colonne monolithique. Cette évolution a été établie à l'aide de l'outil de simulation développé au chapitre 4 en fixant la concentration d'Uranium dans l'échantillon. Ainsi, la condition établie par la relation 6-20 est satisfaite pour des volumes de colonne supérieurs à environ 2,3 µL. Dans notre cas, et afin de prendre en compte une marge d'erreur induite par le calcul, les dimensions de la colonne ont été fixées pour obtenir un volume total de 2,5 µL. Ceci représente, pour la colonne monolithique, un volume mort de 2,15 µL (dimensions : 2,5 cm x 200 µm x 500 µm = L x h x l).

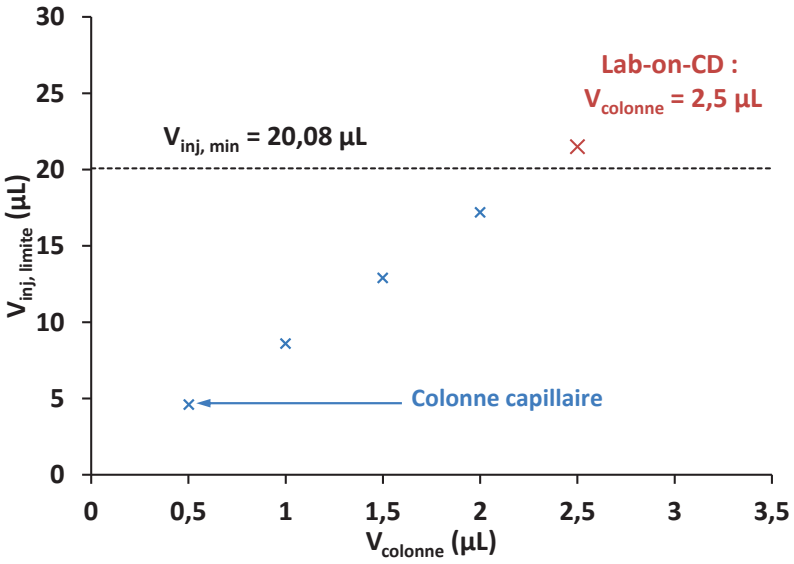


Figure 6-8 : Détermination du volume de colonne minimal permettant de satisfaire à : $V_{inj,min} < V_{inj,\ limite}$ (en rouge : volume choisi pour la colonne intégrée au microsystème).

De la même façon qu'au paragraphe 4.5.2. pour la colonne capillaire, il est alors possible d'établir le domaine d'utilisation de la colonne monolithique intégrée au microsystème en fonction de la quantité d'Uranium injectée et du volume d'injection (figure 6-9). Le volume maximal injectable (V_{max}) ainsi que la quantité maximale injectable ($n_{inj,\ max}$) sont portées à 24,7 µL et 175 nmol respectivement contre seulement 5,2 µL et 35,8 nmol sur les colonnes capillaires. Ces conditions limites permettent d'envisager, dans le cas du combustible UOx étudié ([U] = 0,631 $g.L^{-1}$), d'injecter un volume maximal de 23 µL ($V_{inj,min} < V_{inj,limite}$) correspondant à une quantité maximale d'Uranium de 61 nmol (environ 15 µg).

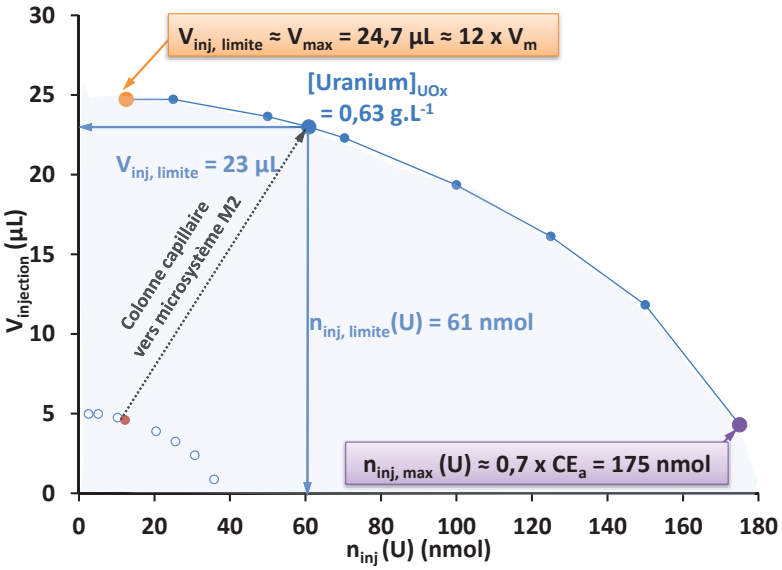


Figure 6-9 : Domaine d'utilisation du microsystème M2 pour la séparation U/Pu/PF (zone grisée) : limites dans le cas de la colonne intégrée au microsystème M2 (●) et dans le cas des colonnes capillaires (○).

6.4.2.2 Dimensionnement de la chambre d'injection

Dans le but de simplifier la conception du microsystème lab-on-CD, la chambre d'injection a été utilisée pour à la fois permettre l'injection d'un volume d'échantillon de 20 µL ainsi que celle des différentes phases mobiles utilisées lors de la séparation U/Pu/PF (le microsystème n'intégrera donc pas de réservoirs spécifiques aux phases mobiles, à l'image de celui décrit par Penrose par exemple [106]). Par conséquent, le volume de la chambre doit correspondre à un compromis entre :

- le volume d'injection nécessaire,
- le volume de phase mobile nécessaire lors des différentes étapes de la séparation U/Pu/PF,
- un volume maximal à ne pas dépasser : défini par :
    - o les dimensions de la chambre par rapport aux dimensions du microsystème (largeur fixe de 2,2 cm)
    - o les contraintes de fabrication suivantes : le rapport diamètre / hauteur (facteur de forme) ne doit pas être trop élevé afin de limiter l'apparition de défauts lors du collage du capot comme l'illustre la figure 6-10.

Finalement, le volume de la chambre d'injection a été fixé à 46,5 µL avec un diamètre de 13 mm pour une hauteur de 0,35 mm.

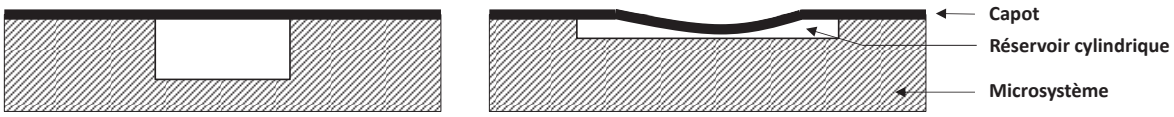


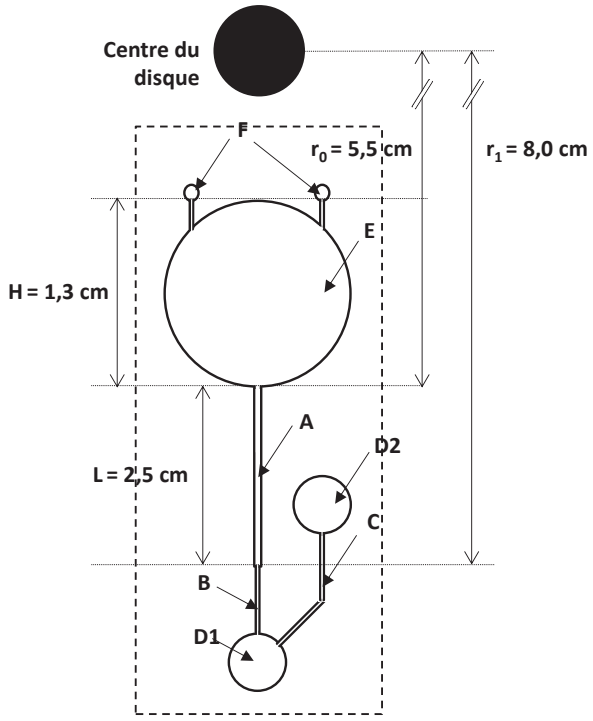
Figure 6-10 : Influence du facteur de forme sur la qualité du collage du capot d'un microsystème en COC de type M2 intégrant un réservoir d'injection : à gauche facteur de forme faible et à droite, facteur de forme élevé.

6.4.2.3 Design du microsystème lab-on-CD

La conception de la géométrie du lab-on-CD s'est appuyée sur les travaux de Lafleur *et al.* [104] avec un microsystème lab-on-CD simplifié intégrant une chambre d'injection, une colonne chromatographique et un réservoir de collecte. La réalisation des prochaines générations de prototype pourront néanmoins intégrer les opérations fluidiques détaillées au paragraphe 6.3. afin de rendre son utilisation plus complète. Finalement, la géométrie retenue est présentée sur la figure 6-11 :

- l'un des deux trous d'accès F permet d'insérer un cône de pipette pour l'injection de l'échantillon et des phases mobiles dans la chambre d'injection, tandis que le second sert d'évent,
- la chambre d'injection E est connectée directement à la colonne monolithique A

- le canal B permet de créer une restriction en fin de colonne, afin de contraindre le monolithe à rester à son emplacement en cas d'une mauvaise qualité d'ancrage, notamment à l'extrémité de la colonne,
- le trou taraudé D1 sert à la fois de réservoir de collecte (lors de la collecte, ce réservoir est fermé hermétiquement afin de confiner le liquide collecté), mais aussi de connexion chromatographique (voir paragraphe suivant),
- le canal C et le trou taraudé D2 sert de ligne d'évent lors de l'utilisation du lab-on-CD (l'évent permet la circulation des liquides depuis la chambre d'injection vers le réservoir D1).



Canal	Hauteur (µm)	Largeur (µm)	Diamètre (mm)
A	200	500	
B	200	250	
C	350	500	
Réservoir			
D	4 mm		4
E	350		13
F	4 mm		2

Figure 6-11 : Schéma de la géométrie des microsystèmes M2 (contour symbolisé par le trait en pointillés) : A. colonne monolithique, B. canal de restriction, C. canal d'évent, D1. réservoir de collection, D2 évent, E. chambre d'injection et F. trous d'injection de l'échantillon.

6.4.3 Fonctionnement des microsystèmes lab-on-CD

Comme évoqué au début du paragraphe 3.4.4.2, le microsystème développé doit à la fois permettre la synthèse du monolithe et sa fonctionnalisation (phase d'utilisation n°1) et la séparation U/Pu/PF par centrifugation (phase d'utilisation n°2). C'est la raison pour laquelle les trous d'accès D1 et D2 sont taraudés respectivement, afin de servir de connexions chromatographiques lors de la phase n°1 et, lors de la phase n°2, de réservoir de collecte (D1) et d'évent (D2) : l'écoulement des liquides lors des 2 phases est opposé comme l'illustre la figure 6-12.

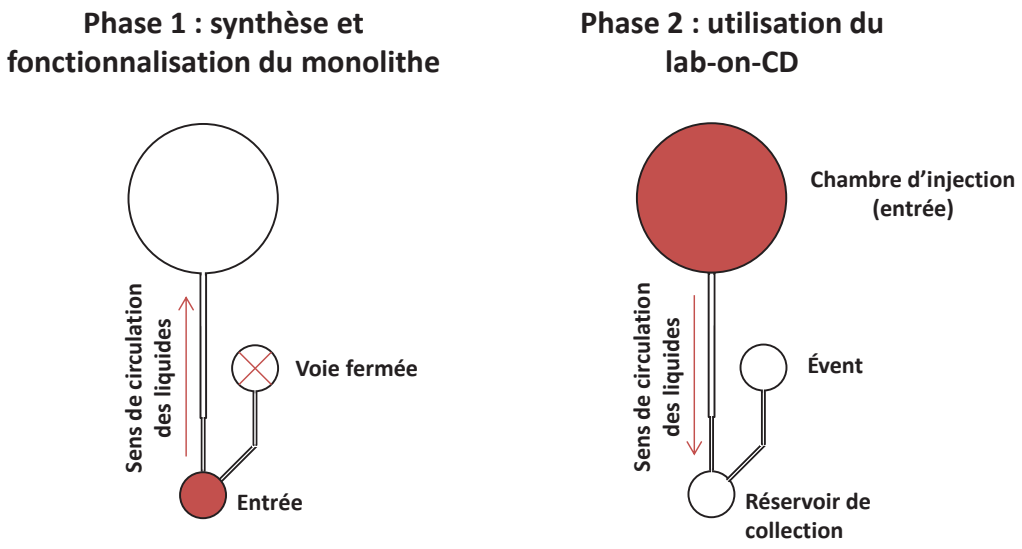


Figure 6-12 : Schéma du sens d'écoulement des fluides pendant les phases 1 et 2 d'utilisation des microsystèmes M2 : synthèse et fonctionnalisation du monolithe et utilisation pour la séparation U/Pu/PF.

6.5 Matériels et méthodes

6.5.1 Fabrication des microsystèmes lab-on-CD (prototypes M2)

Le moule utilisé pour la réplication des microsystèmes M2 a été usiné à partir d'une plaque d'aluminium d'une épaisseur de 5 mm au moyen d'une machine de micro-usinage MiniMill/3 (Minitech) pilotée par le logiciel Mach 3 (laboratoire MMBM, UMR 168). Le design des canaux du microsystème a été créé à l'aide du logiciel Catia avant exportation vers la plateforme de micro-usinage. La figure 6-13, 1 et 2, montre la photographie du moule métallique obtenu. Apparaissent en surépaisseur 2 empreintes correspondant à deux microsystèmes de type M2.

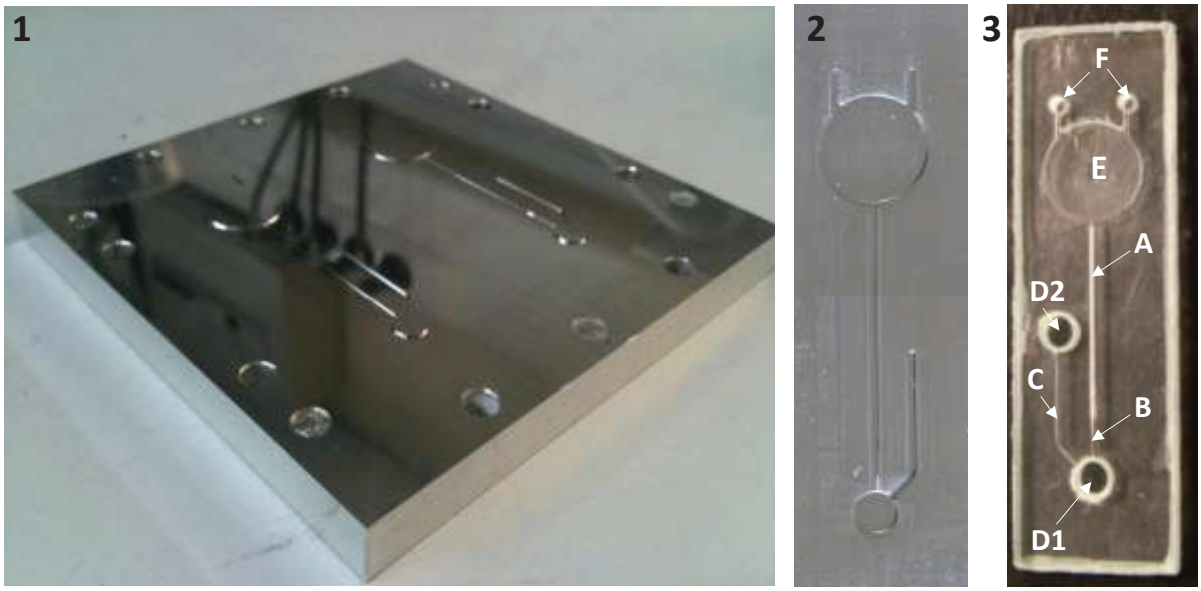


Figure 6-13 : Moule en aluminium usiné pour la réplication des microsystèmes lab-on-CD (type M2) (1 et 2) et microsystème lab-on-CD prêt à l'emploi (3).

La réplication des microsystèmes a été conduite de la même façon que présentée au paragraphe 5.1. Après l'étape de pressage à chaud, deux microsystèmes sont découpés à partir de la plaque obtenue de façon à obtenir des plaques rectangulaires de format 7 x 2,2 cm avec la colonne de séparation centrée. Les deux microsystèmes sont ensuite usinés de façon à obtenir les trous non-taraudés F (figure 6-13, 3) de diamètre 2,1 mm et les trous taraudés D1 et D2 de diamètre 4 mm, avant d'être fermés par le collage du capot.

6.5.2 Synthèse et fonctionnalisation du monolithe au sein des microsystèmes M2

Les étapes de lavage et de conditionnement du microsystème M2 avant la synthèse du monolithe ont été conduites de la même façon qu'au paragraphe 5.1. en utilisant le trou taraudé D1 comme entrée des liquides et en bouchant le trou taraudé D2 (voir figure 6-13).

A la différence des microsystèmes M1, la synthèse du monolithe en microsystème M2 doit être localisée, de façon à obtenir un monolithe uniquement dans la colonne de séparation. Il est donc nécessaire d'utiliser un masque permettant de localiser le rayonnement UV seulement au niveau de la colonne comme l'illustre la figure 6-14. La synthèse du monolithe est réalisée sous une irradiation UV à 2,8 $mW.cm^{-2}$ pendant 30 minutes (les autres conditions sont identiques à celles du paragraphe 5.1).

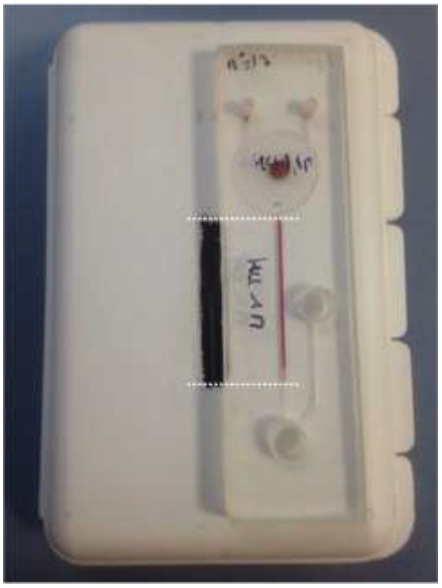


Figure 6-14 : Masque UV utilisé pour la synthèse localisée des monolithes poly(GMA-co-EDMA) dans les microsystèmes lab-on-CD : le microsystème M2 est posé sur le moule et contient le monolithe localisé (coloré en violet).

Après la polymérisation, le monolithe est lavé 2 h au minimum à l'acétonitrile au moyen de la pompe chromatographique ICS 3000, à des débits compris entre 2 et 20 $\mu L.min^{-1}$.

La qualification du monolithe est réalisée, après chaque synthèse, par la mesure de la perte de charge donnée par la pompe chromatographique (à l'aide du logiciel Chroméléon, Dionex) pour au minimum 4 débits différents imposés. L'évolution linéaire de la relation entre la perte de charge et le débit appliqué permet de vérifier d'une part la résistance mécanique du monolithe (et donc la qualité de l'ancrage aux parois) mais aussi de déterminer la perméabilité K_0 à l'aide de la relation 3.4.

La fonctionnalisation a été conduite de la même façon qu'au paragraphe 5.1. Le trou taraudé D-1 est utilisé comme entrée des réactifs liquides (figure 6-15, 2), le trou taraudé D-2 reste quant à lui bouché lors de toutes les étapes de fonctionnalisation puis de rinçage (figure 6-15, 3). La figure 6-15 montre le microsystème M2 préparé avant fonctionnalisation : les cônes de pipettes insérés (n°4) dans les trous F sont remplis d'eau et permettent de limiter l'évaporation du liquide contenu dans la chambre d'injection et donc de limiter le séchage du monolithe lors de l'étape de fonctionnalisation.

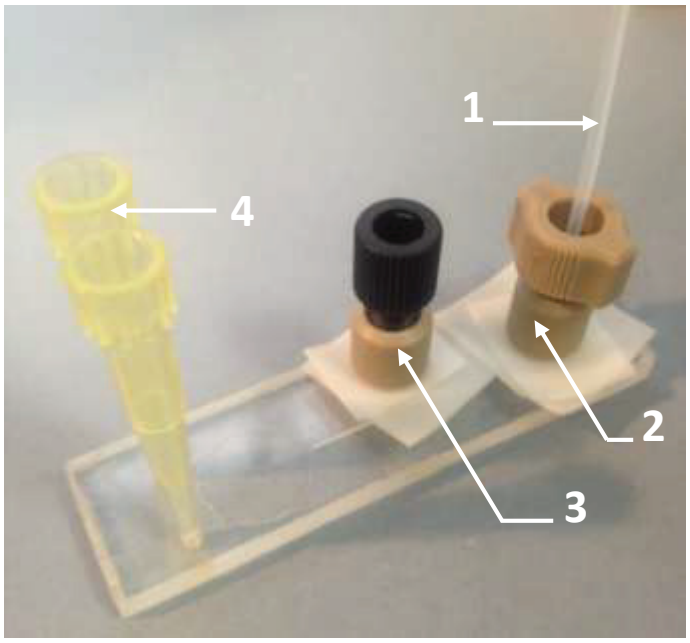


Figure 6-15 : Microsystème lab-on-CD préparé pour la fonctionnalisation du monolithe : 1. tubing d'arrivée des réactifs, 2. connexion d'entrée, 3. connexion assurant la fermeture hermétique du trou taraudé 2-1 et 4. cônes insérés dans les trous 1 et remplis d'eau.

En fin de réaction, la colonne monolithique fonctionnalisée est rincée à l'éthanol à un débit de 5 µL.min^{-1} pendant 1 h, puis avec des mélanges Eau/Ethanol contenant des proportions volumiques d'eau croissantes (25, 50, 75 puis 100 %) pendant 10 minutes à chaque fois.

La mesure de la capacité d'échange de la colonne monolithique fonctionnalisée est réalisée en utilisant la plateforme lab-on-CD, avec une vitesse de rotation fixée à 1000 tr.min^{-1}, de la façon suivante : tout d'abord la colonne est saturée par une solution de chlorure de sodium 10 mM jusqu'à avoir fait passer une quantité d'ions chlorure n_{Cl^-} (nmol) définie de la façon suivante :

$$n_{Cl^-} = 10 \times CE_a \times V_{col} \qquad \textbf{6-21}$$

avec CE_a la valeur de capacité d'échange déterminée pour les colonnes capillaires en nmol.µL^{-1} et V_{col} le volume de la colonne monolithique en µL. Après une étape de rinçage à l'eau afin de retirer l'excès d'ions chlorures (au minimum 5 fois le volume de la chambre d'injection : 232,5 µL ≈ 108 x V_m), l'élution totale des ions chlorures est réalisée avec 46,5 µL d'une solution de nitrates de sodium 100 mM (volume correspondant à 1 fois le volume de la chambre d'injection et à ≈ 22 x V_m). La mesure de la concentration des ions chlorures dans la solution collectée c_{Cl^-} (mesurée par chromatographie ionique), permet alors de calculer la capacité d'échange d'anions de la façon suivante (en nmoles) :

$$CE_a = \frac{c_{l^-} \times V_{collecté}}{V_{col}} \ (en\ nmol.\mu L^{-1}) \qquad \textbf{6-22}$$

Avec $V_{collecté}$ le volume collecté lors de l'étape d'élution (mesuré par pesée).

6.5.3 Mesure du débit induit par la force centrifuge au travers de la colonne monolithique

La mesure expérimentale du débit induit par la force centrifuge a été réalisée en suivant la différence de volume de liquide présent dans la chambre d'injection avant et après un temps t de rotation du microsystème, pour des vitesses de rotation comprises entre 500 et 3000 tr.min^{-1}. La mesure du volume restant dans la chambre est réalisée par l'intermédiaire de la mesure de la hauteur de liquide restant avec une règle graduée à ± 0,25 mm (mesures réalisées avec une loupe binoculaire). Le temps de rotation est choisi de sorte que la hauteur de liquide restant soit élevée (> 11 mm) ou faible (< 3 mm) de façon à minimiser l'erreur sur le volume calculé. Par exemple une erreur de 0,25 mm sur une hauteur de liquide de 6,5 mm (au centre de la chambre d'injection), induit une erreur sur le volume d'environ 1,2 µL, quand la même erreur sur la mesure d'une hauteur de liquide de 3 ou 11 mm induit une erreur sur le volume d'environ 0,7 µL. Cette erreur est d'autant plus critique, pour la mesure de débits élevés (pour lesquels le temps de mesure est faible). Le temps d'accélération pour atteindre la vitesse de rotation voulue est négligeable devant le temps de mesure. D'autre part, nous avons fait l'hypothèse d'un débit constant tout au long de la mesure.

Les valeurs de viscosité dynamique (η) utilisées pour les mesures en ACN et en HCl 9,5 M sont respectivement de 0,345.10^{-3} Pa.s et de 1,73.10^{-3} Pa.s (à 25 °C). Ainsi selon l'équation 6-18 de la loi de Darcy, pour une vitesse angulaire de 1500 tour/min, en milieu acétonitrile, le débit est de 8 µL/min et la perte de charge est égale à 2,67 bars, alors qu'en milieu HCl 9,5 M le débit est de 1,3 µL/min pour une perte de charge égale à 5,45 bars.

6.6 Synthèse localisée du monolithe et fonctionnalisation

La synthèse du monolithe à l'intérieur des microsystèmes M2 doit être localisée uniquement à l'intérieur de la colonne de séparation. La localisation de la synthèse est alors assurée par le masque présenté figure 6-14 permettant de bloquer une partie du rayonnement UV incident.

Dans un premier temps, la synthèse du monolithe dans les microsystèmes M2 a été réalisée dans les mêmes conditions que pour les microsystèmes M1 (rayonnement UV à 365 nm pendant 30 minutes avec une puissance de 1,4 mw.cm^{-2}), mis à part l'utilisation du masque UV. De cette façon, les synthèses réalisées ont conduit à l'obtention de monolithes

présentant des perméabilités plus élevées qu'attendues : $K_0 > 12.10^{-14} \pm 2.10^{-14}$ m^2 (mesurées en milieu ACN, pour un ensemble de 3 synthèses), alors que la valeur moyenne en microsystème M1 est de $6{,}4.10^{-14}$ m^2. Deux hypothèses ont alors été envisagées pour expliquer ce phénomène :

- structure poreuse du monolithe différente de celle attendue (porosité plus élevée conduisant à l'augmentation de la perméabilité),
- mauvais ancrage aux parois conduisant à la création de chemins préférentiels d'écoulement sur les bords du canal (augmentant « artificiellement » la perméabilité).

La qualification de la structure poreuse par la réalisation de clichés MEB n'a pas permis de mettre en évidence des différences structurales entre les monolithes synthétisés dans les microsystèmes M1 et M2, aussi, cette première hypothèse a été rejetée. Néanmoins, la présence de zones de vide entre les parois du canal COC et le monolithe est très clairement visible (de la même façon que sur la figure 5-7) et permet d'affirmer que la valeur élevée de perméabilité mesurée vient de la présence de ces zones de vide, qui créent, lors des écoulements, des chemins préférentiels. Les photographies du même microsystème après 17 s et 30 s de rotation à 500 $tr.min^{-1}$ (figure 6-16) montrent la présence, en aval du front principal d'écoulement (phase mobile colorée), de chemins préférentiels localisés à proximité des parois du micro-canal.

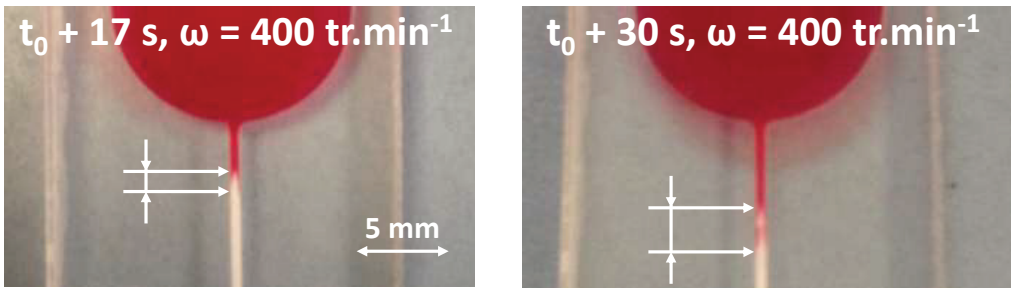


Figure 6-16 : Visualisation de la présence de chemins préférentiels le long des parois de la colonne monolithique : mesure de la distance entre le front principal d'écoulement et le front dû à la présence des chemins préférentiels (colorant solubilisé dans de l'ACN).

Ces observations confirment que le mauvais ancrage du monolithe aux parois du micro-canal en COC. L'hypothèse avancée afin d'expliquer ce mauvais ancrage est l'utilisation du masque UV. En effet, bien que ce masque permette de localiser la synthèse du monolithe, il supprime par la même occasion une grande partie des rayonnements UV incidents comme l'illustre la figure 6-17. Par conséquent, l'énergie reçue par le mélange réactionnel, pendant un intervalle de temps donné, est plus faible.

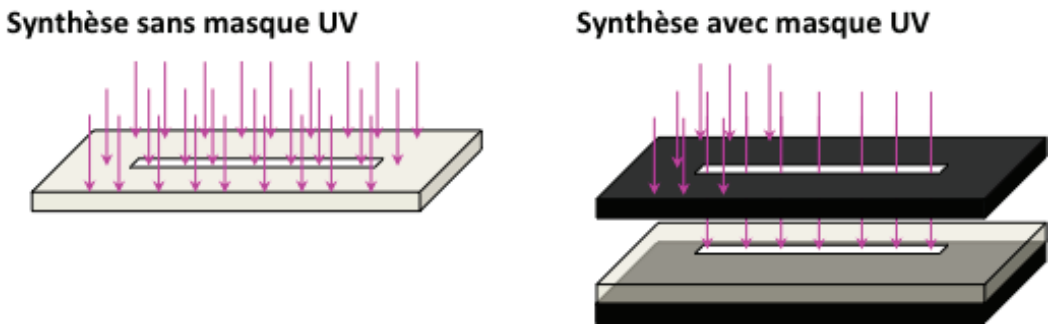


Figure 6-17 : Diminution de la quantité d'énergie UV reçue par le mélange réactionnel lors de la polymérisation du monolithe dans les microsystèmes M2 en raison de l'utilisation du masque UV.

La solution envisagée pour remédier à ce problème a été d'augmenter la puissance UV lors de la synthèse du monolithe. Même si le four UV utilisé ne permet pas de régler directement cette puissance, il est possible de l'augmenter simplement en rapprochant le microsystème des tubes UV du four. En effet, lors de toutes les précédentes synthèses, le microsystème était situé à une distance de 19 cm des néons UV. La figure 6-18 montre l'évolution de la puissance UV délivrée en fonction de la distance entre les néons UV et le radiomètre permettant d'effectuer la mesure (calibré à 365 nm). La puissance augmente d'un facteur 2 simplement en plaçant le microsystème à 11,5 cm des néons (ou à 19-11,5 = 7,5 cm du sol du four UV).

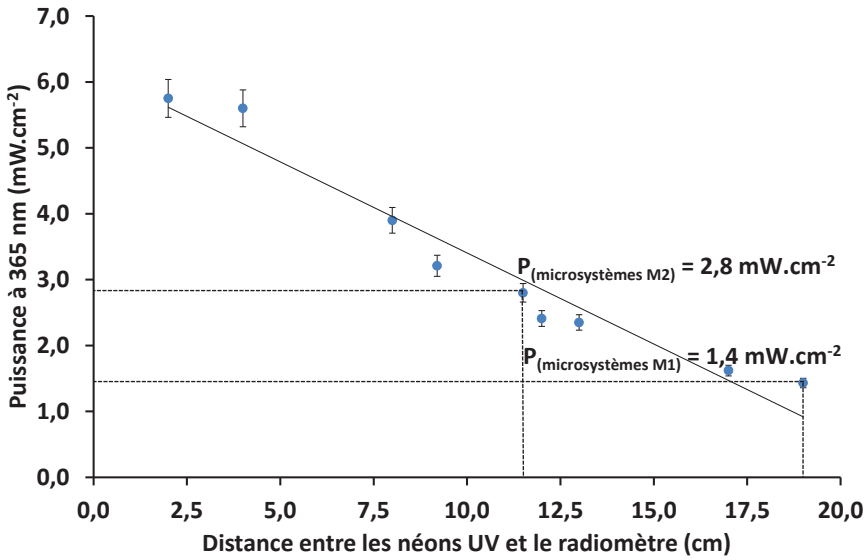


Figure 6-18 : Puissance UV émise à 365 nm par les néons du four utilisé pour la synthèse des monolithes : mesurée à des distances croissantes des néons.

Afin de vérifier l'impact de la puissance UV sur la qualité de l'ancrage du monolithe, le microsystème a été placé de façon à obtenir une puissance UV plus élevée : 2,8 $mW.cm^{-2}$. L'objectif est de fournir au mélange réactionnel une énergie équivalente à celle reçue lors des synthèses conduites sans masque UV. La qualification de la synthèse et de l'ancrage a été

réalisée par la mesure de la perméabilité en milieu ACN. La valeur obtenue pour un ensemble de 8 synthèses, de $6{,}6.10^{-14} \pm 0{,}7.10^{-14}$ m^2, est équivalente à celle obtenue pour les monolithes synthétisés en microsystème M1. Le nouveau protocole de synthèse utilisant une puissance UV de 2,8 $mW.cm^{-2}$ est donc validé (nous n'avons pas réalisé d'essais de synthèse avec des puissances UV supérieures). La qualité de l'ancrage a été vérifiée lors de l'étape de rinçage en milieu ACN, en augmentant progressivement le débit imposé par la pompe chromatographique jusqu'à obtenir une pression maximale de 5 bars. La relation linéaire obtenue entre débit appliqué et perte de charge mesurée permet d'affirmer qu'aucune dégradation de l'ancrage n'a eu lieu dans la gamme testée.

Par ailleurs, la mesure de la capacité d'échange, après fonctionnalisation du monolithe, a conduit à une valeur de 327 ± 10 $\mu mol.g^{-1}$ (109 $nmol.\mu L^{-1}$, pour 3 mesures réalisées sur le même microsystème). Cette valeur est comparable à celles obtenues en capillaire de silice et en microsystème M1, et permet, là-aussi, de conclure à des structures poreuses des monolithes équivalentes.

La qualification des monolithes synthétisés en microsystème M2 a permis de valider leur ancrage aux parois en COC (perméabilité) et leur structure poreuse (MEB et mesure de capacité d'échange). Par conséquent l'étude des écoulements induits par la force centrifuge au travers de la colonne monolithique peut être conduite.

6.7 Modélisation de l'écoulement induit par la force centrifuge au travers de la colonne monolithique

6.7.1 Cas du monolithe non-fonctionnalisé

Dans un premier temps, la qualification des écoulements induits par la force centrifuge au travers de la colonne monolithique a été conduite en milieu ACN, avec le monolithe non-fonctionnalisé afin de pouvoir vérifier la gamme de débits accessibles ainsi que la reproductibilité de la synthèse avant fonctionnalisation (à l'image de ce qui a été fait lors des synthèses du monolithe en colonne capillaire, chapitre 3.1). Comme évoqué au paragraphe 6.2.2., le modèle de Penrose *et al.* [106] a été proposé dans le cas de colonnes remplies de particules poreuses :

$$D = \left(\frac{\left(4r_{h,remplie}\right)^2 \rho \omega^2 \bar{r} \Delta r}{32 \eta L_{eff}} \right) \times hl\varepsilon_{ext} \qquad \textbf{6-23}$$

Les différences structurales notables entre une colonne remplie par des particules poreuses et par un monolithe organique sont :

- la notion de tortuosité : dans le cas des monolithes, on considère que $L_{eff} = L$ en raison de leur macroporosité élevée ($T \approx 1$),
- la porosité : les colonnes particulaires ont une porosité externe (les interstices entre les particules) beaucoup plus faible que celle du monolithe poly(GMA-co-EDMA) : par exemple elle est de 0,46 pour la colonne utilisée par Penrose *et al.* [106] alors qu'elle est de 0,86 dans le cas du monolithe. Parce qu'il n'a pas été possible de la caractériser durant cette étude, la porosité externe du monolithe est considérée égale à la porosité totale déterminée au chapitre 3.1 : $\varepsilon_{ext} = \varepsilon_T$ (cette approximation est possible en considérant que la porosité due aux mésopores et aux micropores, à l'intérieur du monolithe, est très faible devant la porosité due aux macropores).

Dans le cas du monolithe poly(GMA-co-EDMA), l'évaluation du rayon hydraulique est délicate en raison du gonflement de la structure polymérique à la fois en fonction du milieu liquide et à cause de la fonctionnalisation (voir chapitre 3.1). De ce fait la prévision du débit induit par la force centrifuge semble difficile à généraliser pour toutes les conditions de phase mobile.

Néanmoins, dans une première approche, nous avons utilisé la relation 6-23 en calculant le rayon hydraulique du monolithe de la façon décrite par Mihelic *et al.* [297] (pour un monolithe poly(GMA-co-EDMA fonctionnalisé par une amine ternaire) : le monolithe est alors considéré comme un agglomérat de particules non-poreuses et le rayon hydraulique est égal au rapport du volume de colonne vide à la surface spécifique du monolithe :

$$r_{h,monolithe} = \frac{\varepsilon_T}{\rho_{app} a_s} = \frac{0{,}86}{0{,}32.10^6\ g.m^{-3} \times 10\ m^2.g^{-1}} = 0{,}27\ \mu m \qquad \textbf{6-24}$$

pour les valeurs de porosité ε_T, de masse volumique apparente ρ_{app} et de surface spécifique a_s déterminées respectivement au chapitre 3.

Cette valeur est supérieure à celle décrite par Mihelic pour un monolithe poly(GMA-co-EDMA) dont les conditions de synthèse ne sont pas connues (0,186 µm). Néanmoins, la comparaison des clichés MEB des deux monolithes poly(GMA-co-EDMA) (obtenus par Mihelic et synthétisé au laboratoire), confirme leur différence structurale (figure 6-19) : le monolithe utilisé par Mihelic *et al.* [297] présentant notamment des globules de taille plus faible (0,6 µm).

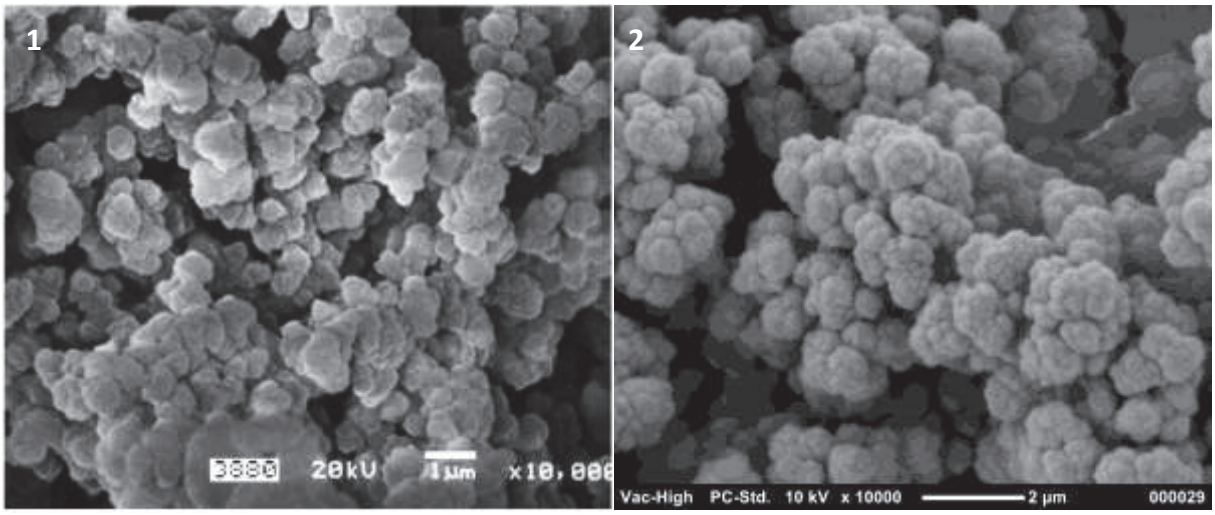


Figure 6-19 : Clichés MEB des monolithes poly(GMA-co-EDMA) utilisés par Mihelic *et al.* [297] (1) et synthétisé au laboratoire selon le protocole de synthèse établi au paragraphe 3.4.5. (2).

L'évolution du débit induit par la force centrifuge en fonction de la vitesse angulaire appliquée a pu être déterminée selon le modèle proposé ci-dessus et confronté aux mesures expérimentales, réalisées sur un ensemble de 5 microsystèmes M2 intégrant le monolithe non-fonctionnalisé, synthétisé suivant le protocole optimisé défini au paragraphe précédent. La figure 6-20 illustre l'écart significatif constaté entre les valeurs prédites et les valeurs expérimentales de débits. Cet écart démontre que l'hypothèse établie pour le calcul du rayon hydraulique selon la relation 6-24 n'est pas valide dans notre cas : le monolithe ne peut pas être considéré comme un agglomérat de particules non-poreuses.

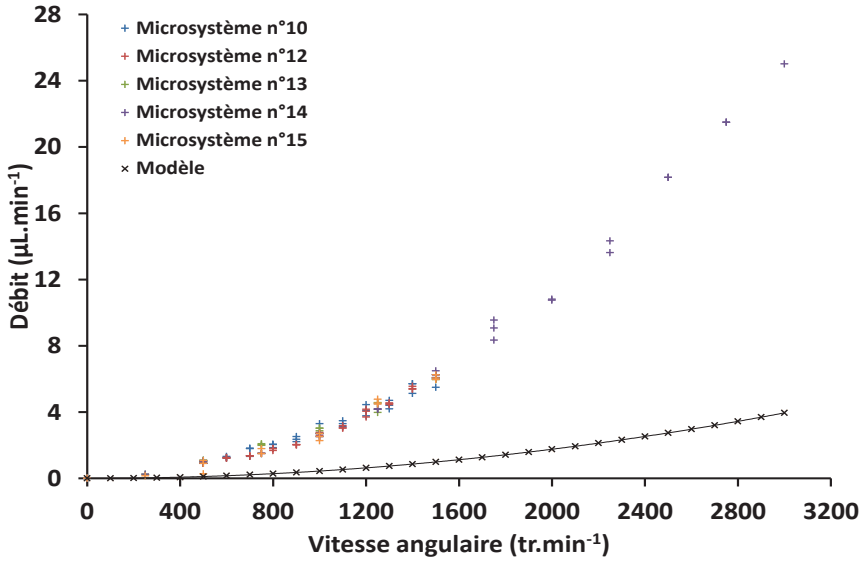


Figure 6-20 : Evolution du débit induit par la force centrifuge au travers de la colonne monolithique en fonction de la vitesse angulaire appliquée : comparaison du modèle et des valeurs expérimentales.

Si r_h ne peut être déterminé par la relation 6-24, il peut l'être à l'aide des courbes expérimentales de débits en fonction de la vitesse angulaire. Ainsi, pour la gamme de vitesses angulaires testée, la courbe modélisée à partir de la relation 6-23 se superpose à la courbe expérimentale en utilisant une valeur de r_h de 0,68 µm (figure 6-21). Cette valeur est 2,5 fois plus élevée que la valeur obtenue par la relation 6-24.

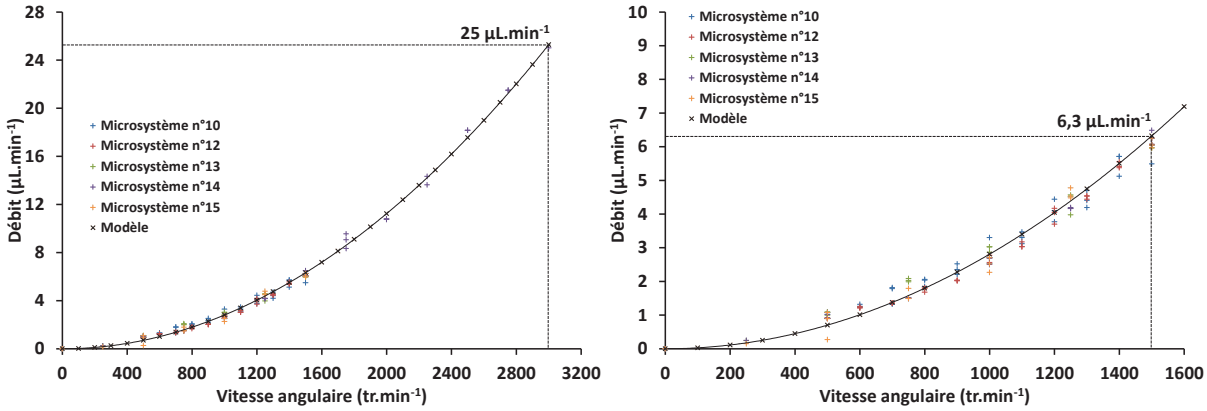


Figure 6-21 : Evolution du débit induit par la force centrifuge au travers de la colonne monolithique en fonction de la vitesse angulaire appliquée : comparaison du modèle ajusté et des valeurs expérimentales (le graphique de droite est un zoom entre 0 et 1600 tr.min^{-1} de la figure de gauche).

Dans les conditions de mesure (monolithe non-fonctionnalisé, phase mobile ACN), le débit maximal atteint est de 25 µL.min^{-1} pour une vitesse angulaire de 3000 tr.min^{-1} et correspond à une vitesse linéaire de phase mobile d'environ 4 mm.s^{-1}. Il est intéressant de noter que la perte de charge nécessaire afin d'atteindre une telle vitesse à l'intérieur du canal n°3 des microsystèmes M1 (section des micro-canaux équivalentes) est 8,36 bars.

Par ailleurs, la figure 6-21 illustre aussi la bonne reproductibilité des synthèses du monolithe poly(GMA-co-EDMA) à l'intérieur des microsystèmes M2 avec des courbes expérimentales équivalentes : par exemple le coefficient de variation pour la valeur de débit mesurée pour une vitesse de 1500 tr.min^{-1} est de 6 % (5 colonnes pour un ensemble de 15 mesures).

Ces premiers résultats confirment la pertinence de l'utilisation de la force centrifuge afin d'atteindre des débits de l'ordre du µL.min^{-1} à l'intérieure des microsystèmes M2. Néanmoins, il reste nécessaire de les qualifier aussi pour le monolithe fonctionnalisé, et particulièrement en milieu HCl 9,5 M (milieu utilisé pour séparer les produits de fission et l'Uranium).

6.7.2 Cas du monolithe fonctionnalisé

Après la fonctionnalisation du monolithe, l'écoulement induit par la force centrifuge a dans un premier temps été qualifié avec une phase mobile ACN afin de pouvoir vérifier l'évolution de la structure du polymère. La figure 6-22 représente les points expérimentaux obtenus, en ACN, avant et après la fonctionnalisation du monolithe ainsi que les modèles ajustés dans les deux cas. Pour une même vitesse angulaire appliquée, le débit en ACN est supérieur au travers de la colonne monolithique fonctionnalisée. Cette différence est d'autant plus marquée que la vitesse angulaire augmente. Cela s'explique par la dépendance du débit au carré du rayon hydraulique. En effet, la valeur expérimentale du rayon hydraulique déduit des courbes ajustées dans le cas du monolithe fonctionnalisé est de 0,75 µm contre 0,68 µm avant la fonctionnalisation. Ceci peut s'expliquer par la rétractation, en milieu organique, des chaînes polymériques chargées du monolithe fonctionnalisé ammonium quaternaire. Il est intéressant de noter que, par conséquent, la qualification des écoulements induits par la force centrifuge permet de renseigner sur l'évolution de la structure du monolithe.

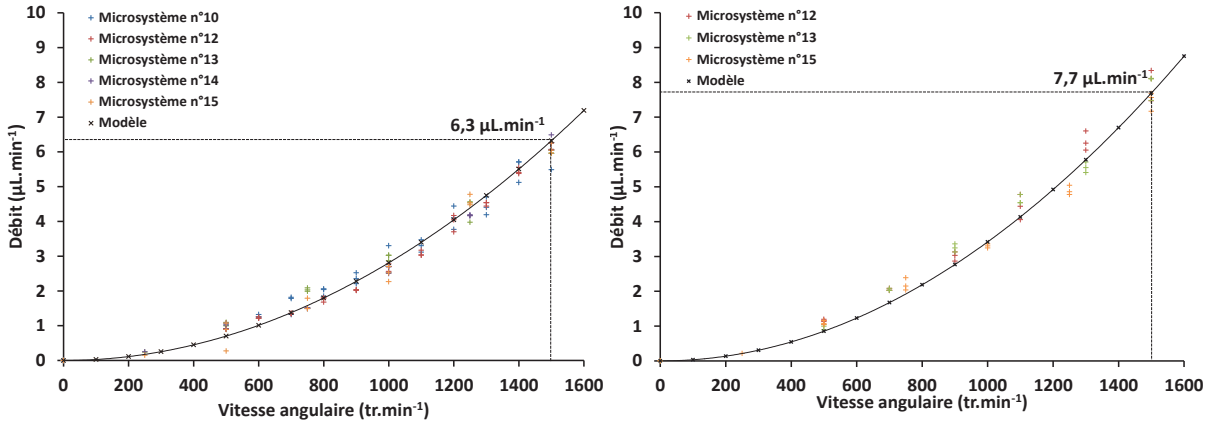


Figure 6-22 : Evolution du débit induit par la force centrifuge au travers de la colonne monolithique en fonction de la vitesse angulaire appliquée : avant (gauche) et après fonctionnalisation du monolithe (droite).

Finalement, la dernière étape a concerné la caractérisation du débit d'HCl 9,5 M induit par la force centrifuge. La figure 6-23 représente l'allure de la courbe expérimentale obtenue ainsi que la courbe « fittée » utilisée dans ce cas : le rayon hydraulique déterminé est alors de 0,57 µm. Sa diminution significative lors du passage d'un milieu ACN à un milieu HCl caractérise, selon nous, un gonflement du monolithe conduisant à la réduction de la dimension des canaux inter-globules. Ainsi, à 1500 tr.min^{-1}, le débit d'HCl 9,5 M n'est plus que d'environ 1,5 µL.min^{-1}, soit 5 fois moins qu'en milieu ACN. Par ailleurs le débit maximal mesuré, correspondant à une vitesse de rotation de 2500 tr.min^{-1}, est de 3,6 µL.min^{-1}. Dans les conditions du microsystème M2 (géométrie de canal, perméabilité du monolithe, etc…), ce débit correspond alors à une vitesse de 0,7 mm.s^{-1}. Il est intéressant de noter ici que cette

vitesse est 7 fois supérieure à celle utilisée lors des séparations U/Pu/PF conduites en colonne capillaire (D = 60 nL.min^{-1} correspondant à une vitesse de 0,1 mm.s^{-1}). Il est donc possible d'envisager de diviser le temps de séparation par 7 en utilisant le microsystème M2 à une vitesse de rotation de 2500 tr.min^{-1}.

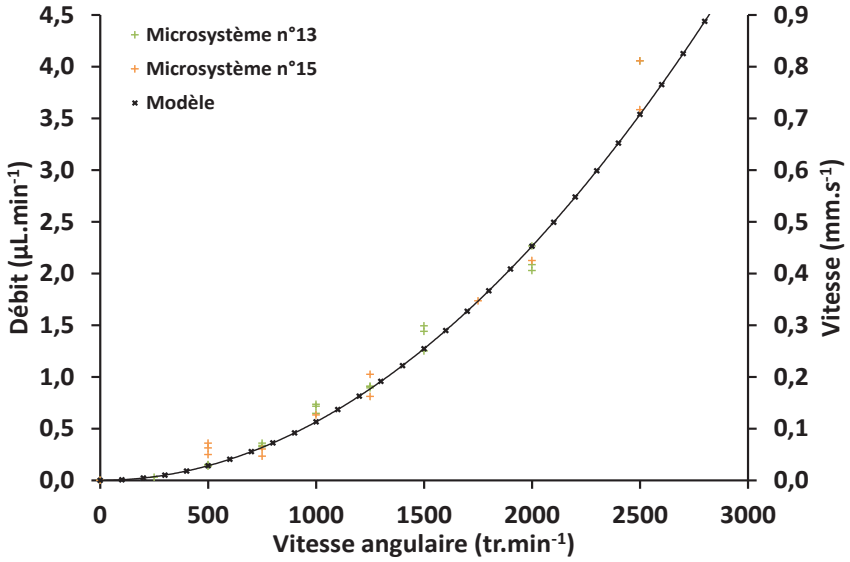


Figure 6-23 : Evolution du débit de phase mobile HCl 9,5 M et de la vitesse induits par la force centrifuge au travers de la colonne monolithique fonctionnalisée en fonction de la vitesse angulaire appliquée.

6.7.3 Conclusions

La synthèse localisée du monolithe à l'intérieur des microsystèmes M2 a nécessité l'adaptation de la puissance UV utilisée de façon à obtenir une structure poreuse équivalente à celles obtenues en capillaire de silice et en microsystème M1 : la capacité d'échange mesurée, 109 nmol.µL^{-1} (soit 327 µmol.g^{-1}) est proche de la valeur de référence de 100 nmol.µL^{-1}.

La caractérisation des écoulements induits par centrifugation au travers des monolithes synthétisés puis fonctionnalisés à l'intérieur des microsystèmes M2 a montré une bonne reproductibilité des synthèses. Par ailleurs, la gamme de débits accessibles avec ce prototype, pour une phase mobile HCl 9,5 M, est comprise entre quelques centaines de nL.min^{-1} et 3,6 µL.min^{-1} pour une vitesse angulaire maximale de 2500 tr.min^{-1} (correspondant à une perte de charge maximale de 15,1 bars). Les vitesses linéaires correspondantes vont de 0,1 mm.s^{-1} jusqu'à environ 0,7 mm.s^{-1} (à noter que la vitesse linéaire lors des séparations sur les colonnes capillaires monolithiques était d'environ 0,1 mm.s^{-1}).

Le paragraphe suivant détaille la mise en œuvre du prototype pour la séparation de produits de fission représentatifs des combustibles nucléaires usés d'une matrice d'Uranium. Parce que celui-ci n'est pas encore installé en zone contrôlée, il n'a en effet pas été possible d'inclure le Plutonium dans l'échantillon, et donc de conduire la séparation U/Pu/PF.

6.8 Mise en œuvre des lab-on-CD

L'objectif est ici de démontrer la faisabilité d'une séparation chromatographique de l'Europium et de l'Uranium (présents dans des proportions équivalentes à celles d'un combustible usé de type UOx), au moyen du prototype de lab-on-CD développé et caractérisé dans les précédents paragraphes. Comme les microsystèmes M2 n'intègrent qu'un seul réservoir de collecte, et afin d'éviter la contamination de la fraction d'Uranium, cette séparation vise à montrer obtenir une fraction PF pure, sans aucune trace quantifiable d'Uranium par ICP-MS.

Afin de confronter le microsystème développé à des conditions similaires à une séparation conduite sur échantillon réel de combustible usé de type UOx. Le domaine d'utilisation du microsystème défini au paragraphe 6.4.4.2 permet d'envisager l'injection d'un volume de 20,08 µL et donc de satisfaire à la condition imposée par l'analyse en TIMS de l'Europium. Néanmoins, dans un premier temps, l'injection d'un plus faible volume permettra de valider l'utilisation du prototype pour des conditions moins critiques, plus éloignées de la limite du domaine d'utilisation de la colonne intégrée au microsystème M2 ($V_{inj,\ limite}$ = 23 µL). Ainsi, le volume d'injection a été fixé à 5 µL, correspondant à une quantité injectée d'Europium d'environ 1,25 ng. L'échantillon est composé :

- très majoritairement d'Uranium, [U] = 631 $mg.L^{-1}$,
- d'Europium, à une concentration de 0,25 $mg.L^{-1}$.

Le tableau 6-2 reprend l'ensemble des conditions expérimentales utilisées pour la séparation. Comme défini au paragraphe 4.3.4., le volume de collecte de l'Europium est égal au volume d'injection, plus 1,5 V_m. L'Uranium est quant à lui élué en HCl 1 M afin d'accélérer sa collecte grâce à une rétention très faible dans ce milieu (figure 4-6).

Tableau 6-2 : Conditions expérimentales utilisées pour la séparation Europium / Uranium sur microsystèmes M2 et la plateforme lab-on-CD.

Descriptif des conditions	
Colonne	500 µm x 200 µm x 2,5 cm : V_m = 2,15 µL capacité d'échange = 215 nmol
Echantillon	[U] = 631 $mg.L^{-1}$ et [Eu] = 0,25 $mg.L^{-1}$
Protocole de séparation	
Injection *Volume collecté par fraction d'élution*	V_{inj} = 5 µL soit n_{inj}(U) = 13 nmol en milieu HCl 9,5 M • V_{col} (Eu) = V_{inj} + 1,5 V_m = 8,2 µL en milieu HCl 9,5 M • V_{col} (U) ≈ 5 V_m = 10,8 µL en milieu HCl 1 M

La figure 6-24 reprend schématiquement le protocole de séparation mis en œuvre sur lab-on-CD. Préalablement à la séparation, la colonne monolithique est conditionnée par environ 40 V_m d'HCl 9,5 M à une vitesse de rotation de 2000 tr.min^{-1} (débit = 2,3 µL.min^{-1}). L'injection de l'échantillon s'effectue ensuite à 900 tr.min^{-1} (débit = 0,5 µL.min^{-1}) de façon à obtenir une vitesse linéaire identique à celle en colonnes capillaires : environ 0,1 mm.s^{-1}. La collecte de la fraction d'Europium est ensuite effectuée à la même vitesse de rotation, en 16 min.

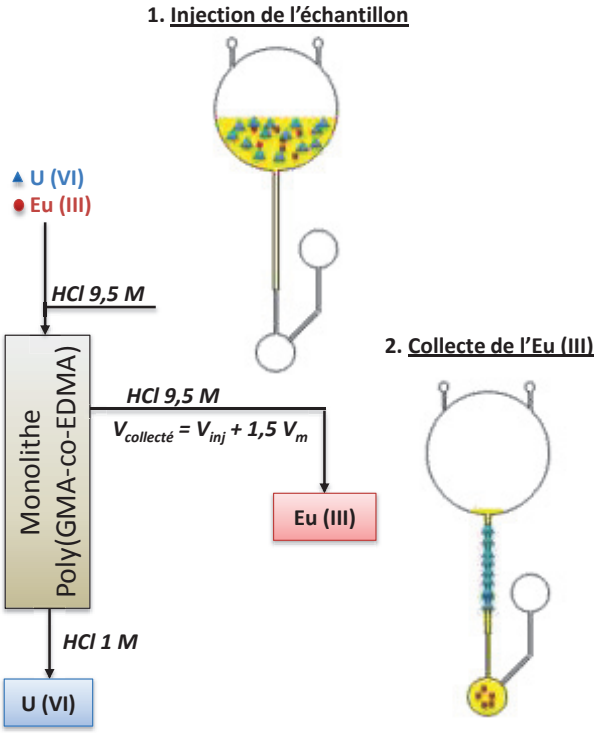


Figure 6-24 : Schéma du protocole et du procédé de séparation de l'Europium d'une matrice d'Uranium au moyen du prototype Lab-on-CD.

L'incertitude associée au volume injecté ne permet qu'une estimation des rendements d'extraction obtenus pour l'Europium et l'Uranium dans la fraction de collecte en HCl 9,5 M. Comme attendu, la totalité de l'Eu (III) injecté au départ est collectée avec un volume d'environ 8,2 µL (V_{inj} + 1,5 V_m) : rendement estimée à 94 %. Dans le même temps, il est possible de garantir l'absence d'Uranium dans cette fraction jusqu'à une concentration de 14 µg.L^{-1} (mesuré par ICP-MS), correspondant à moins de 0,1 % de la quantité injectée au départ. Ceci démontre l'efficacité de la séparation obtenue, avec le protocole établi au chapitre 4, et mise en œuvre avec les microsystèmes M2 et la plateforme lab-on-CD.

Par ailleurs, aucune trace d'Europium n'a pu être quantifiée dans la fraction d'Uranium. Néanmoins le rendement obtenu pour ce dernier (environ 36 %) reste à améliorer en augmentant le volume d'élution par exemple.

6.9 Conclusion

Les lab-on-CD offrent une grande liberté de conception concernant l'intégration de réservoir d'injection calibrés, de vannes ou de réservoir de collecte. Le prototype lab-on-CD développé, volontairement simplifié, a été conçu de façon à mettre en évidence leur intérêt pour la séparation U/Pu/PF par chromatographie. La conception du microsystème séparatif (type M2) a été orientée par des contraintes techniques de fabrication mais aussi par le type et la composition de l'échantillon. Il intègre un réservoir d'injection de 46,5 µL, une colonne monolithique d'échange d'anions présentant une capacité d'échange d'environ 215 nmol et un réservoir de collecte.

L'intégration de la colonne monolithique au sein des microsystèmes M2 a nécessité de localiser sa synthèse, à l'aide d'un masque UV. Cette nouvelle contrainte a imposé une ré-optimisation des conditions de polymérisation du monolithe poly(GMA-co-EDMA) en augmentant la puissance UV (émise par le four à 365 nm) afin d'obtenir à la fois un ancrage et une structure polymérique conformes aux résultats obtenus au chapitre 5.

La caractérisation des écoulements de phase mobile induits par la force centrifuge, au travers de la colonne monolithique, a ensuite permis d'une part de valider un modèle ajusté de l'évolution du débit de phase mobile en fonction de la vitesse angulaire appliquée, et d'autre part de caractériser la structure polymérique du monolithe, en fonction de la phase mobile utilisée, avant et après sa fonctionnalisation. En effet, suivant le milieu, le monolithe peut « gonfler » ou « se rétracter » (chapitre 3). Ces variations structurales ont pu être observées, par centrifugation, par l'intermédiaire de l'évolution du rayon hydrodynamique. Ainsi, la structure du monolithe évolue fortement avant et après greffage avec une augmentation du rayon hydrodynamique d'environ 10 %, en milieu 100 % ACN, après greffage. Finalement, la gamme de débits accessibles en milieu HCl 9,5 M (milieu d'intérêt pour la séparation des PF et de l'Uranium) s'étend ainsi de quelques centaines de $nL.min^{-1}$ à environ 3,5 $\mu L.min^{-1}$, pour des vitesses angulaires de 500 $tr.min^{-1}$ à 2500 $tr.min^{-1}$ respectivement. Le débit maximal correspond à une vitesse linéaire environ 7 fois plus élevée que celle obtenue sur les colonnes capillaires (0,7 $mm.s^{-1}$ comparée à 0,1 $mm.s^{-1}$), permettant d'envisager des séparations plus rapides.

Une première preuve de faisabilité a été montrée avec la séparation de l'Europium (III) et de l'Uranium (VI), présents à des concentrations identiques à celles de combustibles usés de type UOx. Le nouveau protocole de séparation développé, ainsi que sa mise en œuvre sur le prototype lab-on-CD permettent la collecte d'une fraction d'Europium pure.

Cette première séparation a permis de mettre en évidence l'utilisation particulière du prototype de lab-on-CD avec, non plus la séparation puis la collecte de chacune des fractions

d’intérêts (U, Pu, PF) mais plutôt la séparation et la collecte d’une seule fraction d’intérêt par microsystème. La plateforme permettant d’effectuer simultanément plusieurs séparations, il est ainsi possible de conduire 4 réplicats (collecte d’une seule et même fraction d’intérêt sur chacun des 4 microsystèmes). Par ailleurs, il est aussi envisageable de collecter des fractions différentes sur chacun des 4 microsystèmes. Ceci souligne encore une fois la nécessité de repenser les protocoles de séparation lors de leur implantation sur microsystèmes afin de tirer au maximum bénéfice de leurs propriétés intrinsèques : dans notre cas la parallélisation, l’automatisation des analyses mais aussi la possibilité d’orienter les liquides vers un réservoir de collecte spécifique.

Chapitre

7 Conclusions et perspectives

L'analyse chimique des combustibles nucléaires représente une étape clé du cycle nucléaire en raison de sa contribution à la fois pour l'optimisation du fonctionnement des réacteurs actuels, pour le développement de nouvelles générations de combustibles mais aussi pour la gestion du stockage des déchets radioactifs. Dans de nombreux cas, la caractérisation chimique du combustible, par le biais de mesures isotopiques, est réalisée par spectrométrie de masse sur des échantillons ne contenant nécessairement qu'un seul élément chimique. C'est pourquoi les étapes de traitement de l'échantillon et de séparations restent aujourd'hui incontournables. Néanmoins, elles sont longues, très irradiantes pour l'expérimentateur, difficiles à mettre en œuvre en boite à gants et produisent un volume de déchets liquides et solides significatifs.

Les travaux présentés dans ce manuscrit avaient donc pour objectif de proposer une alternative viable à la première étape d'analyse d'un combustible : la séparation de l'Uranium et du Plutonium du reste de la matrice contenant les actinides mineurs ainsi que les produits de fission (séparation « U/Pu/PF »). Cette alternative repose sur la conception de systèmes miniaturisés, automatisés et jetables, présentant, *a minima*, les mêmes performances analytiques que les systèmes actuels.

La conception d'un tel système a nécessité dans un premier temps la définition d'un cahier des charges tenant compte des contraintes spécifiques imposées par la séparation U/Pu/PF mais aussi par la volonté d'obtenir un système jetable et automatisé :

- séparation chromatographique nécessitant l'utilisation d'une phase stationnaire,
- utilisation de phases mobiles à base d'acide plusieurs fois molaires,
- gestion d'éléments chimiques très différents ainsi que d'une large gamme dynamique de concentrations dans les échantillons,
- la nécessité de séparer, puis de collecter des fractions extrêmement pures,
- limiter au maximum les opérations manuelles,
- concevoir un système peu coûteux.

Un état de l'art a été dressé dans le but d'identifier les solutions permettant de répondre au mieux aux contraintes imposées. Le principe de séparation choisi, basé sur la

chromatographie d'échange d'anions en milieu acide chlorhydrique, a imposé l'utilisation d'un matériau chimiquement résistant pour la conception du microsystème. Le thermoplastique COC satisfait à cette contrainte tout en présentant un coût faible, une structuration aisée et de nombreux avantages physico-chimiques que nous avons exploités pour l'intégration de la phase stationnaire. Le design du microsystème, inspiré des microsystèmes de type lab-on-CD, permet l'écoulement des liquides sans utilisation de connexions et d'appareillages externes, simplement grâce à la force centrifuge. Ce design particulier et innovant des microsystèmes séparatifs dédiés au domaine nucléaire, est parfaitement adapté à l'automatisation et à la parallélisation des analyses. Finalement, l'implantation d'une phase stationnaire à la fois adaptée aux dimensions des micro-canaux et à la séparation par chromatographie d'échange d'anions a été envisagée par le biais de la synthèse *in-situ* de polymères méthacrylates monolithiques fonctionnalisés par des fonctions ammonium quaternaire.

La première phase de développement, conduite sur colonnes capillaires pour des raisons essentiellement pratiques, a permis de mettre au point, dans un premier temps, une synthèse *in-situ* reproductible d'un monolithe poly(GMA-co-EDMA). L'optimisation des propriétés poreuses du monolithe, en vue de son utilisation en chromatographie, a été réalisée par l'ajustement des conditions d'initiation radicalaire de polymérisation. Dans un second temps, un protocole de greffage chimique post-synthèse de la triéthylamine sur les fonctions époxy présentes en surface du monolithe (monomère GMA) a été mis au point. Une capacité d'échange d'anions de 300 $\mu mol.g^{-1}$ (correspondant à 100 nmol par µL de colonne) a été obtenue et les performances chromatographiques de la phase stationnaire ont été évaluées en nano-chromatographie d'échange d'ions. La résistance chimique du monolithe a enfin été évaluée dans les milieux acides nitrique et chlorhydrique et validée seulement pour le second.

Conduite sur colonnes capillaires remplies du monolithe, la seconde phase de notre étude a montré que la trop faible rétention de l'U (VI) en milieu HCl 9,5 M ne permet pas le transfert direct du protocole de séparation U/Pu/PF utilisé sur les colonnes chromatographiques conventionnelles. La mise en place d'un outil de simulation de l'élution de l'U (VI) a permis de caractériser, pour une géométrie de colonne capillaire donnée, l'évolution de son profil d'élution en fonction de sa concentration initiale dans l'échantillon et du volume injecté. Ceci a permis dans un premier temps de mettre en place un nouveau protocole de séparation, puis, dans un second temps, de définir un domaine d'utilisation pour lequel ce protocole permet d'obtenir trois fractions pures d'Uranium, de Plutonium et de PF. Ceci constitue, à notre connaissance, la première mise en œuvre d'une telle séparation à un format miniaturisé même si nous avons constaté la présence résiduelle d'Uranium dans la fraction de Plutonium.

L'utilisation des colonnes capillaires monolithiques, bien qu'ayant permis de valider l'utilisation du monolithe développé pour la séparation U/Pu/PF, n'a constitué qu'une étape intermédiaire vers la conception du microsystème en COC. Avant d'envisager la mise en œuvre du protocole de séparation sur microsystème, la synthèse du monolithe a dû être adaptée aux propriétés physico-chimiques du COC, très éloignées de celles des colonnes capillaires en silice fondue. Une nouvelle méthodologie a été développée, à l'aide de microsystèmes simplifiés (M1), afin d'effectuer simultanément la synthèse du monolithe et son ancrage covalent aux parois du micro-canal. Le procédé mis en place permet un gain significatif en termes de simplicité de mise en œuvre mais surtout de reproductibilité de synthèse et a été breveté. La caractérisation du monolithe obtenu a permis de valider sa structure poreuse ainsi que sa capacité d'échange d'anions (équivalentes à celles obtenues dans les capillaires de silice).

La dernière phase de conception a concerné la fabrication d'un prototype de lab-on-CD (M2) constitué d'une plateforme rotative sur laquelle sont positionnés quatre microsystèmes de séparation U/Pu/PF. Ces microsystèmes intègrent une chambre d'injection, une colonne monolithique de séparation et un réservoir de collecte. La colonne monolithique a été dimensionnée à l'aide de l'outil de simulation développé avec les colonnes capillaires afin de pouvoir traiter des échantillons de combustibles de type UOx. Chaque microsystème est conçu pour la séparation puis la collecte d'une seule fraction d'intérêt. Par conséquent, il est possible d'effectuer simultanément, sur les quatre microsystèmes, soit la collecte de quatre fractions d'un même élément (réplicats), soit la collecte de fractions correspondant à des éléments différents. Ce procédé, ainsi que le design du prototype ont d'ailleurs fait l'objet d'un dépôt de brevet.

Bien que le prototype n'ait pas encore été implanté en boite à gants, ses performances analytiques ont été démontrées par la séparation de l'Europium d'une matrice contenant une concentration d'Uranium égale à celle d'un combustible UOx.

Concrètement, l'utilisation d'un tel dispositif permet de conserver les performances analytiques attendues tout en divisant le volume de déchets par environ 1000 avec la possibilité d'effectuer jusqu'à quatre séparations simultanément. Si ce prototype reste perfectible (notamment vis-à-vis du design), il constitue un outil d'intérêt majeur non-seulement pour une utilisation au LANIE, mais plus généralement au sein du cycle du combustible nucléaire, notamment lors de son retraitement. Par exemple, quelques 2000 séparations U/Pu sont actuellement réalisées à l'usine de la Hague par un protocole similaire à celui utilisé au LANIE. L'implantation de systèmes lab-on-CD tel que celui développé aurait alors un impact significatif sur le temps d'analyse, la radioprotection des personnels mais

aussi sur la diminution de la production de déchets radioactifs, dont le traitement représente aujourd'hui une part importante du coût de fonctionnement d'un laboratoire.

Par ailleurs, nous avons d'ores et déjà envisagé de diversifier l'utilisation du dispositif lab-on-CD développé pour d'autres séparations chromatographiques d'intérêt. Ainsi, le développement de deux autres techniques de fonctionnalisation du monolithe. La première a montré la possibilité de fonctionnaliser le monolithe notamment par la molécule Diamyl amyl-phosphonate (ou DAAP), très utilisée pour l'extraction de l'Uranium. La seconde, basée sur un greffage photochimique, autorise à envisager des fonctionnalisations localisées à différents endroits d'une même colonne, ou sur plusieurs colonnes en séries (s'apparente au couplage de colonne couramment utilisé en chromatographie d'extraction).

Quelle que soit la fonctionnalisation envisagée par la suite, une attention particulière devra être portée à la résistance chimique de la phase stationnaire en milieu acide nitrique, milieu d'intérêt majeur pour la radiochimie analytique.

Finalement, l'ensemble des développements réalisés dans cette étude crée un point de départ à la conception de dispositifs miniaturisés de séparation chromatographique lab-on-CD plus complexes, appliqués à une grande variété de séparations et dont l'intérêt pour le domaine du nucléaire apparaît indéniable.

Chapitre

8 Références bibliographiques

1. Janssens-Maenhout, G., "*The benefits of applying microsystems in radiochemistry*", Nanotechnology Perceptions, 2007, 3, 183-192.

2. Janssens-Maenhout, G., Buyst, J., Peerani, P., "*Reducing the radioactive doses of liquid samples taken from reprocessing plant vessels by volume reduction*", Nuclear Engineering and Design, 2007, 237, 880-886.

3. Vio, L., *Développement d'une plateforme analytique jetable basée sur l'isotachophorèse pour la séparation et la caractérisation isotopique des lanthanides*. 2010, Université de Lyon 1.

4. Mialle, S., *Développements analytiques en spectrométrie de masse à thermo-ionisation pour l'analyse isotopique de faibles quantités*. 2011, Université Paul Sabatier.

5. Kraus, K.A., Nelson, F.B. "*Anion exchange studies of the fission products"*. dans *International conference on the peaceful uses of atomic energy*. 1955. Genève.

6. Nash, K.L., "*Separation chemistry for lanthanides and trivalent actinides"*, dans *Handbook on the physics and chemistry of rare earths - Lanthanides/Actinides: chemistry*, ed. K.A. Gshneidner, J.L. Eyring, G.H. Lander, and G.C. Choppin, 1994

7. Qiao, J., Hou, X., Mira, M., Roos, P., "*Determination of plutonium isotopes in waters and environmental solids: A review*", Analytica Chimica Acta, 2009, 652, 66-84.

8. Vaudano, A., "*Le procédé PUREX"*, dans *Le traitement-recyclage du combustible nucléaire usé*, ed. L. Moniteur, 2008

9. Gardner, R.D., Ashley, W.H., "*The spectrophotometric determination of trace amounts of Uranium in high-purity plutonium metal",* ed. L.A.S. Laboratory, 1966.

10. Marcus, Y., "*Metal-chloride complexes studied by ion-exchange and solvent-extraction methods: PartI. Non-transition metal ions, lanthanides, actinides, and transition-metal ions*", Coordination Chemistry Reviews, 1967, 2, 195-238.

11. Gel'man, A.D., Moskvin, A.I., Zaitsev, L.M., Mefodova, M.D., "*Complex compounds of transuranium elements",* ed. C. Bureau, 1962.

12. Vajda, N., Kim, C.-K., "*Determination of transuranium isotopes (Pu, Np, Am) by radiometric techniques: a review of analytical methodology*", Analytical Chemistry, 2011, 83, 4688-4719.

13. Horwitz, E.P., Dietz, M., Chiarizia, R., Dietz, M.L., Diamond, H., Maxwell, S.L., Nelson, M.R., "*Separation and preconcentration of actinides by extraction*

chromatography using a supported liquid anion exchanger: application to the characterization of high-level nuclear waste solutions", Analytica Chimica Acta, 1995, 310, 63.

14. Weigel, F., "*Uranium compounds prepared from aqueous solutions"*, dans *The chemistry of actinide elements*, ed. J.J. Katz, G.T. Seaborg, and L.R. Morss, 1986

15. Kern, D.M.H., Orlemann, E.F., "*The potential of the Uranium (V), Uranium (VI) couple and the kinetics of Uranium (V) disproportionation in perchlorate media*", Journal of the American Chemical Society, 1949, 71, 2102-2106.

16. Ryan, J.L., "*Actinide (IV) chloride species absorbed by anion exchange resins from chloride solutions*", The Journal of Physical Chemistry, 1961, 65, 1856-1859.

17. Weigel, F., Katz, J.J., Seaborg, G.T., "*Plutonium ions in solutions"*, dans *The chemistry of actinide elements*, ed. J.J. Katz, G.T. Seaborg, and L.R. Morss, 1986

18. Lee, M.H., Kim, J.Y., Kim, W.H., Jung, E.C., Jee, K.Y., "*Investigation of the oxidation states of Pu isotopes in a hydrochloric acid solution*", Applied Radiation and Isotopes, 2008, 66, 1975-1979.

19. Lee, M.H., Park, Y.J., Kim, W.H., "*Absorption spectroscopic properties for Pu(III, IV and VI) in nitric and hydrochloric acid media*", Journal of Radioanalytical and Nuclear Chemistry, 2007, 273, 375-382.

20. Connick, R.E., "*Mechanism of the disproportionation of Plutonium (V)*", Journal of the American Chemical Society, 1949, 71, 1528-1535.

21. Lee, C.H., Suh, M.Y., Choi, K.S., Kim, J.S., Song, B.C., Jee, K.Y., Kim, W.H., "*Separation of fission products from spent pressurized water reactor fuels by anion exchange and extraction chromatography for inductively coupled plasma atomic emission spectrometric analysis*", Analytica Chimica Acta, 2001, 428, 133-142.

22. Farmer, O.T., Olsen, K.B., Thomas, M.L., Garofoli, S.J., "*Analysis of IAEA environmental samples for plutonium and uranium by ICP/MS in support of international safeguards*", Journal of Radioanalytical and Nuclear Chemistry, 2008, 276, 489.

23. Yarbro, S.L., Schreiber, S.B., Ortiz, E.M., Ames, R.L., "*Reducing Pu(IV) to Pu(III) with hydroxylamine in nitric acid solutions*", Journal of Radioanalytical and Nuclear Chemistry, 1998, 235, 21-24.

24. Chilton, J.M., Fardy, J.J., "*Isolation of Plutonium in chloride media: Anion exchange resin studies* ", Journal of Inorganic Nuclear Chemistry, 1969, 31, 1171-1177.

25. Cleveland, J.M., "*The Chemistry of Plutonium",* ed. A.N. Society, 1979.

26. McLane, C.K., Dixon, J.S., Hindman, J.C., "*The Transuranium Elements",* ed. G.T. Seaborg, 1946.

27. Weigel, F., Katz, J.J., Seaborg, G.T., "*Plutonium ion-exchange separations"*, dans *The chemistry of actinide elements*, ed. J.J. Katz, G.T. Seaborg, and L.R. Morss, 1986

28. Connick, R.E., "*The actinide Elements",* ed. G.T. Seaborg and J.J. Katz, 1954.

29. Lipis, L.V., Pozharskii, B.G., Fomin, V.V., Zhurnal Strukturnoi Khimii, 1960, 1, 135.

30. Faris, J.P., Buchanan, R.F., "*Anion exchange characteristics of the elements in nitric acid medium*", Analytical Chemistry, 1964, 36, 1157-1158.

31. Kressin, I.K., Waterbury, G.R., "*The quantitative separation of Plutonium from various ions by anion exchange*", Analytical Chemistry, 1962, 34, 1598-1601.

32. Ryan, J.L., "*Species involved in the anion-exchange absorption of quadrivalent actinide nitrates*", The Journal of Physical Chemistry, 1960, 64, 1375-1385.

33. Bunney, L.R., Ballou, N.E., Pascual, J., Foti, S., "*Quantitative radiochemical analysis by ion exchange: anion exchange behavior of several metal ions in hydrochloric, nitric, and sulfuric acid solutions*", Analytical Chemistry, 1959, 31, 324-326.

34. Nguyen Trung, C., Begun, G.M., Palmer, D.A., "*Aqueous uranium complexes. 2. Raman spectroscopic study of the complex formation of the dioxouranium(VI) ion with a variety of inorganic and organic ligands*", Inorganic Chemistry, 1992, 31, 5280-5287.

35. Ward, M., Welch, G.A., "*The chloride complexes of trivalent plutonium, americium, and curium*", Journal of Inorganic and Nuclear Chemistry, 1956, 2, 395-402.

36. Vita, O.A., Walker, C.R., Trivisonno, C.F., Sparks, R.W., "*Anion exchange separation for the determination of uranium in complex solutions*", Analytical Chemistry, 1970, 42, 465-469.

37. Marsh, S.F., "*Separation of trace Uranium from Plutonium for subsequent analysis",* ed. L.A.S. Laboratory, 1992.

38. Horwitz, E.P., Dietz, M.L., Nelson, D.M., LaRosa, J.J., Fairman, W.D., "*Concentration and separation of actinides from urine using a supported bifunctional organophosphorus extractant*", Analytica Chimica Acta, 1990, 238, 263.

39. Horwitz, E.P., Martin, K.A., Diamond, H., Kaplan, L., "*Extraction of Am from nitric acid by carbamoyl-phosphoryl extractants: the influence of substituents on the selectivity of Am over Fe and selected fissions products*", Solvent Extraction and Ion Exchange, 1986, 4, 449.

40. Horwitz, E.P., Diamond, H., Martin, K.A., "*The extraction of selected actinides in the (III) (IV) and (VI) oxidation states from hydrochloric acid by Oπ D(iB) CMPO: the TRUEX-Chloride process*", Solvent Extraction and Ion Exchange, 1987, 5, 447.

41. Burnett, W.C., Corbett, D.R., Schultz, M., Horwitz, E.P., Chiarizia, R., Dietz, M., Thakkar, A., Fern, M., "*Pre-concentration of actinide elements from soils and large volume water samples using extraction chromatography*", Journal of Radioanalytical Nuclear Chemistry, 1997, 226, 121.

42. Horwitz, E.P., Chiarizia, R., Dietz, M.L., "*Dipex: A new extraction chromatographic material for the separation and preconcentration of actinides from aqueous solution*", Reactive and Functional Polymers, 1997, 33, 25.

43. Horwitz, E.P., McAlister, D.R., Bond, A.H., Barrans, R.E., "*A novel strontium-selective extraction chromatographic resin*", Solvent Extraction and Ion Exchange, 2005, 23, 319.

44. Vajda, N., Torvenyi, A., Kis-Benedek, G., Kim, C.K., "*Development of extraction chromatographic separation procedures for the simultaneous determination of actinides*", Radiochimica Acta, 2009, 97, 9-16.

45. Shimada, A., Haraga, T., Hoshi, A., Kameo, Y., Nakashima, M., Takahashi, K., "*Analysis of Th, U, Pu and Am in radioactive metal waste using extraction chromatography*", Journal of Radioanalytical and Nuclear Chemistry, 2010, 286, 765-770.

46. Rozmaric, M., Ivsic, A.G., Grahek, Z., "*Determination of uranium and thorium in complex samples using chromatographic separation, ICP-MS and spectrophotometric detection*", Talanta, 2009, 80, 352-362.

47. Lee, M.H., Lee, C.W., "*Radiochemical analysis of uranium isotopes in soil and sediment samples with extraction chromatography*", Talanta, 2001, 54, 181-186.

48. Warwick, E., Croudace, I.W., Dale, A.A., "*An optimised and robust method for the determination of Uranium and Plutonium in aqueous samples*", Applied Radiation and Isotopes, 1999, 50, 579-583.

49. Croudace, I., Warwick, P., Taylor, R., Dee, S., "*Rapid procedure for plutonium and uranium determination in soils using a borate fusion followed by ion-exchange and extraction chromatography*", Analytica Chimica Acta, 1998, 371, 217-225.

50. Pilvio, R., Bickel, M., "*Separation of actinides from a bone ash matrix with extraction chromatography*", Journal of Alloys and Compounds, 1998, 271, 49-53.

51. Morgenstern, A., Apostolidis, C., Carlos-Marquez, R., Mayer, K., Molinet, R., "*Single-column extraction chromatographic separation of U, Pu, Np and Am*", Radiochimica Acta, 2002, 90, 81-85.

52. Dinh, B., Baron, P., Duhamet, J., "*Opérations de séparation et de purification du procédé PUREX*", dans *Le traitement-recyclage du combustible nucléaire usé*, ed. 2008

53. Guérin, N., Nadeau, K., Larivière, D., "*Neptunium (III) application in extraction chromatography*", Talanta, 2011, 87, 8-14.

54. Tsai, T.-L., Lin, C.-C., Chu, T.-C., "*Micro-column solid phase extraction to determine uranium and thorium in environmental samples*", Applied Radiation and Isotopes, 2008, 66, 1097-1103.

55. Terry, S.C., Jerman, J.H., Angell, J.B., "*A gas chromatographic air analyzer fabricated on a silicon wafer*", IEEE Trans. Electron Devices, 1979, 26, 1880.

56. Manz, A., Graber, N., Widmer, H.M., "*Miniaturized total chemical analysis systems: A novel concept for chemical sensing*", Sensors and Actuators B: Chemical, 1990, 1, 244-248.

57. Yin, H., Killeen, K., Brennen, R., Sobek, D., Werlich, M., van de Goor, T., "*Microfluidic chip for peptide analysis with an integrated HPLC column, sample enrichment column, and nanoelectrospray tip*", Analytical Chemistry, 2005, 77, 527-533.

58. Reddy, K., Guo, Y., Liu, J., Lee, W., Khaing Oo, M.K., Fan, X., "*Rapid, sensitive, and multiplexed on-chip optical sensors for micro-gas chromatography*", Lab on a Chip, 2012, 12, 901-905.

59. Kameoka, J., Craighead, H.G., Zhang, H., Henion, J., "*A polymeric microfluidic chip for CE/MS determination of small molecules*", Analytical Chemistry, 2001, 73, 1935.

60. Gottschlich, N., Jacobson, S.C., Culbertson, C.T., Ramsey, J.M., "*Two-dimensional electrochromatography/capillary electrophoresis on a microchip*", Analytical Chemistry, 2001, 73, 2669-2674.

61. Harrison, D.J., Manz, A., Fan, Z., Luedi, H., Widmer, M.H., "*Capillary electrophoresis and sample injection systems integrated on a planar glass chip*", Analytical Chemistry, 1992, 64, 1926.

62. Ladner, Y., Crétier, G., Faure, K., "*Electrochromatography in cyclic olefin copolymer microchips: A step towards field portable analysis*", Journal of Chromatography A, 2011, 1217, 8001-8008.

63. Whitesides, G.M., "*The origins and the future of microfluidics*", Nature, 2006, 442, 27.

64. Begolo, S., Colas, G., Viovy, J.-L., Malaquin, L., "*New family of fluorinated polymer chips for droplet and organic solvent microfluidics*", Lab on a Chip, 2011, 11, 508-512.

65. Robotti, K.M., Yin, H., Brennen, R., Trojer, L., Killeen, K., "*Microfluidic HPLC-Chip devices with integral channels containing methylstyrenic-based monolithic media*", Journal of Separation Science, 2009, 32, 3379-3387.

66. Maruyama, T., Maeuchi, T., "*Centrifugal-force driven flow in cylindrical micro-channel*", Chemical Engineering Science, 2008, 63, 153-156.

67. Kubota, F., Uchida, J.-I., Goto, M., "*Extraction and separation of rare earth metals by a microreactor*", Solvent Extraction research and Development, Japan, 2003, 10, 93-102.

68. Ban, Y., Kikutani, Y., Tokeshi, M., Morita, Y., "*Extraction of Am (III) at the interface of organic-aqueous two-layer flow in a microchannel*", Journal of nuclear science and technology, 2011, 48, 1313–1318.

69. Kagawa, T., Ohno, M., Seki, T., Chikama, K., "*Online determination of copper in aluminium alloy by microchip solvent extraction using isotope dilution ICP-MS method*", Talanta, 2009, 79, 1001-1005.

70. Vio, L., Cretier, G., Chartier, F., Geertsen, V., Gourgiotis, A., Isnard, H., Morin, P., Rocca, J.-L., "*Coupling between chip based isotachophoresis and multi-collector inductively coupled plasma mass spectrometry for separation and measurement of lanthanides*", Journal of Analytical Atomic Spectrometry, 2012, 27, 850-856.

71. Verpoorte, E., De Rooij, N.F., "*Microfluidics meets MEMS*", Proc IEEE, 2003, 91, 930-953.

72. Cheng, J.Y., Yen, M.H., Wei, C.W., Chuang, Y.C., Young, T.H., "*Crack-free, direct writing on glass using a low-power UV laser in the manufacture of a microfluidic chip*", Journal of Micromechanics and Microengineering, 2005, 15, 1147.

73. Ichili, T., Sugiyama, Y., Taura, R., Koidesawa, T., Horjike, Y., "*Plasma application for biochip technology*", Thin Solid Films, 2003, 435, 62.

74. Deverell, J.A., Rodemann, T., Smith, J.A., Canty, A.J., Guijt, R.M., "*UV initiated formation of polymer monoliths in glass and polymer microreactors*", Sensors and Actuators B: Chemical, 2011, 155, 388-396.

75. Becker, H., Locascio, L.E., "*Polymer microfluidic devices*", Talanta, 2002, 56, 267-287.

76. Fontanille, M., Gnanou, Y., "*Chimie et Physico-chimie des polymères",* ed. Dunod, 2003.

77. Becker, H., Gärtner, C., "*Polymer microfabrication methods for microfluidic analytical applications*", Electrophoresis, 2000, 21, 12-26.

78. Saias, L., Autebert, J., Malaquin, L., Viovy, J.-L., "*Design, modeling and characterization of microfluidic architectures for high flow rate, small footprint microfluidic systems*", Lab on a Chip, 2011, 11, 822-832.

79. Pallandre, A., Debjani, P., De Lambert, B., Viovy, J.L., "*New 'monolithic' templates and improved protocols for soft lithography and microchip fabrication*", Journal of Physics and Condensed Matter, 2006, 18, S665 - S676.

80. McDonald, J.C., Duffy, D.C., Anderson, J.R., Chiu, D.T., Wu, H., Schueller, O.J.A., Whitesides, G.M., "*Fabrication of microfluidic systems in poly(dimethylsiloxane)*", Electrophoresis, 2000, 21, 27-40.

81. Duffy, D.C., McDonald, J.C., Schueller, O.J.A., Whitesides, G.M., "*Rapid prototyping of microfluidic systems in poly(dimethylsiloxane)*", Analytical Chemistry, 1998, 70, 4974-4984.

82. Xia, Y., Whitesides, G.M., "*Soft lithography*", Angewandte Chemie International Edition, 1998, 37, 550-575.

83. Makamba, H., Kim, J.H., Lim, K., Park, N., Hahn, J.H., "*Surface modification of poly(dimethylsiloxane) microchannels*", Electrophoresis, 2003, 24, 3607-3619.

84. Lee, J.N., Park, C., Whitesides, G.M., "*Solvent compatibility of poly(dimethylsiloxane)-based microfluidic devices*", Analytical Chemistry, 2003, 75, 6544-6554.

85. Abgrall, P., Gué, A.M., "*Lab-on-chip technologies: making a microfluidic network and coupling it into a complete microsystem, a review*", Journal of Micromechanics and Microengineering, 2007, 17, R15-R49.

86. Shadpour, H., Musyimi, H., Chen, J., Soper, S.A., "*Physicochemical properties of various polymer substrates and their effects on microchip electrophoresis performance*", Journal of Chromatography A, 2006, 1111, 238-251.

87. Liu, C., Li, J.M., Liu, J.S., Wang, L.D., "*Deformation behavior of solid polymer during hot embossing process*", Microelectronic Engineering, 2010, 87, 200-207.

88. Tsao, C.-W., DeVoe, D., "*Bonding of thermoplastic polymer microfluidics*", Microfluidics and Nanofluidics, 2009, 6, 1-16.

89. Heckele, M., W.K., S., "*Review on micro molding of thermoplastic polymers*", Journal of Micromechanics and Microengineering, 2004, 14, 1.

90. Miserere, S., Mottet, G., Taniga, V., Descroix, S., Viovy, J.L., Malaquin, L., "*Fabrication of thermoplastics chips through lamination based techniques*", Lab on a Chip, 2012, 12, 1849-1856.

91. Cortese, B., Mowlem, M.C., Morgan, H., "*Characterisation of an irreversible bonding process for COC-COC and COC-PDMS-COC sandwich structures and application to microvalves*", Sensors and Actuators B: Chemical, 2011, 160, 1473-1480.

92. Mair, D.A., Rolandi, M., Snauko, M., Noroski, R., Svec, F., Fréchet, J.M.J., "*Room-temperature bonding for plastic high-pressure microfluidic chips*", Analytical Chemistry, 2007, 79, 5097-5102.

93. Tsao, C.W., Hromada, L., Liu, J., Kumar, P., DeVoe, D.L., "*Low temperature bonding of PMMA and COC microfluidic substrates using UV/ozone surface treatment*", Lab on a Chip, 2007, 7, 499-505.

94. Nunes, P.S., Ohlsson, P.D., Ordeig, O., Kutter, J.P., "*Cyclic olefin polymers : emerging materials for lab-on-a-chip applications*", Microfluidics and Nanofluidics, 2010, 9, 145-161.

95. Faure, K., Albert, M., Dugas, V., Crétier, G., Ferrigno, R., Morin, P., Rocca, J.-L., "*Development of an acrylate monolith in a cyclo-olefin copolymer microfluidic device for chip electrochromatography separation*", Electrophoresis, 2008, 29, 4948-4955.

96. Stachowiak, T.B., Mair, D.A., Holden, T.G., Lee, L.J., Svec, F., Fréchet, J.M.J., "*Hydrophilic surface modification of cyclic olefin copolymer microfluidic chips using sequential photografting*", Journal of Separation Science, 2007, 30, 1088-1093.

97. Flook, K., Agroskin, Y., Pohl, C., "*Reversed-phase monoliths prepared by UV polymerization of divinylbenzene*", Journal of Separation Science, 2011, 34, 2047-2053.

98. Mark, D., Haeberle, S., Roth, G., von Stetten, F., Zengerle, R., "*Microfluidic Lab-on-a-chip platforms : requirements, characteristics and applications*", Chemical Society Reviews, 2010, 39, 1153-1182.

99. Faure, K., "*Liquid chromatography on chip*", Electrophoresis, 2010, 31, 2499-2511.

100. Liu, J., Chen, C.-F., Tsao, C.-W., Chang, C.-C., Chu, C.-C., DeVoe, D.L., "*Polymer microchips integrating solid-phase extraction and high-performance liquid*

chromatography using reversed-phase polymethacrylate monoliths", Analytical Chemistry, 2009, 81, 2545-2554.

101. Kiplagat, I.K., Kubán, P., Pelcová, P., Kubán, V., "*Portable, lightweight, low power, ion chromatographic system with open tubular capillary columns*", Journal of Chromatography A, 2010, 1217, 5116-5123.

102. Borowsky, J.F., Giordano, B.C., Lu, Q., Terray, A., Collins, G.E., "*Electroosmotic flow-based pump for liquid chromatography on a planar microchip*", Analytical Chemistry, 2008, 80, 8287-8292.

103. Madou, M., Zoval, J., Jia, G., Kido, H., Kim, J., Kim, N., "*Lab on a CD*", Annual Review of Biomedical Engineering, 2006, 8, 601-628.

104. Lafleur, J.P., Rackov, A.A., McAuley, S., Salin, E.D., "*Miniaturised centrifugal solid phase extraction platforms for in-field sampling, pre-concentration and spectrometric detection of organic pollutants in aqueous samples*", Talanta, 2010, 81, 722-726.

105. Lafleur, J.P., Salin, E.D., "*Pre-concentration of trace metals on centrifugal microfluidic discs with direct determination by laser ablation inductively coupled plasma mass spectrometry*", Journal of Analytical Atomic Spectrometry, 2009, 24, 1511-1516.

106. Penrose, A., Myers, P., Bartle, K., McCrossen, S., "*Development and assessment of a miniaturised centrifugal chromatograph for reversed-phase separations in micro-channels*", Analyst, 2004, 129, 704-709.

107. Jacobson, S.C., Hergenroeder, R., Koutny, L.B., Ramsey, J.M., "*Open channel electrochromatography on a microchip*", Analytical Chemistry, 1994, 66, 2369-2373.

108. Li, H.-F., Zeng, H., Chen, Z., Lin, J.-M., "*Chip-based enantioselective open-tubular capillary electrochromatography using bovine serum albumin-gold nanoparticle conjugates as the stationary phase*", Electrophoresis, 2009, 30, 1022-1029.

109. He, B., Regnier, F., "*Microfabricated liquid chromatography columns based on collocated monolith support structures*", Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis, 1998, 17, 925-932.

110. Slentz, B.E., Penner, N.A., Lugowska, E., Regnier, F., "*Nanoliter capillary electrochromatography columns based on collocated monolithic support structures molded in poly(dimethyl siloxane)*", Electrophoresis, 2001, 22, 3736-3743.

111. Illa, X., De Malsche, W., Gardeniers, H., Desmet, G., Romano-Rodríguez, A., "*Experimental study of the retention properties of a cyclo olefin polymer pillar array column in reversed-phase mode*", Journal of Separation Science, 2010, 33, 3313-3318.

112. Fonverne, A., Ricoul, F., Demesmay, C., Delattre, C., Fournier, A., Dijon, J., Vinet, F., "*In situ synthesized carbon nanotubes as a new nanostructured stationary phase for microfabricated liquid chromatographic column*", Sensors and Actuators B: Chemical, 2008, 129, 510-517.

113. Knox, J.H., "*Band dispersion in chromatography: a universal expression for the contribution from the mobile zone*", Journal of Chromatography A, 2002, 960, 7-18.

114. De Pra, M., Kok, W.T., Schoenmakers, P.J., "*Topographic structures and chromatographic supports in microfluidic separation devices*", Journal of Chromatography A, 2008, 1184, 560-572.

115. D'Orazio, G., Fanali, S., "*C18 silica packed capillary columns with monolithic frits prepared with UV light emitting diode: Usefulness in nano-liquid chromatography and capillary electrochromatography*", Journal of Chromatography A, 2012, 1232, 176-182.

116. Hua, Y., Jemere, A.B., Harrison, D.J., "*On-chip solid phase extraction and enzyme digestion using cationic PolyE-323 coatings and porous polymer monoliths coupled to electrospray mass spectrometry*", Journal of Chromatography A, 2011, 1218, 4039-4044.

117. Wang, Z., Wang, W., Chen, G., Wang, W., Fu, F., "*Liquid chromatography on a monolithic column microfluidic chip coupled with "three-T" sample injection mode and amperometric detection*", Journal of Separation Science, 2010, 33, 2568-2574.

118. Abele, S., Nie, F.Q., Foret, F., Paull, B., Macka, M., "*UV-LED photopolymerized monoliths*", The Analyst, 2008, 133, 864 - 866.

119. Peterson, D.S., Rohr, T., Svec, F., Frechet, J.M.J., "*Dual-function microanalytical device by in situ photolithographic grafting of porous polymer monolith: integrating solid-phase extraction and enzymatic digestion for peptide mass mapping*", Analytical Chemistry, 2003, 75, 5328-5335.

120. Guiochon, G., "*Monolithic columns in high-performance liquid chromatography*", Journal of Chromatography A, 2007, 1168, 101-168.

121. Stachowiak, T.B., Svec, F., Fréchet, J.M.J., "*Chip electrochromatography*", Journal of Chromatography A, 2004, 1044, 97-111.

122. Levkin, P.A., Eeltink, S., Stratton, T.R., Brennen, R., Robotti, K., Yin, H., Killeen, K., Svec, F., Fréchet, J.M.J., "*Monolithic porous polymer stationary phases in polyimide chips for the fast high-performance liquid chromatography separation of proteins and peptides*", Journal of Chromatography A, 2008, 1200, 55-61.

123. Rohr, T., Ogletree, D.F., Svec, F., Fréchet, J.M.J., "*Surface functionalization of thermoplastic polymers for the fabrication of microfluidic devices by photoinitiated grafting*", Advanced Functional Materials, 2003, 13, 264-270.

124. He, M., Bao, J.-B., Zeng, Y., Harrison, D.J., "*Parameters governing reproducibility of flow properties of porous monoliths photopatterned within microfluidic channels*", Electrophoresis, 2010, 31, 2422-2428.

125. Hjertén, S., Liao, J.-L., Zhang, R., "*High-performance liquid chromatography on continuous polymer beds*", Journal of Chromatography A, 1989, 473, 273-275.

126. Tennikova, T.B., Belenkii, B.G., Svec, F., "*High-performance membrane chromatography. A novel method of protein separation*", Journal of Liquid Chromatography, 1990, 13, 63-70.

127. Nakanishi, K., Soga, N., "*Phase separation in gelling silica–organic polymer solution: systems containing poly(sodium styrenesulfonate)*", Journal of the American Ceramic Society, 1991, 74, 2518-2530.

128. Li, Y., Tolley, H.D., Lee, M.L., "*Preparation of monoliths from single crosslinking monomers for reversed-phase capillary chromatography of small molecules*", Journal of Chromatography A, 2011, 1218, 1399-1408.

129. Leinweber, F.C., Tallarek, U., "*Chromatographic performance of monolithic and particulate stationary phases: Hydrodynamics and adsorption capacity*", Journal of Chromatography A, 2003, 1006, 207-228.

130. Randon, J., Huguet, S., Piram, A., Puy, G., Demesmay, C., Rocca, J.-L., "*Synthesis of zirconia monoliths for chromatographic separations*", Journal of Chromatography A, 2006, 1109, 19-25.

131. Randon, J., Guerrin, J.-F., Rocca, J.-L., "*Synthesis of titania monoliths for chromatographic separations*", Journal of Chromatography A, 2008, 1214, 183-186.

132. Unger, K.K., Skudas, R., Schulte, M.M., "*Particle packed columns and monolithic columns in high-performance liquid chromatography-comparison and critical appraisal*", Journal of Chromatography A, 2008, 1184, 393-415.

133. Urban, J., Svec, F., Fréchet, J.M.J., "*Efficient separation of small molecules using a large surface area hypercrosslinked monolithic polymer capillary column*", Analytical Chemistry, 2010, 82, 1621-1623.

134. Nischang, I., Brüggemann, O., "*On the separation of small molecules by means of nano-liquid chromatography with methacrylate-based macroporous polymer monoliths*", Journal of Chromatography A, 2010, 1217, 5389-5397.

135. Xu, Z., Yang, L., Wang, Q., "*Different alkyl dimethacrylate mediated stearyl methacrylate monoliths for improving separation efficiency of typical alkylbenzenes and proteins*", Journal of Chromatography A, 2009, 1216, 3098-3106.

136. He, P., Greenway, G., Haswell, S., "*Development of enzyme immobilized monolith micro-reactors integrated with microfluidic electrochemical cell for the evaluation of enzyme kinetics*", Microfluidics and Nanofluidics, 2010, 8, 565-573.

137. Wu, Q., Bienvenue, J.M., Hassan, B.J., Kwok, Y.C., Giordano, B.C., Norris, P.M., Landers, J.P., Ferrance, J.P., "*Microchip-based macroporous silica sol-gel monolith for efficient isolation of DNA from clinical samples*", Analytical Chemistry, 2006, 78, 5704-5710.

138. Norborg, A., Hilder, E.F., Haddad, P.R., "*Monolithic phases for ion chromatography*", Annual Review of Analytical Chemistry, 2011, 4, 197 - 226

139. Urban, J., Jandera, P., "*Polymethacrylate monolithic columns for capillary liquid chromatography*", Journal of Separation Science, 2008, 31, 2521-2540.

140. Buchmeiser, M.R., "*Metathesis polymerization-derived chromatographic supports*", Journal of Chromatography A, 2004, 1060, 43-60.

141. Sinner, F., Buchmeiser, M.R., "*A new class of continuous polymer supports prepared by ring-opening metathesis polymerization: a straightforward route to functionalized monoliths*", Macromolecules, 2000, 33, 5777-5786.

142. Svobodová, A., Krízek, T., Sirc, J., Sálek, P., Tesarová, E., Coufal, P., Stulík, K., "*Monolithic columns based on a poly(styrene-divinylbenzene-methacrylic acid) copolymer for capillary liquid chromatography of small organic molecules*", Journal of Chromatography A, 2011, 1218, 1544-1547.

143. Walsh, Z., Levkin, P.A., Jain, V., Paull, B., Svec, F., Macka, M., "*Visible light initiated polymerization of styrenic monolithic stationary phases using 470 nm light emitting diode arrays*", Journal of Separation Science, 2010, 33, 61-66.

144. Hutchinson, J.P., Hilder, E.F., Shellie, R.A., Smith, J.A., Haddad, P.R., "*Towards high capacity latex-coated porous polymer monoliths as ion-exchange stationary phases*", Analyst, 2006, 131, 215 - 221.

145. Liao, J.-L., Li, Y.-M., Hjertén, S., "*Continuous beds for microchromatography: reversed-phase chromatography*", Analytical Biochemistry, 1996, 234, 27-30.

146. Liang, Y., Zhu, G., Wang, T., Zhang, X., Liang, Z., Zhang, L., Zhang, Y., "*Fast preparation of monolithic immobilized pH gradient column by photopolymerization and photografting techniques for isoelectric focusing separation of proteins*", Electrophoresis, 2011, 32, 2911-2914.

147. Palm, A.K., Novotny, M.V., "*Analytical characterization of a facile porous polymer monolithic trypsin microreactor enabling peptide mass mapping using mass spectrometry*", Rapid Communications in Mass Spectrometry, 2004, 18, 1374-1382.

148. Hilder, N., "*Recent advances in polymer monoliths for ion-exchange chromatography*", Analytical Bioanalysis and Chemistry, 2009, 394,

149. Namera, A., Nakamoto, A., Saito, T., Miyazaki, S., "*Monolith as a new sample preparation material: Recent devices and applications*", Journal of Separation Science, 2011, 34, 901-924.

150. Vlakh, E.G., Tennikova, T.B., "*Applications of polymethacrylate-based monoliths in high-performance liquid chromatography*", Journal of Chromatography A, 2009, 1216, 2637-2650.

151. Oscar, G.P., Emily, F.H., "*Porous polymer monoliths for extraction: Diverse applications and platforms*", Journal of Separation Science, 2008, 31, 1881-1906.

152. Chambers, S.D., Glenn, K.M., Lucy, C.A., "*Developments in ion chromatography using monolithic columns*", Journal of Separation Science, 2007, 30, 1628-1645.

153. http://www.sigmaaldrich.com/materials-science/material-science-products

154. Smith, N.W., Jiang, Z., "*Developments in the use and fabrication of organic monolithic phases for use with high-performance liquid chromatography and capillary electrochromatography*", Journal of Chromatography A, 2008, 1184, 416-440.

155. Plieva, F.M., Galaev, I.Y., Mattiasson, B., "*Macroporous gels prepared at subzero temperatures as novel materials for chromatography of particulate-containing fluids and cell culture applications*", Journal of Separation Science, 2007, 30, 1657-1671.

156. Barbetta, A., Dentini, M., Leandri, L., Ferraris, G., Coletta, A., Bernabei, M., "*Synthesis and characterization of porous glycidylmethacrylate-co-divinylbenzene monoliths using the high internal phase emulsion approach*", Reactive and Functional Polymers, 2009, 69, 724-736.

157. Svec, F., "*Porous polymer monoliths: Amazingly wide variety of techniques enabling their preparation*", Journal of Chromatography A, 2010, 1217, 902 - 924.

158. Sinitsyna, E.S., Vlakh, E.G., Rober, M.Y., Tennikova, T.B., "*Hydrophilic methacrylate monoliths as platforms for protein microarray*", Polymer, 2011, 52, 2132-2140.

159. Svec, F., "*Porous polymer monoliths: Amazingly wide variety of techniques enabling their preparation*", Journal of Chromatography A, 2010, 1217, 902-924.

160. Vlakh, E.G., Tennikova, T.B., "*Preparation of methacrylate monoliths*", Journal of Separation Science, 2007, 30, 2801-2813.

161. Flory, P., "*Principles of polymer chemistry",* ed. 1953.

162. Odian, G., "*Principles of polymerization",* ed. J.W. Sons, 2004.

163. Kerr, J.A., "*Rate processes in the gas phase"*, dans *Free Radicals*, ed. J.K. Kochi, 1973

164. Kondratiev, V.N., "*Comprehensive chemical kinetics"*, dans *Free Radicals*, ed. C.H. Bamford and C.F.H. Tipper, 1969

165. Davis, F.J., "*Polymer chemistry",* ed. L.M. Harwood and C.J. Moody, 2004.

166. Urban, J.Ã., Jandera, P., Schoenmakers, P., "*Preparation of monolithic columns with target mesopore-size distribution for potential use in size-exclusion chromatography*", Journal of Chromatography A, 2007, 1150, 279-289.

167. Viklund, C., Svec, F., Frechet, J.M.J., Irgum, K., "*Monolithic, "molded", porous materials with high flow characteristics for separations, catalysis, or solid-phase chemistry: control of porous properties during polymerization*", Chemistry of Materials, 1996, 8, 744-750.

168. Deridder, S., Eeltink, S., Desmet, G., "*Computational study of the relationship between the flow resistance and the microscopic structure of polymer monoliths*", Journal of Separation Science, 2011, 34, 2038-2046.

169. Calleri, E., Temporini, C., Gasparrini, F., Simone, P., Villani, C., Ciogli, A., Massolini, G., "*Immobilized trypsin on epoxy organic monoliths with modulated hydrophilicity: Novel bioreactors useful for protein analysis by liquid chromatography coupled to tandem mass spectrometry*", Journal of Chromatography A, 2011, 1218, 8937-8945.

170. Ou, J., Gibson, G.T.T., Oleschuk, R.D., "*Fast preparation of photopolymerized poly(benzyl methacrylate-co-bisphenol A dimethacrylate) monoliths for capillary electrochromatography*", Journal of Chromatography A, 2010, 1217, 3628-3634.

171. van Deemter, J.J., Zuiderweg, F.J., Klinkenberg, A., "*Longitudinal diffusion and resistance to mass transfer as causes of nonideality in chromatography*", Chemical Engineering Science, 1956, 5, 271-289.

172. Danquah, M.K., Forde, M.F., "*Enhancing methacrylate-monolith-based downstream processes to champion plasmid DNA production*", Biotechnology and Applied Biochemistry, 2007, 48, 85-91.

173. Lee, D., Svec, F., Fréchet, J.M.J., "*Photopolymerized monolithic capillary columns for rapid micro high-performance liquid chromatographic separation of proteins*", Journal of Chromatography A, 2004, 1051, 53-60.

174. Gusev, I., Huang, X., Horváth, C., "*Capillary columns with in situ formed porous monolithic packing for micro high-performance liquid chromatography and capillary electrochromatography*", Journal of Chromatography A, 1999, 855, 273-290.

175. Urban, J., Svec, F., Fréchet, J.M.J., "*Hypercrosslinking: New approach to porous polymer monolithic capillary columns with large surface area for the highly efficient separation of small molecules*", Journal of Chromatography A, 2010, 1217, 8212-8221.

176. Svec, F., Frechet, J.M.J., "*Continuous rods of macroporous polymer as high-performance liquid chromatography separation media*", Analytical Chemistry, 1992, 64, 820-822.

177. Connolly, D., Paull, B., "*High-performance separation of small inorganic anions on a methacrylate-based polymer monolith grafted with [2(methacryloyloxy)ethyl] trimethylammonium chloride*", Journal of Separation Science, 2009, 32, 2653-2658.

178. Evenhuis, C.J., Buchberger, W., Hilder, E.F., Flook, K.J., Pohl, C.A., Nesterenko, P.N., Haddad, P.R., "*Separation of inorganic anions on a high capacity porous polymeric monolithic column and application to direct determination of anions in seawater*", Journal of Separation Science, 2008, 31, 2598-2604.

179. Ueki, Y., Umemura, T., Li, J., Odake, T., Tsunoda, K.-i., "*Preparation and application of methacrylate-based cation-exchange monolithic columns for capillary ion chromatography*", Analytical Chemistry, 2004, 76, 7007-7012.

180. Badaloni, E., Barbarino, M., Cabri, W., D'Acquarica, I., Forte, M., Gasparrini, F., Giorgi, F., Pierini, M., Simone, P., Ursini, O., Villani, C., "*Efficient organic monoliths prepared by [gamma]-radiation induced polymerization in the evaluation of histone deacetylase inhibitors by capillary(nano)-high performance liquid chromatography and ion trap mass spectrometry*", Journal of Chromatography A, 2011, 1218, 3862-3875.

181. Kubin, M., Spacek, P., Chromecek, R., *"Gel permeation chromatography on porous poly(ethylene glycol methacrylate)"*, Coll. Czech. Chemical Communication, 1967, 32, 3881.

182. Bandari, R., Elsner, C., Knolle, W., Kühnel, C., Decker, U., Buchmeiser, M.R., "*Separation behavior of electron-beam curing derived, acrylate-based monoliths*", Journal of Separation Science, 2007, 30, 2821-2827.

183. Viklund, C., Ponten, E., Glad, B., Irgum, K., Horstedt, P., Svec, F., "*Molded macroporous poly(glycidyl methacrylate-co-trimethylolpropane trimethacrylate) materials with fine controlled porous properties: preparation of monoliths using photoinitiated polymerization*", Chemistry of Materials, 1997, 9, 463-471.

184. Svec, F., Frechet, J.M.J., "*Kinetic control of pore formation in macroporous polymers. Formation of "molded" porous materials with high flow characteristics for separations or catalysis*", Chemistry of Materials, 1995, 7, 707-715.

185. Svec, F., Frechet, J.M.J., "*Temperature, a simple and efficient tool for the control of pore size distribution in macroporous polymers*", Macromolecules, 1995, 28, 7580-7582.

186. Nesterenko, E.P., Nesterenko, P.N., Connolly, D., Lacroix, F., Paull, B., "*Micro-bore titanium housed polymer monoliths for reversed-phase liquid chromatography of small molecules*", Journal of Chromatography A, 2010, 1217, 2138-2146.

187. Yu, C., Svec, F., Fréchet, J.M.J., "*Towards stationary phases for chromatography on a microchip: Molded porous polymer monoliths prepared in capillaries by photoinitiated "in-situ" polymerization as separation media for electrochromatography*", Electrophoresis, 2000, 21, 120-127.

188. Viklund, C., Ponten, E., Glad, B., Irgum, K., Horstedt, P., Svec, F., "*"Molded" macroporous poly(glycidyl methacrylate-co-trimethylolpropane trimethacrylate) materials with fine vontrolled porous properties: preparation of monoliths using photoinitiated polymerization*", Chemistry of Materials, 1997, 9, 463-471.

189. Deng, J., Wang, L., Liu, L., Yang, W., "*Developments and new applications of UV-induced surface graft polymerizations*", Progress in Polymer Science, 2009, 34, 156-193.

190. Szumski, M., Buszewski, B., "*Effect of temperature during photopolymerization of capillary monolithic columns*", Journal of Separation Science, 2009, 32, 2574-2581.

191. Takahashi, M., Hirano, T., Kitagawa, S., Ohtani, H., "*Separation of small inorganic anions using methacrylate-based anion-exchange monolithic column prepared by low temperature UV photo-polymerization*", Journal of Chromatography A, 2012, 1232, 123-127.

192. Walsh, Z., Levkin, P.A., Abele, S., Scarmagnani, S., Heger, D., Klán, P., Diamond, D., Paull, B., Svec, F., Macka, M., "*Polymerisation and surface modification of methacrylate monoliths in polyimide channels and polyimide coated capillaries using 660 nm light emitting diodes*", Journal of Chromatography A, 2011, 1218, 2954-2962.

193. Bernabé-Zafón, V., Beneito-Cambra, M., Simó-Alfonso, E.F., Herrero-Martínez, J.M., "*Comparison on photo-initiators for the preparation of methacrylate monolithic columns for capillary electrochromatography*", Journal of Chromatography A, 2010, 1217, 3231-3237.

194. Faure, K., Blas, M., Yassine, O., Delaunay, N., Crétier, G., Albert, M., Rocca, J.L., "*Electrochromatography in poly(dimethyl)siloxane microchips using organic monolithic stationary phases*", Electrophoresis, 2007, 28, 1668-1673.

195. Geiser, L., Eeltink, S., Svec, F., Fréchet, J.M.J., "*Stability and repeatability of capillary columns based on porous monoliths of poly(butyl methacrylate-co-ethylene dimethacrylate)*", Journal of Chromatography A, 2007, 1140, 140-146.

196. Augustin, V., Jardy, A., Gareil, P., Hennion, M.-C., "*In situ synthesis of monolithic stationary phases for electrochromatographic separations: Study of polymerization conditions*", Journal of Chromatography A, 2006, 1119, 80-87.

197. Huo, Y., Schoenmakers, P.J., Kok, W.T., "*Efficiency of methacrylate monolithic columns in reversed-phase liquid chromatographic separations*", Journal of Chromatography A, 2007, 1175, 81-88.

198. Ro, K.W., Liu, J., Busman, M., Knapp, D.R., "*Capillary high-performance liquid chromatography-electrospray ionization mass spectrometry using monolithic columns and carbon fiber electrospray ionization emitters*", Journal of Chromatography A, 2004, 1047, 49-57.

199. Yoshida, E., "*Photo-living radical polymerization of methyl methacrylate using alkoxyamine as an initiator*", Colloid and Polymer Science, 2010, 288, 7-13.

200. Yu, C., Davey, M.H., Svec, F., Fréchet, J.M.J., "*Monolithic porous polymer for on-chip solid-phase extraction and preconcentration prepared by photoinitiated in situ polymerization within a microfluidic device*", Analytical Chemistry, 2001, 73, 5088-5096.

201. Paine, A.J., Luymes, W., McNulty, J., "*Dispersion polymerization of styrene in polar solvents. 6. Influence of reaction parameters on particle size and molecular weight in poly(N-vinylpyrrolidone)-stabilized reactions*", Macromolecules, 1990, 23, 3104-3109.

202. Peters, E.C., Petro, M., Svec, F., Fréchet, J.M.J., "*Molded Rigid Polymer Monoliths as Separation Media for Capillary Electrochromatography*", Analytical Chemistry, 1997, 69, 3646-3649.

203. Smirnov, K.N., Dyatchkov, I.A., Telnov, M.V., Pirogov, A.V., Shpigun, O.A., "*Effect of monomer mixture composition on structure and chromatographic properties of poly(divinylbenzene-co-ethylvinylbenzene-co-2-hydroxyethyl methacrylate) monolithic rod columns for separation of small molecules*", Journal of Chromatography A, 2011, 1218, 5010-5019.

204. Courtois, J., Byström, E., Irgum, K., "*Novel monolithic materials using poly(ethylene glycol) as porogen for protein separation*", Polymer, 2006, 47, 2603-2611.

205. Svec, F., "*My favorite materials: Porous polymer monoliths*", Journal of Separation Science, 2009, 32, 3-9.

206. Danquah, M.K., Ho, J., Forde, G.M., "*Performance of R-N(R')-R" functionalised poly(glycidyl methacrylate-co-ethylene glycol dimethacrylate) monolithic sorbent for plasmid DNA adsorption*", Journal of Separation Science, 2007, 30, 2843-2850.

207. Eeltink, S., Herrero-Martinez, J.M., Rozing, G.P., Schoenmakers, P.J., Kok, W.T., "*Tailoring the morphology of methacrylate ester-based monoliths for optimum efficiency in liquid chromatography*", Analytical Chemistry, 2005, 77, 7342-7347.

208. Zakaria, P., Hutchinson, J.P., Avdalovic, N., Liu, Y., Haddad, P.R., "*Latex-coated polymeric monolithic ion-exchange stationary phases. 2. Micro-ion chromatography*", Analytical Chemistry, 2005, 77, 417-423.

209. Paull, B., Nesterenko, P.N., "*Novel ion chromatographic stationary phases for the analysis of complex matrices*", Analyst, 2005, 130, 134-146.

210. Schaller, D., Hilder, E.F., Haddad, P.R., "*Monolithic stationary phases for fast ion chromatography and capillary electrochromatography of inorganic ions*", Journal of Separation Science, 2006, 29, 1705-1719.

211. Svec, F., "*Preparation and HPLC applications of rigid macroporous organic polymer monoliths*", Journal of Separation Science, 2004, 27, 747-766.

212. Peters, E.C., Petro, M., Svec, F., Fréchet, J.M.J., "*Molded rigid polymer monoliths as separation media for capillary electrochromatography. 1. Fine control of porous properties and surface chemistry*", Analytical Chemistry, 1998, 70, 2288-2295.

213. Xin, C., Tolley, H.D., Milton, L.L., "*Polymeric strong cation-exchange monolithic column for capillary liquid chromatography of peptides and proteins*", Journal of Separation Science, 2009, 32, 2565-2573.

214. Chen, X., Tolley, H.D., Lee, M.L., "*Polymeric cation-exchange monolithic columns containing phosphoric acid functional groups for capillary liquid chromatography of peptides and proteins*", Journal of Chromatography A, 2010, 1217, 3844-3854.

215. Li, Y., Gu, B., Dennis Tolley, H., Lee, M.L., "*Preparation of polymeric monoliths by copolymerization of acrylate monomers with amine functionalities for anion-exchange capillary liquid chromatography of proteins*", Journal of Chromatography A, 2009, 1216, 5525-5532.

216. Hutchinson, J.P., Zakaria, P., Bowie, A.R., Macka, M., Avdalovic, N., Haddad, P.R., "*Latex-coated polymeric monolithic ion-exchange stationary phases. 1. Anion-exchange capillary electrochromatography and in-line sample preconcentration in capillary electrophoresis*", Analytical Chemistry, 2005, 77, 407-416.

217. Lv, Y., Alejandro, F.M., Fréchet, J.M.J., Svec, F., "*Preparation of porous polymer monoliths featuring enhanced surface coverage with gold nanoparticles*", Journal of Chromatography A, 2012,

218. Frankovic, V., Podgornik, A., Krajnc, N.L., Smrekar, F., Krajnc, P., Strancar, A., "*Characterisation of grafted weak anion-exchange methacrylate monoliths*", Journal of Chromatography A, 2008, 1207, 84-93.

219. Du, K.-F., Yang, D., Sun, Y., "*Fabrication of high-permeability and high-capacity monolith for protein chromatography*", Journal of Chromatography A, 2007, 1163, 212-218.

220. Krajnc, P., Leber, N., Stefanec, D., Kontrec, S., Podgornik, A., "*Preparation and characterisation of poly(high internal phase emulsion) methacrylate monoliths and*

their application as separation media", Journal of Chromatography A, 2005, 1065, 69-73.

221. Sýkora, D., Svec, F., Fréchet, J.M.J., "*Separation of oligonucleotides on novel monolithic columns with ion-exchange functional surfaces*", Journal of Chromatography A, 1999, 852, 297-304.

222. Chamieh, J., Faye, C., Dugas, V., Moreau, T., Vandenabeele-Trambouze, O., Demesmay, C., "*Preparation and full characterization of a micro-immunoaffinity monolithic column and its in-line coupling with capillary zone electrophoresis with Ochratoxin A as model solute*", Journal of Chromatography A, 2012, 1232, 93-100.

223. Buchmeiser, M.R., "*Polymeric monolithic materials: Syntheses, properties, functionalization and applications*", Polymer, 2007, 48, 2187-2198.

224. Wang, M., Xu, J., Zhou, X., Tan, T., "*Preparation and characterization of polyethyleneimine modified ion-exchanger based on poly(methacrylate-co-ethylene dimethacrylate) monolith*", Journal of Chromatography A, 2007, 1147, 24-29.

225. Viklund, C., Svec, F., Fréchet, J.M.J., Irgum, K., "*Fast ion-exchange HPLC of proteins using porous poly(glycidyl methacrylate-co-ethylene dimethacrylate) monoliths grafted with poly(2-acrylamido-2-methyl-1-propanesulfonic acid)*", Journal of American Chemical Society, 1997, 13, 597-600.

226. Rohr, T., Hilder, E. F., Donovan, J. J., Svec, F., Frechet, J. M. J., "*Photografting and the control of surface chemistry in three-dimensional porous polymer monoliths*", Macromolecules, 2003, 36, 1677-1684.

227. Yang, W., Ranby, B., "*Radical living graft polymerization on the surface of polymeric materials*", Macromolecules, 1996, 29, 3308-3310.

228. Connolly, D., O'Shea, V., Clark, P., O'Connor, B., Paull, B., "*Evaluation of photografted charged sites within polymer monoliths in capillary columns using contactless conductivity detection*", Journal of Separation Science, 2007, 30, 3060-3068.

229. Krenkova, J., Gargano, A., Lacher, N.A., Schneiderheinze, J.M., Svec, F., "*High binding capacity surface grafted monolithic columns for cation exchange chromatography of proteins and peptides*", Journal of Chromatography A, 2009, 1216, 6824-6830.

230. Gillespie, E., Connolly, D., Paull, B., "*Using scanning contactless conductivity to optimise photografting procedures and capacity in the production of polymer ion-exchange monoliths*", The Analyst, 2009, 134, 1314-1321.

231. Eeltink, S., Hilder, E.F., Geiser, L., Svec, F., Fréchet, J.M.J., Rozing, G.P., Schoenmakers, P.J., Kok, W.T., "*Controlling the surface chemistry and chromatographic properties of methacrylate-ester-based monolithic capillary columns via photografting*", Journal of Separation Science, 2007, 30, 407-413.

232. Damian, C., Vincent, O.S., Paul, C., Brendan, O.C., Brett, P., "*Evaluation of photografted charged sites within polymer monoliths in capillary columns using contactless conductivity detection*", Journal of Separation Science, 2007, 30, 3060-3068.

233. Sinead, C., Damian, C., Eoin, G., Brett, P., "*Fabrication and characterisation of capillary polymeric monoliths incorporating continuous stationary phase gradients*", Journal of Separation Science, 2010, 33, 484-492.

234. Haddad, P.R., Nesterenko, P.N., Buchberger, W., "*Recent developments and emerging directions in ion chromatography*", Journal of Chromatography A, 2008, 1184, 456-473.

235. Nischang, I., "*On the chromatographic efficiency of analytical scale column format porous polymer monoliths: Interplay of morphology and nanoscale gel porosity*", Journal of Chromatography A, 2012, 1236, 152-163

236. Bernabé-Zafon, V., Canto-Mirapeix, A., Simo-Alfonso, E.F., Ramis-Ramos, G., Herrero-Martinez, J.M., "*Comparison of thermal- and photo-polymerization of lauryl methacrylate monolithic columns for CEC*", Electrophoresis, 2009, 30, 1929-1936.

237. Svec, F., Fréchet, J.M.J., "*Modified poly(glycidyl metharylate-co-ethylene dimethacrylate) continuous rod columns for preparative-scale ion-exchange chromatography of proteins*", Journal of Chromatography A, 1995, 702, 89-95.

238. Preinerstorfer, B., Bicker, W., Lindner, W., Lämmerhofer, M., "*Development of reactive thiol-modified monolithic capillaries and in-column surface functionalization by radical addition of a chromatographic ligand for capillary electrochromatography*", Journal of Chromatography A, 2004, 1044, 187-199.

239. Chunhe Yao, L.Q., Hongying Jia, Peiyong Xin, Gengliang Yang, Yi Chen, "*A novel glycidyl methacrylate-based monolith with sub-micron skeletons and well-defined macropores*", Journal of Materials Chemistry, 2009, 19, 767-772.

240. Zhang, M., Sun, Y., "*Poly(glycidyl methacrylate-divinylbenzene-triallylisocyanurate) continuous-bed protein chromatography*", Journal of Chromatography A, 2001, 912, 31-38.

241. Yu, Y., Sun, Y., "*Macroporous poly(glycidyl methacrylate-triallyl isocyanurate-divinylbenzene) matrix as an anion-exchange resin for protein adsorption*", Journal of Chromatography A, 1999, 855, 129-136.

242. Wieder, W., Bisjak, C.P., Huck, C.W., Bakry, R., Bonn, G.K., "*Monolithic poly(glycidyl methacrylate-co-divinylbenzene) capillary columns functionalized to strong anion exchangers for nucleotide and oligonucleotide separation*", Journal of Separation Science, 2006, 29, 2478-2484.

243. Bisjak, C., Bakry, R., Huck, C., Bonn, G., "*Amino-functionalized monolithic poly(glycidyl methacrylate-co-divinylbenzene) ion-exchange stationary phases for the separation of oligonucleotides*", Chromatographia, 2005, 62, s31-s36.

244. Hui Huang, J.Z., Dafu Wei, Fuzeng Hu, Anna Zheng, Huining Xiao, "*Studies on the synthesis and the reaction mechanism of epoxy-terminated polystyrene oligomer*", Polymer Bulletin, 2008, 60, 477-486.

245. Yuliya, V.B., Hong Je, K., Yong Jin, L., "*Sulfonation of (glycidyl methacrylate) chains grafted onto nonwoven polypropylene fabric*", Journal of Applied Polymer Science, 2007, 104, 3256-3260.

246. Yarapathy, V.R., Mekala, S., Rao, B.V., Tammishetti, S., "*Polymer supported copper sulphate promoted aminolysis of epoxides with aromatic amines*", Catalysis Communications, 2006, 7, 466-471.

247. Isaacs, N.S., Neelakantan, K., "*Specific and nonspecific solvent interactions in the ring opening of epoxides*", Canadian Journal of Chemistry, 1967, 45, 1597-1600.

248. Marsella, J.A., Starner, W.E., "*Acceleration of amine/epoxy reactions with N-methyl secondary amines*", Journal of Polymer Science Part A: Polymer Chemistry, 2000, 38, 921-930.

249. Seong-Ho, C., Young Chang, N., Geug-Tae, K., "*Adsorption of Pb2+ and Pd2+ on polyethylene membrane with amino group modified by radiation-induced graft copolymerization*", Journal of Applied Polymer Science, 1999, 71, 643-650.

250. Mijovic, J., Fishbain, A., Wijaya, J., "*Mechanistic modeling of epoxy-amine kinetics. 1. Model compound study*", Macromolecules, 1992, 25, 979-985.

251. Nastasovic, A., Jovanovic, S., Dordevic, D., Onjia, A., Jakovljevic, D., Novakovic, T., "*Metal sorption on macroporous poly(GMA-co-EGDMA) modified with ethylene diamine*", Reactive and Functional Polymers, 2004, 58, 139-147.

252. Roberts, M.W.H., Ongkudon, C.M., Forde, G.M., Danquah, M.K., "*Versatility of polymethacrylate monoliths for chromatographic purification of biomolecules*", Journal of Separation Science, 2009, 32, 2485-2494.

253. Nischang, I., Teasdale, I., Brüggemann, O., "*Towards porous polymer monoliths for the efficient, retention-independent performance in the isocratic separation of small molecules by means of nano-liquid chromatography*", Journal of Chromatography A, 2010, 1217, 7514-7522.

254. Eremenko, L.T., Korolev, A.M., "*O-nitration of alcohols*", Seriya Khimicheskaya, 1966, 8, 1436-1440.

255. Corradini, D., "*Handbook of HPLC",* ed. T. Francis, 2010.

256. Craig, L.C., Post, O., "*Apparatus for countercurrent distribution*", Analytical Chemistry, 1949, 21, 500-504.

257. Julien, C., Michal, S., Emil, B., Agnieszka, I., Andrei, S., Knut, I., "*A study of surface modification and anchoring techniques used in the preparation of monolithic microcolumns in fused silica capillaries*", Journal of Separation Science, 2006, 29, 14-24.

258. Tsao, C.W., Hromada, L., Liu, J., Kumar, P., DeVoe, D.L., "*Low temperature bonding of PMMA and COC microfluidic substrates using UV/ozone surface treatment*", Lab on a Chip, 2007, 7, 499-505.

259. Sunanda, R., Yue, C.Y., Lam, Y.C., Wang, Z.Y., Huifang, H., "*Surface analysis, hydrophilic enhancement, ageing behavior and flow in plasma modified cyclic olefin copolymer (COC)-based microfluidic devices*", Sensors and Actuators B: Chemical, 2010, 150, 537-549.

260. Mecomber, J.S., Murthy, R.S., Rajam, S., Singh, P.N.D., Gudmundsdottir, A.D., Limbach, P.A., "*Photochemical functionalization of polymer surfaces for microfabricated devices*", Langmuir, 2008, 24, 3645-3653.

261. Yang, W., Rånby, B., "*Bulk surface photografting process and its applications. II. Principal factors affecting surface photografting*", Journal of Applied Polymer Science, 1996, 62, 545-555.

262. Yang, W., Rånby, B., "*Bulk surface photografting process and its applications. I. Reactions and kinetics*", Journal of Applied Polymer Science, 1996, 62, 533-543.

263. Yang, W.T., Rånby, B., "*Bulk surface photografting process and its application. III. Photolamination of polymer films*", Journal of Applied Polymer Science, 1997, 63, 1723-1732.

264. Stachowiak, T., Rohr, T., Hilder, E.F., Peterson, D.S., Yi, M., Svec, F., Fréchet, J.M.J., "*Fabrication of porous polymer monoliths covalently attached to the walls of channels in plastic microdevices*", Electrophoresis, 2003, 24, 3689-3696.

265. Ro, K.W., Liu, J., Knapp, D.R., *"Plastic microchip liquid chromatography-matrix-assisted laser desorption/ionization mass spectrometry using monolithic columns"*, Journal of Chromatography A, 2006, 1111, 40-47.

266. Goda, T., Matsuno, R., Konno, T., Takai, M., Ishihara, K., "*Photografting of 2-methacryloyloxyethyl phosphorylcholine from polydimethylsiloxane: Tunable protein repellency and lubrication property*", Colloids and Surfaces B: Biointerfaces, 2008, 63, 64-72.

267. Schneider, M.H., Tran, Y., Tabeling, P., "*Benzophenone absorption and diffusion in poly(dimethylsiloxane) and its role in graft photo-polymerization for surface modification*", Langmuir, 2011, 27, 1232-1240.

268. Schnabel, W., "*Light-induced synthesis of polymers"*, dans *Polymers and Light*, ed. Wiley VCH, 2007.

269. Aragrag, N., Castiglione, D.C., Davies, P.R., Davis, F.J., Patel, S.I., "*General procedures in chain-growth polymerization"*, dans *Polymer Chemistry*, ed. F.J. Davis, 2004.

270. Sun, C.K., Zhao, H.M., Fang, D.C., Li, Z.H., "*Theoretical study on the thermal decomposition of azoisobutyronitrile*", Journal of Molecular Structure (Theochem), 2004, 679, 89-94.

271. Augustin, V., Stachowiak, T., Svec, F., Fréchet, J.M.J., "*CEC separation of peptides using a poly(hexyl acrylate-co-1,4-butanediol diacrylate-co-[2-(acryloyloxy)ethyl] trimethyl ammonium chloride) monolithic column*", Electrophoresis, 2008, 29, 3875-3886.

272. Tomasek, L., Jukic, A., Janovic, Z., "*Free radical grafting of methyl methacrylate onto ethylene-propylene amorphous copolymer*", Croatica Chemica Acta, 2009, 82, 825-832.

273. Focke, M., Stumpf, F., Faltin, B., Reith, P., Bamarni, D., Wadle, S., Muller, C., Reinecke, H., Schrenzel, J., Francois, P., Mark, D., Roth, G., Zengerle, R., Stetten,

F.v., "*Microstructuring of polymer films for sensitive genotyping by real-time PCR on a centrifugal microfluidic platform*", Lab on a Chip, 2010, 10, 2519-2526.

274. Burtis, C.A., Mailen, J.C., Johnson, W.F., Scott, C.D., Tiffany, T.O., Anderson, N.G., "*Development of a miniature fast analyzer*", Clinical Chemistry, 1972, 18, 753-761.

275. Rocco, R.M., "*Landmark papers in clinical chemistry",* ed. E. Amsterdam, 2006.

276. Madou, M., Gorkin, R., Park, J., Siegrist, J., Amasia, M., Lee, B.S., Park, J.-M., Kim, J., Kim, H., Cho, Y.-K., "*Centrifugal microfluidics for biomedical applications*", Lab on a Chip, 2010, 10, 1758-1773.

277. Steigert, J., Grumann, M., Brenner, T., Mittenbuhler, K., Nann, T., Ruhe, J., Moser, I., Haeberle, S., Riegger, L., Riegler, J., Bessler, W., Zengerle, R., Ducree, J., "*Integrated sample preparation, reaction, and detection on a high-frequency centrifugal microfluidic platform*", Journal of Laboratory Automation, 2005, 10, 331-341.

278. http://www.gyros.com/

279. Puckett, L.G., Dikici, E., Lai, S., Madou, M., Bachas, L.G., Daunert, S., "*Investigation into the applicability of the centrifugal microfluidics platform for the development of protein-ligand binding assays incorporating enhanced green fluorescent protein as a fluorescent reporter*", Analytical Chemistry, 2004, 76, 7263-7268.

280. Xi, Y., Templeton, E.J., Salin, E.D., "*Rapid simultaneous determination of nitrate and nitrite on a centrifugal microfluidic device*", Talanta, 2010, 82, 1612-1615.

281. LaCroix-Fralish, A., Clare, J., Skinner, C.D., Salin, E.D., "*A centrifugal microanalysis system for the determination of nitrite and hexavalent chromium*", Talanta, 2009, 80, 670-675.

282. Zoval, J.V., Jia, G., Kido, H., Kim, J., Kim, N., Madou, M., "*Centrifuge-based fluidic platforms"*, dans *Handbook of nanotechnology*, ed. B. Bhushan, 2004

283. Tabeling, P., "*Introduction to microfluidics",* ed. O.U. Press, 2005.

284. Ducrée, J., Haeberle, S., Lutz, S., Pausch, S., von Stetten, F., Zengerle, R., "*The centrifugal microfluidic Bio-Disk platform*", Journal of Micromechanics and Microengineering, 2007, 17, S103 - S115.

285. Duffy, D.C., Gillis, H.L., Lin, J., Sheppard, N.F., Kellogg, G.J., "*Microfabricated centrifugal microfluidic systems: characterization and multiple enzymatic assays*", Analytical Chemistry, 1999, 71, 4669-4678.

286. Zoval, J.V., Madou, M.J., "*Centrifuge-based fluidic platforms*", Proceedings of the IEEE, 2004, 92, 140-153.

287. Scheidegger, A.E., "*The physics of flow through porous media",* ed. U.o.T. Press, 1974.

288. Badr, I.H.A., Johnson, R.D., Madou, M.J., Bachas, L.G., "*Fluorescent ion-selective optode membranes incorporated onto a centrifugal microfluidics platform*", Analytical Chemistry, 2002, 74, 5569-5575.

289. LaCroix-Fralish, A., Templeton, E.J., Salin, E.D., Skinner, C.D., "*A rapid prototyping technique for valves and filters in centrifugal microfluidic devices*", Lab on a Chip, 2009, 9, 3151-3154.

290. http://www.gyros.com/en/products/gyrolab_bioaffy_cds

291. Park, J.-M., Cho, Y.-K., Lee, B.-S., Lee, J.-G., Ko, C., "*Multifunctional microvalves control by optical illumination on nanoheaters and its application in centrifugal microfluidic devices*", Lab on a Chip, 2007, 7, 557-564.

292. Seo, T.S., Park, B.H., Jung, J.H., "*A rotary microsystem for simple, rapid and automatic RNA purification*", Lab on a Chip, 2012, DOI: 10.1039/C2LC40487G,

293. Steigert, J., Grumann, M., Brenner, T., Riegger, L., Harter, J., Zengerle, R., Ducree, J., "*Fully integrated whole blood testing by real-time absorption measurement on a centrifugal platform*", Lab on a Chip, 2006, 6, 1040-1044.

294. Chartier, F., Aubert, M., Pilier, M., "*Determination of Am and Cm in spent nuclear fuels by isotope dilution inductively coupled plasma mass spectrometry and isotope dilution thermal ionization mass spectrometry after separation by high-performance liquid chromatography*", Fresenius Journal of Analytical Chemistry, 1999, 364, 320-327.

295. Haeberle, S., Brenner, T., Schlosser, H.P., Zengerle, R., Ducree, J., "*Centrifugal micromixer*", Chemical Engineering Technology, 2005, 28, 613 - 616.

296. Kim, J., Kido, H., Rangel, R.H., Madou, M.J., "*Passive flow switching valves on a centrifugal microfluidic platform*", Sensors and Actuators B: Chemical, 2008, 128, 613-621.

297. Mihelic, I., Nemec, D., Podgornik, A., Koloini, T., "*Pressure drop in CIM disk monolithic columns*", Journal of Chromatography A, 2005, 1065, 59-67.

Chapitre

9 Annexes

9.1 Etude et optimisation de la réaction d'addition nucléophile de la TriEthylAmine sur les fonctions époxy du monolithe poly(GMA-co-EDMA)

Le principe de la spectroscopie infra-rouge (IR) repose sur l'absorption, par une molécule d'intérêt à l'état liquide, solide ou gaz, d'un rayonnement infra-rouge incident à des énergies discrètes correspondant aux fréquences vibrationnelles et rotationnelles des liaisons atomiques. Dans une première approche ces fréquences de résonance sont liées à la force de la liaison ainsi qu'aux masses atomiques des atomes constituant la liaison. Par conséquent, une fréquence peut être associée à une liaison particulière.

Ces fréquences peuvent être déterminées en mesurant les énergies pour lesquelles un rayon infra-rouge incident est absorbé par l'échantillon. En spectroscopie IR, la gamme de longueur d'onde balayée est comprise entre 25 et 2,5 μm, correspondant à des nombres d'ondes compris entre 400 et 4000 cm^{-1}.

Les appareils actuels de spectroscopie infra-rouge sont de type « à transformée de Fourier » et basés sur l'utilisation de l'interféromètre de Michelson. De cette façon, il est possible d'enregistrer simultanément les absorptions sur toute la gamme de nombre d'onde balayée.

9.1.1 Principe de la spectroscopie infra-rouge en mode réflexion totale atténuée (ATR) et échantillonnage.

Le mode réflexion totale atténuée est un mode particulier d'échantillonnage en spectroscopie IR. L'échantillon est placé directement à la surface d'un cristal de fort indice de réfraction (N > 2,4). Placé sous illumination IR, ce cristal permet de générer une onde évanescente à son interface avec l'échantillon. Cette onde permet de sonder une profondeur d'échantillon plus ou moins égale à sa longueur d'onde. L'onde peut être réfléchie une seconde fois à l'intérieur du cristal pour pouvoir sonder une seconde fois l'échantillon comme l'illustre la figure A1-1. L'absorption du rayonnement par l'échantillon sera fonction de la nature chimique des liaisons atomiques constituant la ou les molécules d'intérêt et sera d'autant plus grande que le nombre d'interactions rayonnement / échantillon est grand.

L'appareil utilisé (Nicolet Avatar 320 FTIR ThermoScientific) est équipé d'un dispositif ATR avec une seule réflexion. Les spectres sont obtenus en accumulant 16 scans (de 400 à 4000 cm^{-1}) avec une résolution de 4 cm^{-1}. Les échantillons de monolithe sont préalablement séchés et broyés avant d'être déposés à la surface du cristal d'ATR. Ce dernier est ensuite lavé à l'acétone entre chaque nouvel échantillon.

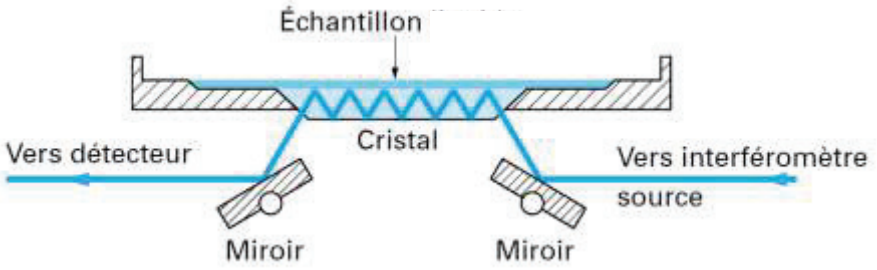


Figure 9-1 : Principe de fonctionnement d'un module d'ATR

9.1.2 Détail des cinétiques de réaction pour le greffage de la diéthylamine et de la triéthylamine sur le monolithe poly(GMA-co-EDMA).

Les figures 9-1 et 9-2 montrent l'évolution du taux de conversion des cycles époxy du monolithe poly(GMA-co-EDMA) en fonction du temps et de la température de réaction obtenue pour l'étude cinétique des greffages de la diéthylamine (DEA) et de la triéthylamine (TEA) selon les conditions décrites aux paragraphes 3.2.2. et 3.4.1.

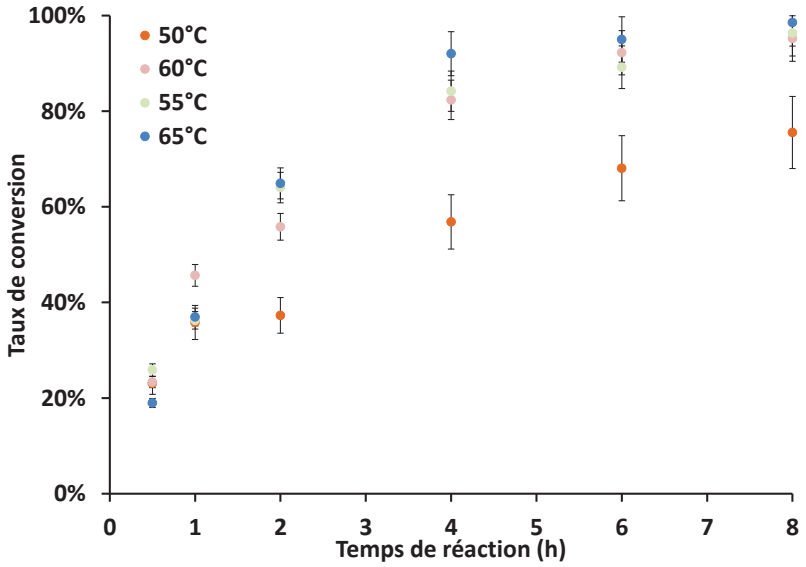


Figure 9-2 : Cinétiques de greffage de la DEA sur le monolithe poly(GMA-co-EDMA) à 50, 55, 60 et 65 °C.

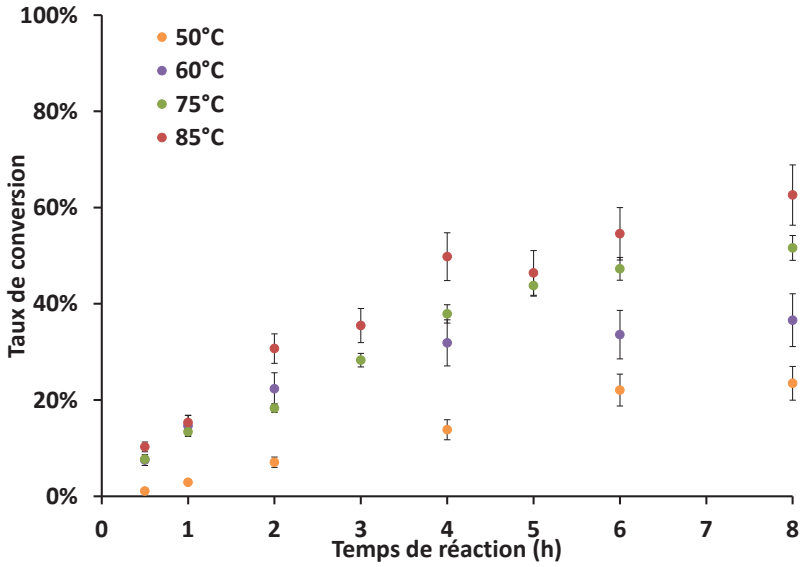


Figure 9-3 : Cinétiques de greffage de la TEA sur le monolithe poly(GMA-co-EDMA) à 50, 60, 75 et 85 °C.

Les valeurs des constantes de réaction ont été déterminées pour chacune de ces courbes à l'aide de l'expression 3.8 (paragraphe 3.4.1). Les valeurs obtenues sont regroupées dans le tableau 9-1.

Tableau 9-1 : Valeurs des constantes de réaction k (h^{-1}) à différentes températures pour les réactions de greffage de la DEA et de la TEA.

T (°C)	k_{DEA}	k_{TEA}
50	0,225	0,0383
55	0,319	
60	0,367	0,0660
65	0,528	
75		0,0719
85		0,125

9.1.3 Plan d'expériences pour l'optimisation du greffage de la triéthylamine

La matrice expérimentale, construite selon l'algorithme de Plackett-Burman pour 5 paramètres à 2 niveaux (tableau 9-2), est représentée par le tableau 9-3. La réponse étudiée est le taux de conversion des cycles époxy par la TEA (en %), obtenu expérimentalement par la mesure du rapport des intensités de la bande d'absorption à 905 cm^{-1} aux temps t_0 et t.

Tableau 9-2 : Domaine expérimental (niveau des paramètres étudiés pour le plan d'expérience).

	Composition solvant	Proportion d'éthanol	Concentration en TEA	Temps de réaction	Température de réaction
Facteur	X1	X2	X3	X4	X5
Niveau +1	Ethanol/DMSO	50	50	8	85
Niveau -1	Ethanol/Eau	25	10	4	65

Tableau 9-3 : Matrice expérimentale utilisée pour le plan d'expérience.

n° expérience	Composition solvant (X1)	Proportion d'éthanol (X2)	Concentration en TEA (X3)	Temps de réaction (X4)	Température de réaction (X5)	Réponse
		$\%_{volumique}$	$\%_{volumique}$	h	° C	$\%_{conversion}$
*1**	Ethanol/DMSO	50	50	4	85	73
2	Ethanol/Eau	50	50	8	65	81
3	Ethanol/Eau	25	50	8	85	93
4	Ethanol/DMSO	25	10	8	85	66
5	Ethanol/Eau	50	10	4	85	90
6	Ethanol/DMSO	25	50	4	65	36
7	Ethanol/DMSO	50	10	8	65	52
8	Ethanol/Eau	25	10	4	65	68

**Expérience utilisée pour déterminer la variance expérimentale sur la valeur du rendement de greffage (n = 5) : s^2_{exp} = 5,1*

Le modèle calculé est un modèle polynomial du premier degré de la forme :

$$Y = b_0 + b_1X_1 + b_2X_2 + b_3X_3 + b_4X_4 + b_5X_5 \qquad \textbf{9-1}$$

permettant de cribler les facteurs X_n. L'estimation des coefficients b_i, dans le cas d'une matrice d'Hadamard, est réalisée de façon indépendante, avec une variance identique pour tous les coefficients bi telle que $var(b_i) = {s^2_{exp}}/{N}$, N étant le nombre d'expériences.

Les données expérimentales ont été traitées à l'aide du logiciel Nemrod (LPRAI, France) et l'ensemble des résultats est présenté tableau 9-4. L'approche de Pareto représente, en pourcentage, l'importance de chaque coefficient sur le modèle proposé. Les coefficients b_1 et b_5 sont les plus significatifs, suivent b_2 et b_5, puis finalement b_3. L'analyse statistique (pour une confiance de 95 %), basée sur la variance expérimentale déterminée par répétition de l'expérience 1 (N = 5) montre que, dans le domaine expérimental étudié, tous les coefficients obtenus sont significatifs mis à part le coefficient b3 correspondant au facteur X3 :

concentration en TEA ($t_{expérimental} < t_{student}$). Par ailleurs, le faible écart entre la valeur des coefficients de Student expérimental et théorique pour le paramètre b4 (temps de réaction) montre que l'évolution du taux de conversion des époxys est faible entre 4 et 8 h de réactions. Finalement, la réponse Y (taux de conversion des cycles époxy) est maximisée lorsque le paramètre X1 est placé au niveau -1 (utilisation du solvant EtOH / Eau) et tous les autres paramètres au niveau +1 (50 % d'éthanol et réaction conduite à 85 °C). Le niveau de X3 n'étant pas significatif. Le niveau de X5 n'est pas considéré comme significatif.

Tableau 9-4 : Modèle proposé et significativité des paramètres étudiés.

Paramètre	Coefficient	$t_{student, expérimental}$	$t_{student, théorique}$ (5 %, ddl = 4)	Représentation de Pareto (%)
b0	70,24	94,25		
b1	-12,73	-17,09		51,89
b2	4,49	6,03	2,78	6,45
b3	1,24	1,66		0,49
b4	2,48	3,33		1,98
b5	11,07	14,85		39,18

Cette étude a permis de montrer que le paramètre le plus influant pour le greffage de la TEA sur les cycles époxy en surface du monolithe poly(GMA-co-EDMA) est la composition du solvant utilisé.

9.2 Mesures par spectrométrie de masse à ionisation plasma par couplage inductif (ICP-MS)

La spectrométrie de masse est une technique instrumentale d'analyse reposant sur la séparation, l'identification et la quantification des éléments constitutifs d'un échantillon en fonction de leur masse. Elle est basée sur le couplage d'une torche à plasma générant des ions et d'un spectromètre de masse quadripolaire qui sépare ces ions par masse. L'analyse des échantillons par ICPMS peut être divisée en quatre étapes (figure 9-4) :

- introduction-nébulisation
- ionisation
- séparation par masse
- détection.

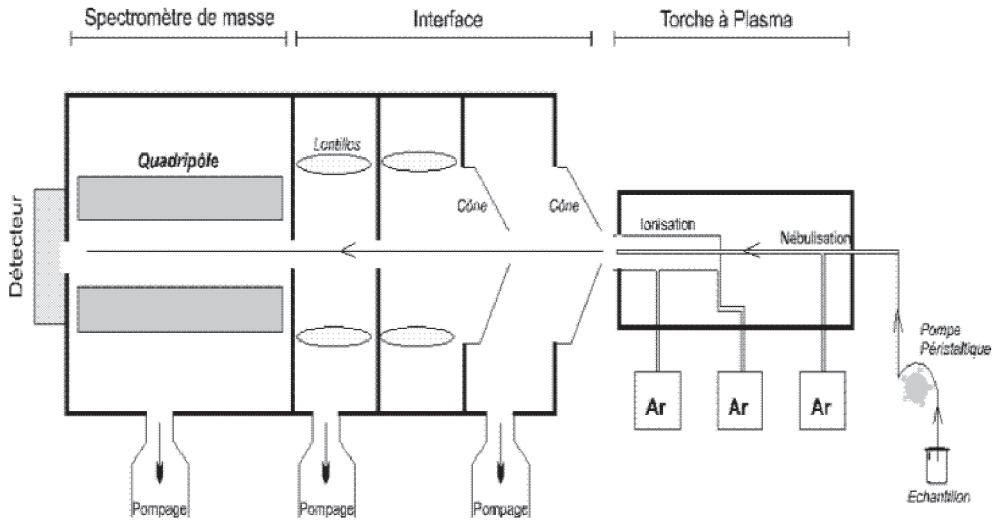


Figure 9-4 : Schéma de principe d'un spectromètre de masse quadripolaire à ionisation plasma.

L'échantillon est mis en solution. Un passeur automatique d'échantillons (type AS 90) couplé à une pompe péristaltique introduit la solution dans une chambre de vaporisation où le nébuliseur la transforme en un aérosol liquide composé de micro-gouttelettes de quelques µm à l'aide d'argon. L'aérosol ainsi formé est envoyé dans une torche à plasma d'argon (15 $l.min^{-1}$) à très haute température (entre 6 000 et 10 000 °C), suffisante pour vaporiser, dissocier, atomiser et ioniser complètement la plupart des éléments. Une partie de ce plasma (10 %) est échantillonnée par un premier orifice de 1 mm de diamètre environ au sommet d'un cône en nickel ou en platine (« le sampler »), puis se détend sous l'effet du vide modéré (12 mbar) qui règne dans une chambre de pompage différentiel (qui permet de passer de la pression

atmosphérique au vide secondaire du spectromètre de masse) et passe ensuite dans un deuxième orifice (« le skimmer »). Un système de vide différentiel accélère les ions du plasma vers un ensemble de lentilles électrostatiques qui extrait les ions chargés positivement et les transporte vers un filtre de masse quadripôlaire. Cet ensemble de lentilles est aussi appelé lentille ionique. Ce filtre de masse transmet seulement les ions présentant un rapport masse sur charge particulier, déterminé en fonction de la fréquence appliquée au quadripôle. Le principe du spectromètre est basé sur la séparation des éléments en fonction de leur charge et de leur masse. Les quatre barres cylindriques qui composent le spectromètre sont séparées en deux paires opposées et soumises à un courant continu (DC) et alternatif (RF). Les deux paires ont des tensions continues opposées et des tensions alternatives de même amplitude et de signe opposé. Dans le plan formé par la paire positive les ions légers sont trop déviés et heurtent les barres. L'ion à analyser et ceux ayant une masse supérieure restent entre les deux barres. Dans ce plan le quadripôle joue le rôle de filtre passe-haut. Dans le plan de la paire négative, ce sont les ions lourds qui sont déviés, ce qui équivaut à un filtre passe-bas. En combinant ces deux filtres, seuls les ions ayant le rapport m/z (masse/charge) désiré seront transmis au détecteur.

La partie détection s'effectue grâce à un multiplicateur d'électrons à dynodes discrètes. Pour la détection des ions positifs, une série de dynodes est soumise à une tension négative de quelques milliers de volts. L'extrémité de la série de dynodes est reliée à la terre. A la sortie du quadripôle, un ion positif, attiré par la tension négative, heurte la surface semi-conductrice de la première dynode. Cet ion positif provoque l'émission d'un ou de plusieurs électrons secondaires qui heurtent à nouveau la paroi de la deuxième dynode : un effet « boule de neige » se produit. A l'extrémité de la série de dynodes, pour un ion qui heurte le détecteur, environ 100 électrons atteignent un collecteur équipé d'un préamplificateur. Le signal se traduit en nombre d'impulsions (nombre de coups), une interface informatique assure le transfert des données afin qu'elles soient traitées. Pour un isotope donné, le nombre d'ions mesuré permet de calculer directement la concentration de l'élément analysé grâce à un logiciel de traitement quantitatif et qualitatif de l'enregistrement. Les nombres de coups sont convertis en concentrations grâce à l'utilisation de deux types de calibrations : externe (solutions étalon) et interne (spikes). Pour les matrices complexes telles que les roches, un traitement supplémentaire des données est nécessaire.

Le tableau 9-5 reprend l'ensemble des paramètres instrumentaux utilisés lors de cette étude pour les ICP-MS Elan DRC e de Perkin Elmer et 7700x d'Agilent.

Tableau 9-5 : Paramètres instrumentaux utilisés pour les appareils d'ICP-QMS

	Elan DRC e *(Perkin Elmer)*	**7700x** *(Agilent)*
Paramètres ICP		
Gaz plasma	Argon	Argon
Puissance RF	1100 W	1550 W
Débit gaz plasmagène	15 $L.min^{-1}$	15 $L.min^{-1}$
Débit gaz auxiliaire	1,2 $L.min^{-1}$	0,90 $L.min^{-1}$
Débit gaz de nébulisation	0,91 $L.min^{-1}$	1.05 $L.min^{-1}$
Ecran	Sans	Avec ou sans
Spectromètre de masse		
Cône sampler	Ni Ø1mm	Ni Ø1mm
Cône skimmer	Ni Ø0,7mm	Ni Ø0,7mm
Paramètres d'acquisition		
Mode d'acquisition	Quantitatif	Quantitatif
Dwell time (ms)	100	100
Nombre de réplique	6	5
Mode de collection des ions	Comptage d'ions	Comptage d'ions
Temps de mesure par masse (s.)	6	3
Système d'introduction		
Type de nébuliseur	Concentrique	Concentrique
Type de chambre de nébulisation	Chambre de Scott non refroidie	Chambre de Scott refroidie à 2°C

9.3 Mesures radiométriques

Le traceur radioactif utilisé est Pu^{239}. Ce radionucléide est un émetteur alpha dont les caractéristiques sont regroupées dans le tableau 9-6 :

Tableau 9-6 : Caractéristiques de la radioactivité alpha du Plutonium 239

	Période T	Energie d'émission alpha (KeV)	Intensité (%)
Pu^{239}	24 100.10^3 ans	5105,81	11,87
		8143,82	17,14
		5156,59	70,79

9.3.1 Spectrométrie alpha en chambre à grille

La spectrométrie alpha est fondée sur l'interaction de ce rayonnement avec la matière. A cause de sa charge positive qui exerce une attraction coulombienne, une particule alpha (He^{2+}) pénétrant dans la matière subit tout au long de son parcours une succession de chocs avec les électrons du milieu. Lorsque l'énergie transférée à l'électron est supérieure à son énergie de liaison, celui-ci est éjecté du cortège électronique de l'atome constitutif du milieu ralentisseur. Il y a formation d'une paire ion positif / électron. La détection des particules alpha en chambre à grille est fondée sur la collecte des électrons éjectés.

La chambre à grille est une chambre d'ionisation améliorée. Une chambre d'ionisation permet de dénombrer des particules et de mesurer leur énergie. Les rayonnements émis par la source produisent un courant d'ionisation transformé en impulsions de tension converties ensuite en unités d'activité. Pour un radionucléide donné et une géométrie définie, le courant d'ionisation est proportionnel à l'activité. En mode impulsionnel, l'ajout d'une grille pour l'intégration de l'impulsion générée entre la grille et l'anode est nécessaire pour obtenir une amplitude proportionnelle aux ions primaires indépendamment de la position de leur création.

Pour cette thèse, nous avons utilisé une chambre à grille type IN114 alimentée par un mélange de gaz Ar-CH_4 et soumis à une HT de -2000V pendant la mesure. Le spectre alpha est constitué de pics aux positions d'énergie d'émission du radionucléide (figure 9-5). Nous avons donc mesuré chaque fois un spectre pour l'échantillon et un bruit de fond dans la même géométrie pendant un temps d'analyse de 43200s. L'acquisition des données a été réalisée au moyen du logiciel VISU ALPHA de l'entreprise « AUTOMATISMES & MESURES » (http://www.am-fr.com/) version 6.20. Le traitement a été réalisé par déconvolution avec «

Pic Modèle » basé sur une gaussienne à droite du pic et une exponentielle à gauche suivi d'une traîne.

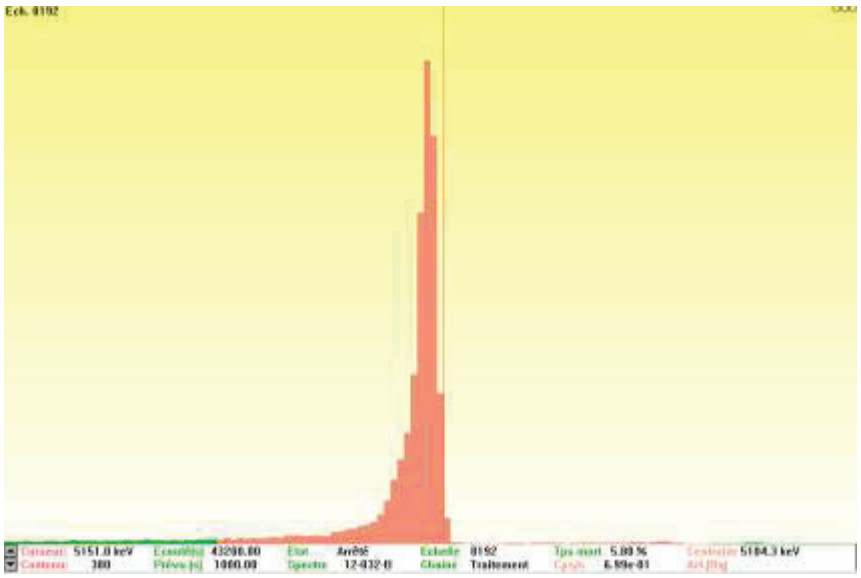


Figure 9-5 : Spectre alpha du Plutonium 239 obtenu sur chambre à grille. Temps de comptage 43 200 s.

9.3.2 Scintillation liquide

La détection des rayonnements ionisants peut aussi être réalisée par la lumière scintillante induite dans un scintillateur liquide. Cette technique consiste à mélanger la solution radioactive à mesurer à un liquide scintillant et à transformer les rayonnements ionisants, consécutifs aux désintégrations radioactives, en lumière, détectable et quantifiable. Le scintillateur liquide est un transformateur de rayonnement ionisant en lumière. Il est essentiellement composé d'un solvant dans lequel une molécule scintillante est dissoute.

D'autres composés sont éventuellement ajoutés afin d'adapter le scintillateur à des usages particuliers, notamment un solvant secondaire, un scintillateur secondaire, des surfactants, des extractants et des charges. La composition du scintillateur doit permettre un transfert d'énergie efficace entre le solvant et la molécule fluorescente. Elle doit également permettre la coexistence entre la source radioactive et le milieu détecteur.

Pour cette thèse, nous avons utilisé un scintillateur liquide Tricarb 2990TR de chez Perkin Elmer. L'acquisition a été réalisée par le logiciel de Perkin Elmer QuantaSmart ™ version 2.12 Les rendements de détection étant en général inférieurs à l'unité et variables avec les conditions de mesure, nous avons systématiquement réalisé, en plus d'un blanc, un échantillon étalon et procédé à une mesure relative des autres échantillons. Le temps d'acquisition était fixé à 30 minutes ou 360 minutes selon l'activité de l'échantillon. La fenêtre de mesure s'étendait de 80 à 300 keV.

9.4 Simulation du profil d'élution de l'U (VI) en milieu HCl 9,5 M sur les colonnes monolithiques (capillaires et microsystèmes)

Le principe de la simulation du profil d'élution de l'U (VI) en milieu HCl 9,5 s'inspire de la machine développée par Craig dans laquelle une séparation chromatographique est conduite par une suite de colonnes montées en série.

La simulation repose sur un mécanisme de rétention basé uniquement sur de l'échange d'ions :

$$z.SCl + X^{z-} = S_zX + z.Cl^- \qquad \textbf{9-2}$$

avec S les sites d'échanges d'anions en surface du monolithe (ammonium quaternaire) et X^{z-} le chloro-complexe d'Uranium formé en milieu HCl 9,5 M. Il est possible d'effectuer les deux hypothèses suivantes :

- la stoechiométrie de l'échange d'ions est z = 1 (le chloro-complexe d'Uranium est monochargé)

$$SCl + X^- = SX + Cl^- \qquad \textbf{9-3}$$

- la quantité d'ions chlorures dans la phase mobile est constante (pas de gradient d'élution) et égale au produit de la concentration d'HCl (ici, 9,5 M) par le volume du plateau considéré (égal au rapport du volume de la colonne par le nombre de plateau total considérés). Ainsi, dans chaque plateau, la quantité d'ions chlorures dans la phase mobile est très nettement supérieure à la quantité d'ions chlorures pouvant être libérée par le mécanisme d'échange d'ions et donc :

$$[Cl^-] = Cte \qquad \textbf{9-4}$$

Dans ces conditions ($[Cl^-]$ = Cte et z = 1), la réaction d'échange d'ions peut être décrite par la relation ci-dessous où S représente le site d'échange d'ions et X l'ion échangé (soluté) :

$$S^+ + X^- = SX \qquad \textbf{9-5}$$

dont l'équilibre est caractérisé par une constante d'équilibre K_f :

$$K_f = \frac{n(SX)}{n(S).[X^-]} \quad \textbf{9-6}$$

avec n(SX) le nombre de sites d'échange d'anions occupés par l'anion X^-, n(S) le nombre de sites d'échange d'anions libres et $[X^-]$ la concentration du soluté X^- en solution caractérisée par :

$$[X^-] = \frac{n(SX)}{n(S).K_f} \quad \textbf{9-7}$$

D'autre part, dans chaque plateau de volume $V_{plateau}$, il est possible d'écrire une relation de conservation de matière sur l'anion X^- de la façon suivante :

$$n(X^-, totales) = n(X^-) + n(SX) \quad \textbf{9-8}$$

$$n(X^-, totales) = [X^-].V_{plateau} + n(SX) \quad \textbf{9-9}$$

$$[X^-] = \frac{n(X^-, totales) - n(SX)}{V_{plateau}} \quad \textbf{9-10}$$

avec $n(X^-,totales)$ le nombre total de moles du soluté X^- présentes dans le plateau et $n(X^-)$ le nombre de moles du soluté X^- en solution.

En égalisant les relations 9-7 et 9-10, il est possible d'écrire :

$$\frac{n(SX)}{n(S).K_f} = \frac{n(X^-, totales) - n(SX)}{V_{plateau}} \quad \textbf{9-11}$$

$$V_{plateau}\frac{n(SX)}{n(S).K_f} = n(X^-, totales) - n(SX) \quad \textbf{9-12}$$

$$n(SX) + V_{plateau}\frac{n(SX)}{n(S).K_f} = n(X^-, totales) \quad \textbf{9-13}$$

$$n(SX)\left(1 + \frac{V_{plateau}}{n(S).K_f}\right) = n(X^-, totales) \quad \textbf{9-14}$$

$$n(SX) = \frac{n(X^-, totales)\ .\ n(S)\ .\ K_f}{n(S)\ .\ K_f + V_{plateau}} \quad \textbf{9-15}$$

Dans chaque plateau, il est possible d'écrire, en utilisant la relation 9-15, une relation de conservation de la matière sur les sites d'échanges d'anions de la façon suivante :

$$n(S, total) = n(S) + n(SX) \quad \textbf{9-16}$$

$$n(S, total) = n(S) + \frac{n(X^-, totales)\,.\,n(S)\,.\,K_f}{n(S)\,.\,K_f + V_{plateau}} \quad \textbf{9-17}$$

$$n(S, total) = n(S)\,.\,\left(1 + \frac{n(X^-, totales)\,.\,K_f}{n(S)\,.\,K_f + V_{plateau}}\right) \quad \textbf{9-18}$$

Finalement cette relation se généralise pour plusieurs anions, i, simultanément présents dans l'échantillon (s'ils sont monochargés) :

$$n(S, total) = n(S) + \sum_i n(SX_i^-) \quad \textbf{9-19}$$

$$n(S, total) = n(S)\,.\,\left(1 + \sum_i \frac{n(X_i^-, totales)\,.\,K_{f(i)}}{nS\,.\,K_{f(i)} + V_{plateau}}\right) \quad \textbf{9-20}$$

Il est possible de résoudre cette équation, dans chaque plateau, par itération afin de trouver n(S) et de remonter aux quantités $n(SX_i)$ et $n(X_i^-)$ dans chaque plateau. La valeur $n(X_i^-)$ est alors injectée dans le calcul effectué pour le plateau suivant en considérant que :

$$n(X_i^-(plateau\ n-1)) = n(X_i^-, totales\ (plateau\ n)) \quad \textbf{9-21}$$

Les données d'entrée du calcul sont donc :

- le volume mort de la colonne
- la capacité d'échange d'anions de la colonne
- le nombre de plateau
- le volume d'injection
- la concentration initiale en chaque élément présent dans l'échantillon
- les coefficients de distribution, K_D, pour chaque élément, déterminés en HCl 9,5 M sur le monolithe poly(GMA-co-EDMA) fonctionnalisé

Le calcul nécessite néanmoins de relier le coefficient de distribution K_D avec la constante de formation de l'espèce SX. Ainsi, le K_D pour l'anion X^- peut être décrit, dans chaque plateau, par la relation :

$$K_{D\,(X^-)} = \frac{\left(c_{0\,(X^-)} - c_{eq\,(X^-)}\right)}{c_{eq\,(X^-)}} \,.\, \frac{V_{plateau}}{m_{monolithe}} \quad \textbf{9-22}$$

avec $c_{0\,(X^-)}$ la concentration initiale en soluté X^- injectée dans le plateau, $c_{eq\,(X^-)}$ la concentration à l'équilibre en solution, $V_{plateau}$ le volume d'un plateau et $m_{monolithe}$ la masse de monolithe contenue dans ce plateau. Il est alors possible de relier K_D à la constante d'équilibre K_f par :

$$K_f = \frac{n(SX)}{n(S)\,.\,[X^-]}\ et\ \left(c_{0\,(X^-)} - c_{eq\,(X^-)}\right).V_{plateau} = n(SX) \qquad \textbf{9-23}$$

avec $c_{eq\,(X^-)} = [X^-]$. Finalement, il est possible d'écrire :

$$K_{D\,(X^-)} = \frac{n(SX)}{[X^-]}\,.\frac{1}{m_{monolithe}} = K_f\,.n(S)\,.\frac{1}{m_{monolithe}} \qquad \textbf{9-24}$$

Il est possible de faire l'hypothèse que peu de sites d'échange d'anions en surface du monolithe sont occupés par les anions X^- par rapport au nombre total de sites disponibles dans la colonne monolithique. Par conséquent :

$$n(S) \approx n(S,total) \qquad \textbf{9-25}$$

Le nombre de site total étant relié à la capacité d'échange d'anions (CE_a) de la colonne par la relation :

$$n(S,total) = \frac{CE_a}{m_{monolithe}} \qquad \textbf{9-26}$$

Il est possible d'écrire, en utilisant l'expression 4-26 dans l'expression 4-24, une relation simplifiée entre le coefficient de distribution $K_{D\,(X^-)}$ et la constante d'équilibre K_f :

$$K_{D\,(X^-)}\,(L.g^{-1}) \approx K_f\,(L.mol^{-1})\,.\,CE_a\,(mol.g^{-1}) \qquad \textbf{9-27}$$

Les valeurs de K_f utilisées pour le calcul pour l'Uranium, le Plutonium et les PF sont regroupées dans le tableau 9-7. Il est important de noter ici que cette valeur reste une approximation dans le cas du Plutonium étant donnée l'absence de certitudes sur la présence de complexes anioniques mono ou di chargés en solution d'HCl 9,5 M. Dans le cas des PF, le K_f utilisé, différent de 0, permet uniquement de rendre compte artificiellement de l'allure Gaussienne du pic d'élution.

Tableau 9-7 : Valeurs de Kf en HCl 9,5 M utilisées pour le calcul de simulation des profils d'élution

	Uranium	**Plutonium**	**PF**
$K_D\,(L.g^{-1})$	0,068 ± 0,005	0,575 ± 0,030	3
$K_f\,(L.mol^{-1})$	227 ± 10	1920 ± 132	10

Brevets, publications et communications

Brevets

1 *« Procédé de greffage d'un polymère monolithe sur un substrat et dispositif microfluidique »*, n° dépôt : 11 56586
Y. Ladner, A. Bruchet, G. Crétier, K. Faure

2 *« Procédé et dispositif d'analyse micro-fluidique, notamment d'uranium et de plutonium dans des échantillons irradiés »,* n° soumission 1000156478
A. Bruchet, C. Mariet, F. Goutelard, V. Dugas, V. Taniga, L. Malaquin

Publications

1 *« Synthesis and characterization of ammonium functionalized porous poly(glycidyl-co-ethylene dimethacrylate) monoliths for microscale analysis ant its application to DNA purification »*
A. Bruchet, V. Dugas, I. Laszak, C. Mariet, F. Goutelard, J. Randon, 2011, Journal of Biomedical Nanotechnology, 7, p. 415

2 *« Improved chromatographic performances of glycidyl methacrylate anion-exchange monolith for fast nano-ion exchange chromatography »*
A. Bruchet, V. Dugas, C. Mariet, F. Goutelard, J. Randon, 2011, Journal of Separation Science, 34, P. 2079

3 *« New « one-step » method for the simultaneous synthesis and anchoring of organic monolith inside COC microchip channels »*
Y. Ladner, A. Bruchet, G. Crétier, V. Dugas, J. Randon, K. Faure, 2012, Lab on a Chip, 12, p.1680

Communications

1 *« Lab-on-CD Microsystems for the anion-exchange separation of Uranium and Plutonium from Fission Products »* (oral)
« One-step process for the photo-induced synthesis of polymethacrylate monoliths inside COC micro-channels and characterizations using usual and original methods » (poster)
A. Bruchet, V. Taniga, V. Dugas, J. Randon, L. Malaquin, S. Descroix, F. Goutelard, C. Mariet
2012, Ion Chromatography International Symposium Berlin 17-21 septembre 2012

2 *« Interest of polymethacrylate anion-exchange monoliths for radiochemical miniaturized analysis of actinides »,* (Poster)
A. Bruchet, V. Taniga, V. Dugas, C. Mariet, F. Goutelard, J. Randon, L. Malaquin, 2012, Methods and Applications of Radioanalytical Chemistry, MARC IX

3 *« Apports des monolithes polyméthacrylates en nano-chromatographie d'échange d'ions »* (Oral)
A. Bruchet, V. Dugas, C. Mariet, F. Goutelard, J. Randon, 2011, 9ème congrès Francophone sur les sciences séparatives, SEP11

4 *« Synthesis and characterization of strong anion-exchange monolith for*

miniaturized hazardous samples treatment » (Poster)
A. Bruchet, V. Dugas, C. Mariet, F. Goutelard, J. Randon, 2010, 12th International meeting and workshop of the Society for Biochromatography and Nanoseparations

5 « *Toward miniaturized separations of radioactive compounds through monolithic ion-exchange support* » (Poster)
A. Bruchet, V. Dugas, C. Mariet, F. Goutelard, J. Randon, 2010, 28th International Symposium on Chromatography

Résumé

L'analyse chimique est indispensable à de nombreuses étapes de la mise au point et du suivi des procédés de retraitement des combustibles nucléaires usés, de la gestion des déchets nucléaires, ou encore de l'optimisation des combustibles du futur. Le cycle global d'analyse comprend généralement plusieurs étapes de séparations chimiques longues, manuelles et difficiles à mettre en œuvre en raison de leur confinement en boite à gants. Il apparaît aujourd'hui nécessaire de proposer des solutions innovantes et viables dans le but d'automatiser ces étapes mais aussi de réduire le volume de déchets radioactifs en fin de cycle analytique. Une solution est alors la conception de plateformes analytiques miniaturisées automatisées et jetables.

L'objectif de cette thèse est de concevoir un système miniaturisé alternatif à la première étape actuelle d'analyse des combustibles usés séparant, par chromatographie d'échange d'ions, l'Uranium et le Plutonium des autres éléments constituant l'échantillon. Ce système doit permettre à la fois de conserver les performances analytiques du processus actuel, de réduire drastiquement l'exposition des expérimentateurs par l'automatisation, ainsi que le volume de déchets produits en fin de cycle analytique. Ainsi, la séparation a été implantée sur un microsystème jetable en plastique (COC), au design spécialement adapté à l'automatisation : un lab-on-CD.

Le prototype développé intègre une micro-colonne séparative d'échange d'anions remplie d'un polymère monolithique dont la synthèse *in-situ* ainsi que la fonctionnalisation de surface ont été optimisées spécifiquement pour la séparation voulue. Le développement du protocole de séparation adapté à ces micro-colonnes a été réalisé à l'aide d'un outil de simulation de l'élution des différents éléments d'intérêts. Cet outil permet de prévoir la géométrie de la colonne (section et longueur) afin d'obtenir, en fonction de l'échantillon, des fractions de collecte de l'Uranium et du Plutonium pures.

Finalement, le prototype actuel est capable de conduire simultanément 4 séparations de façon automatisée et permet de réduire à la fois le nombre de manipulations, le temps d'analyse mais aussi de diviser approximativement par 1000 le volume des déchets liquides générés.

Mots Clés

Actinides, Lanthanides, Combustible nucléaire, Microsystèmes séparatifs, Lab-on-CD, Monolithes, Méthacrylates, Polymérisation, Fonctionnalisation de surface, Chromatographie d'échange d'anions, Copolymères d'Oléfines Cycliques (COC)

Abstract

The chemical analysis of spent nuclear fuels is essential to design future nuclear fuels cycle and reprocessing methods but also for waste management. The analysis cycle consists of several chemical separation steps which are time consuming and difficult to implement due to confinement in glove boxes. It is required that the separation steps be automated and that the volume of radioactive waste generated be reduced. The design of automated, miniaturized and disposable analytical platforms should fulfill these requirements.

This project aims to provide an alternative to the first analytical step of the spent fuels analysis: the chromatographic separation of Uranium and Plutonium from the minor actinides and fission products.

The goal is to design a miniaturized platform showing analytical performances equivalent to the current process, and to reduce both the exposure of workers through automation, and the volume of waste produced at the end of the analysis cycle. Thus, the separation has been implemented on a disposable plastic microsystem (COC), specifically designed for automation: a lab on a Compact Disk or lab-on-CD.

The developed prototype incorporates an anion-exchange monolithic micro-column whose *in-situ* synthesis as well as surface functionalization have been optimized specifically for the desired separation. The development of an adapted separation protocol was carried out using a simulation tool modeling the elution of the various elements of interest. This tool is able to predict the column geometry (length and cross section) suited to obtain pure fractions of Uranium and Plutonium as a function of the sample composition.

Finally, the prototype is able to automatically carry out four separations simultaneously reducing the number of manipulations, the analysis time and reducing the volume of liquid waste by a factor of 1000.

Key words

Actinides, Lanthanides, Separative microsystems, Lab-on-CD, Monoliths, Methacrylates, Polymerization, Surface functionalization, Anion exchange chromatography, Cyclic Olefin Copolymers (COC)