



HAL
open science

Application de l'électrophorèse capillaire au dosage des anions et des cations majeurs en solution dans les eaux douces naturelles

Patrice Petitjean, Odile Hénin, Stéphane Ellias, Gérard Gruau

► To cite this version:

Patrice Petitjean, Odile Hénin, Stéphane Ellias, Gérard Gruau. Application de l'électrophorèse capillaire au dosage des anions et des cations majeurs en solution dans les eaux douces naturelles. 2, 49 p., 2001, Cahiers Techniques de Géosciences-Rennes, 2-914375-02-6. insu-01193110

HAL Id: insu-01193110

<https://insu.hal.science/insu-01193110v1>

Submitted on 16 Sep 2015

HAL is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.

P. PETITJEAN
O. HENIN
S. ELLIAS
G. GRUAU

ISSN 1626-1925
ISBN 2-914375-02-6

**Application de l'Electrophorèse
Capillaire au dosage des cations et
des anions majeurs en solution dans
les eaux douces naturelles**



CAHIERS TECHNIQUES
de
GEOSCIENCES RENNES



n° 2 - 2001

Les Cahiers techniques de Géosciences Rennes

Editions de Géosciences Rennes
Université de Rennes 1
Bâtiment 15
Avenue du Général Leclerc
F-35042 RENNES CEDEX

Information éditoriale :

Editeur : Géosciences Rennes – Unité Mixte de Recherche 6118 du Centre National de la Recherche Scientifique

Directeur de la publication : Gérard GRUAU (Directeur de recherche, CNRS)

Comité éditorial :

Luc AQUILINA (Professeur, Université Rennes 1)

Annick CHAUVIN (Maître de conférences, Université Rennes 1)

Peter Robert COBBOLD (Directeur de recherche, CNRS)

Philippe COURVILLE (Maître de conférences, Université Rennes 1)

Alain CRAVE (Chargé de recherche, CNRS)

Odile HENIN (Assistante Ingénieur, CNRS)

Alain-Hervé LE GALL (Ingénieur d'études, CNRS)

Yves QUETE (Ingénieur d'études, CNRS)

Delphine ROUBY (Chargée de recherche, CNRS)

Secrétariat d'édition : Marie-Paule BERTRAND (Secrétaire, Université Rennes 1)

Objet de la publication :

- diffuser et valoriser le savoir-faire des personnels techniques de Géosciences-Rennes
- servir de support aux actions d'information et de formation qu'elles soient internes ou à destination de publics extérieurs au laboratoire de Géosciences ou aux autres unités du CNRS

Contenu éditorial :

- tout développement méthodologique nouveau à condition qu'il ait un certain caractère de transposabilité
- tout exercice de synthèse et/ou de vulgarisation portant sur un appareillage complexe ou sur une série d'actes techniques

Information bibliographique :

Collection : créée en 2001

Type de publication : monographies en série

Périodicité : annuelle

Dépôt légal : Novembre 2000

ISSN : 1626-1925

Information commerciale :

Marie-Paule BERTRAND

Géosciences Rennes

Université de Rennes 1

Bâtiment 15

Avenue du Général Leclerc

F-35042 RENNES CEDEX

tel : (33) 2 99 28 14 75

fax : (33) 2 99 28 61 00

mail : marie-paule.bertrand@univ-rennes1.fr

URL : <http://www.geosciences.univ-rennes1.fr/biblio/edition/editgeosci.htm>

Catalogage – Notice bibliographique :

Petitjean Patrice, Hénin Odile, Ellias Stéphane et Gruau Gérard. *Application de l'électrophorèse capillaire au dosage des anions et des cations majeurs en solution dans les eaux douces naturelles*. Rennes : Géosciences Rennes, 2001. 49 p. Cahiers techniques de Géosciences Rennes, 2. ISBN 2-914375-02-6

Cahiers techniques de Géosciences Rennes
n° 2, 2001, 49 p.

ISSN 1626-1925

ISBN 2-914375-02-6

**Patrice PETITJEAN, Odile HENIN,
Stéphane ELLIAS et Gérard GRUAU**

**Application de l'Electrophorèse Capillaire au dosage
des anions et des cations majeurs en solution dans les
eaux douces naturelles**

Géosciences Rennes
UMR 6118
Campus de Beaulieu
Université de Rennes 1
F-35042 Rennes cedex

Contact :

Patrice Petitjean

Tel : 02 99 28 60 87

Fax : 02 99 28 14 99

E-mail : patrice.petitjean@univ-rennes1.fr

RESUME

Le laboratoire de Géochimie de l'UMR Géosciences Rennes est équipée d'une électrophorèse capillaire, appareil utilisé classiquement pour la séparation, l'identification et le dosage des molécules organiques. Nous souhaitons élargir cette méthode analytique à la séparation et au dosage des anions et des cations majeurs en solution dans les eaux douces naturelles. Les anions et les cations testés sont Cl^- , SO_4^{2-} , NO_3^- , K^+ , Na^+ , Ca^{2+} , Mg^{2+} , NH_4^+ .

L'ensemble des tests et résultats présentés dans ce mémoire démontre que les électrophorèses capillaires sont des instruments adaptés à ce type de dosage, pour peu que les espèces visées soient présentes à des niveaux de concentrations suffisamment élevées dans les échantillons analysés.

Analyse des anions minéraux. Pour des concentrations que l'on trouve habituellement dans les eaux douces naturelles, la répétabilité obtenue est inférieure à 5%. A titre de comparaison, les résultats publiés dans la littérature pour la technique par électrophorèse capillaire font état de répétabilités comprises entre 3 et 3.5 %. Les limites de détection et de quantification que nous calculons sont identiques voire inférieures à celles rapportées dans la littérature pour les électrophorèses capillaires. Elles sont du même ordre de grandeur que celles obtenues pour les chromatographies ioniques. Cependant, on doit noter que l'erreur sur la mesure augmente considérablement lorsque la quantité à doser s'approche de la limite de quantification, faisant des électrophorèses capillaires des instruments peu adaptées à la mesure des basses concentrations (<5 ppm). Concernant la justesse, les tests effectués sur le standard CRM 617 ont donné des résultats satisfaisants, les concentrations mesurées étant identiques, aux erreurs analytiques près, à celles données par le constructeur.

Analyse des cations minéraux. Il est classiquement reconnu que l'analyse des cations minéraux par électrophorèse capillaire est plus délicate que celles des anions. Les tests de répétabilité présentés dans ce travail confirme ce fait, les écarts types calculés sur les moyennes des répétitions effectuées étant plus élevés pour les cations (3 à 6%) que pour les anions (1 à 2%). En outre, les tests de justesse effectués sur le standard CRM 617 sont moins bons que pour les anions. Seuls le calcium et le magnésium ont livré des concentrations mesurées identiques, aux erreurs près, aux valeurs certifiées du standard. Pour le potassium et le sodium, les concentrations mesurées se sont avérées être plus faibles que les valeurs données par le constructeur - de 10 et 5.8%, respectivement - sans qu'il soit possible d'expliquer la raison de ces écarts. Deux cations (magnésium et potassium) ont livré des limites de quantification particulièrement basses: <0.5 mg.L⁻¹.

SOMMAIRE

CHAPITRE I: OBJECTIFS DE L'ETUDE ET DEMARCHE METHODOLOGIQUE	7
CHAPITRE II: PRESENTATION DE L'APPAREILLAGE ET MISE EN ŒUVRE DE LA TECHNIQUE PAR ELECTROPHORESE CAPILLAIRE	10
1. Rappel sur l'électrophorèse de zone précurseur de l'électrophorèse capillaire	11
2. Schéma de principe et mise en œuvre de la technique par électrophorèse capillaire	
2.1. Généralités	12
2.2. Mobilité électrophorétique	15
2.3. Flux osmotique	15
2.4. Mobilité apparente	17
2.5. Performances de l'électrophorèse capillaire	18
CHAPITRE III: RAPPELS SUR LES ELEMENTS DE VALIDATION DES METHODES D'ANALYSE QUANTITATIVE	20
1. La spécificité	21
2. La linéarité	22
3. La justesse	22
4. La fidélité	22
5. La limite de détection	23
6. La limite de quantification	24
7. La robustesse	24
CHAPITRE IV: APPLICATION AU DOSAGE DES CATIONS ET ANIONS INORGANIQUES	26
1. Appareillage et conditions opératoires	27
2. Traitement des données et effets des paramètres spécifiques à l'électrophorèse capillaire sur l'analyse	28
2.1. Traitement des données	28
2.2. Effet du temps d'injection	29
2.3. Effet du nombre d'injections par échantillon	30
2.4. Effet de la pondération des gammes de calibration	32
3. Résultats	33
3.1. Spécificité de l'électrophorèse capillaire vis à vis du dosage des ions inorganiques	33
3.2. Linéarité	34
3.3. Limites de détection	35
3.4. Limites de quantification	36
3.5. Justesse	37
3.6. Répétabilité	39
CHAPITRE V: DEROULEMENT D'UNE SEQUENCE ANALYTIQUE TYPE	42
CHAPITRE VI: CONCLUSION	45
BIBLIOGRAPHIE	47

CHAPITRE I

Objectifs de l'étude et démarche méthodologique

Les programmes de recherche conduits dans l'UMR Géosciences Rennes s'inscrivent dans le cadre de la modélisation du "*Cycle Continental de l'Eau*" et des "*Interactions Eau/Sol*", avec trois axes de recherche principaux: (1) les mécanismes d'acquisition de la composition chimique des eaux en relation avec le fonctionnement biogéohydrodynamique des hydrosystèmes et les processus pédogénétiques et d'altération; (2) les propriétés de transport et de stockage des milieux géologiques; (3) l'évolution de la qualité des eaux en réponse aux contraintes d'origine anthropique. Dans ce contexte, nous nous intéressons aux anions minéraux (chlorures, sulfates, nitrates) et aux cations majeurs (calcium, sodium, magnésium, potassium, ammonium), ces anions et cations étant utilisés soit comme des traceurs de l'origine de l'eau et des mélanges entre eaux d'origine différente, soit comme des indicateurs de l'existence de réactions chimiques au sein des aquifers étudiés (réactions redox, notamment).

L'électrophorèse capillaire est une technique séparative permettant l'analyse des ions minéraux et organiques en solution dans les eaux naturelles. Cette technique se caractérise par (1) un grand pouvoir de séparation, (2) une relativement bonne sensibilité, et (3) la possibilité de quantifier aussi bien les petites molécules inorganiques que les biomolécules. L'électrophorèse capillaire permet également de déterminer l'abondance de plusieurs ions ou molécules simultanément. De plus, le prix d'achat relativement faible des électrophorèses capillaires ainsi que le faible coût des analyses plaident en faveur de l'utilisation de cette technique.

L'utilisation des électrophorèses capillaires pour le dosage des anions et des cations inorganiques est d'un développement récent qui demande à être validé. A l'heure actuelle, cette méthode ne fait pas l'objet d'une norme AFNOR. Le protocole de validation que nous présentons dans ce mémoire comprend deux étapes:

- 1) Dans un premier temps, nous validons le dosage des cinq cations et des trois anions inorganiques précités par la technique de l'électrophorèse capillaire. Les tests présentés ont pour objectif de démontrer que cette méthode fournit des résultats justes, comparables à ceux obtenus par le biais de méthodes éprouvées, comme la colorimétrie (anions et cations), la chromatographie ionique, l'ICP-AES, l'ICP-MS, entre autres.
- 2) Dans un deuxième temps, nous tentons d'établir une séquence type d'analyse pour une utilisation en routine de l'électrophorèse capillaire sur des échantillons d'eaux douces naturelles. Des tests permettent de déterminer les avantages et les inconvénients des différentes procédures d'analyses possibles. Nous justifions notre choix d'utiliser telle ou telle séquence analytique par des critères de validation tels que la justesse des résultats, leur répétabilité, etc... La séquence analytique doit être le reflet d'un compromis entre l'optimisation de la procédure et les différents paramètres externes comme la durée des analyses.

La présentation des résultats issus de ce protocole de validation est précédée d'un rappel des principes physico-chimiques sur lesquels sont basées les méthodes électrophorétiques ainsi que d'un rappel des éléments mathématiques et statistiques nécessaires à la validation des méthodes de dosage.

CHAPITRE II

Présentation de l'appareillage et mise en œuvre de la technique par électrophorèse capillaire

1. Rappels sur l'électrophorèse de zone, précurseur de l'électrophorèse capillaire

L'électrophorèse capillaire correspond à une évolution de l'électrophorèse de zone (microélectrophorèse), technique d'exécution semi-manuelle qui a vu le jour il y a près de 50 ans et qui est encore largement utilisée dans le domaine de la bioanalytique. Le principe repose sur la migration différentielle des espèces porteuses de charges, en solution dans un liquide au contact d'un support approprié, sous l'effet d'un champ électrique. A titre d'exemple, une bandelette constituée d'un film plastique recouvert d'une substance poreuse (appelé gel) imprégnée d'un électrolyte peut être utilisée. Dans ce cas, les extrémités de la bandelette plongent dans deux réservoirs indépendants reliés par des électrodes à un générateur de tension stabilisée et continue.

L'échantillon, déposé sous forme d'un petit trait transversal sur la bandelette éventuellement refroidie et emprisonnée entre deux plaques de verre, est soumis à une différence de potentiel élevée, de 500V ou plus lorsqu'il s'agit de petites molécules. Sous l'effet de divers phénomènes électrochimiques agissant conjointement, les espèces présentes migrent en un temps variable (quelques minutes à plus d'une heure) vers l'une ou l'autre des extrémités de la bandelette. Les molécules, micelles, ou particules porteuses de charges se déplacent en général vers le pôle de signe opposé à leur propre charge, avec des vitesses différentes. Les espèces neutres ne se séparent pas entre elles, à moins qu'elles ne s'associent avec les ions de l'électrolyte ou à un modificateur spécialement introduit pour provoquer des différences de vitesses d'entraînement. Ces migrations sont fonction d'un grand nombre de paramètres. Dans la pratique, on caractérise chaque composé par son temps de rétention R_f , à l'image de la chromatographie sur couche mince (CCM), mais par suite de l'absence d'un front de solvant mesurable, on caractérise le plus souvent un composé par son temps de migration T_m .

La détection des composés est facile s'ils présentent une absorption dans l'UV/visible. Sinon, après avoir séché la bandelette, on procède par dérivation au moyen de réactifs spécifiques. Pour cela, on fixe (par réaction chimique) un chromophore sur la molécule à détecter la rendant ainsi détectable par UV/visible. L'utilisation d'un densimètre pour évaluer l'intensité des bandes après révélation conduit à l'électrophorégramme, porteur d'informations quantitatives, dont le tracé est un diagramme semblable à un chromatogramme.

L'électrophorèse de zone est surtout utilisée pour des applications biologiques, notamment pour la séparation des peptides et le dosage des différentes fractions des protéines du sérum sanguin. Cette "CCM pour biochimistes" est particulièrement utile pour la séparation des espèces colloïdales.

2. Schéma de principe et mise en œuvre de la technique par électrophorèse capillaire

2.1. Généralités

Dans cette technique, la bandelette de l'électrophorèse de zone est remplacée par un capillaire de silice de 15 à 100 μm diamètre, d'une longueur L variant entre 0.1 et 1 m et rempli d'une solution tampon. Les extrémités plongent dans deux réservoirs d'électrolyte en phase d'analyse (Fig. 1).

L'intérêt de cette méthodologie réside dans le fait qu'en utilisant un capillaire de silice de faible diamètre (75 μm en général) on peut utiliser des tensions plus importantes que dans le cas de la technique sur bandelettes pour la séparation (différence de potentiel pouvant atteindre 30 kV). L'intensité ne dépasse pas 100 μA , (soit une puissance dissipée d'un maximum de 3 W). Afin de limiter l'échauffement du capillaire celui-ci doit néanmoins être placé dans une enceinte thermostatée.

L'électrolyte est une solution aqueuse ionique, filtrée, dégazée, et contenant divers additifs. L'injection de l'échantillon dans le capillaire peut se faire selon deux modes :

- 1) Le mode hydrodynamique qui permet, par une dépression de quelques secondes, d'aspirer quelques nanolitres d'échantillon dans le capillaire.
- 2) Le mode électrocinétique qui consiste à introduire l'échantillon par migration des espèces sous l'effet d'une différence de potentiel. Ce mode d'injection n'est pas (ou peu) utilisé en analyse quantitative car la fraction injectée n'est pas représentative de l'échantillon. En effet, la quantité de chaque espèce ayant migré dans le capillaire dépend de la mobilité électrophorétique respective de ces espèces.

Un générateur maintient une tension ou un courant constant durant l'analyse. Un détecteur pouvant être de différents types (UV/visible, fluorescence, conductivité, spectromètre de masse...) est placé un peu avant l'extrémité aval du capillaire. En mode de détection UV/visible (le plus utilisé) le capillaire coupe le trajet optique allant d'une source à un photomultiplicateur, ce qui permet de mesurer l'absorbance de la solution. On élimine ainsi tout volume mort. Ce système peut être utilisé en mode "détection inverse" en introduisant dans le tampon un chromophore. Cette introduction conduit à l'apparition d'un pic négatif lors du passage des ions devant le détecteur.

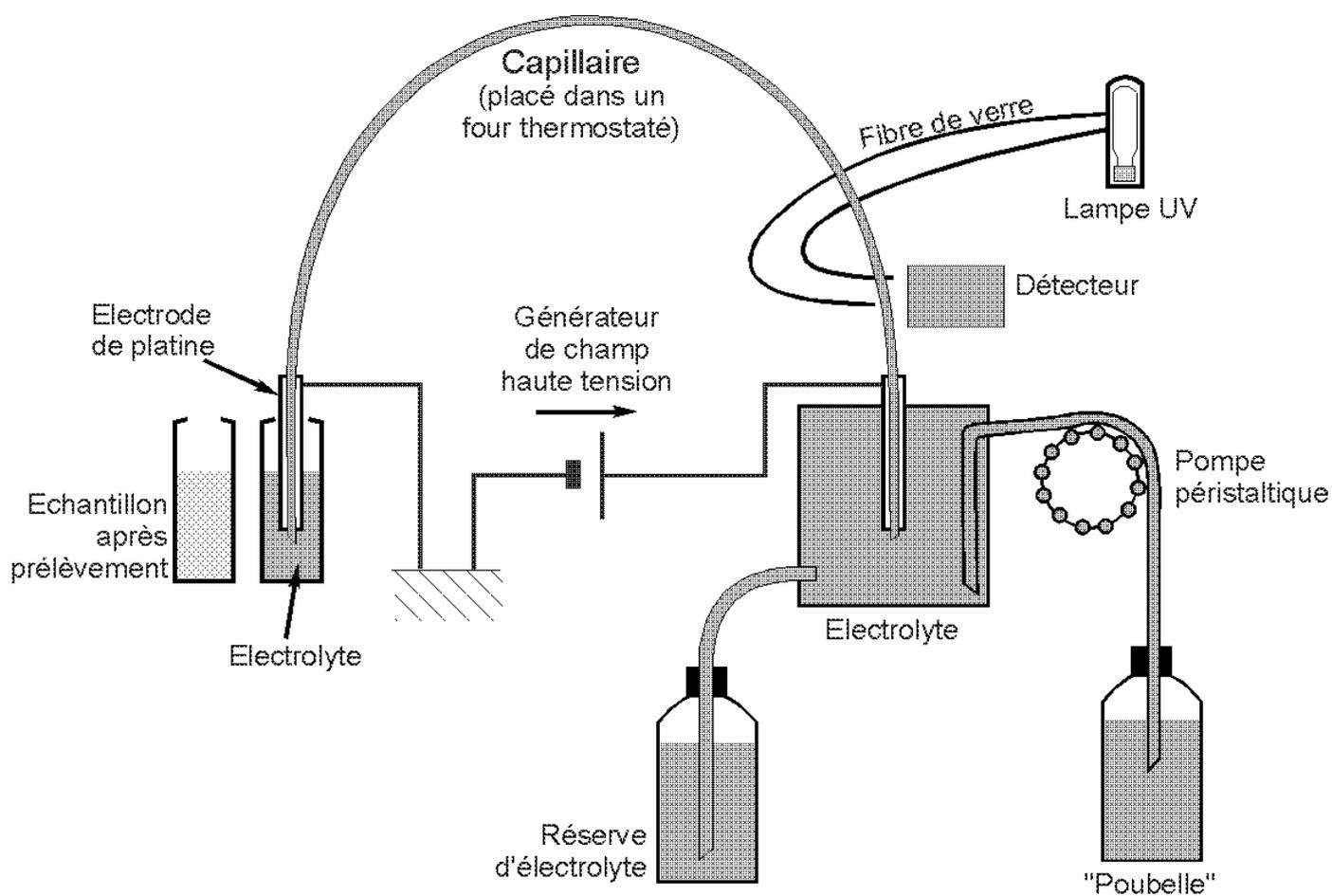


Fig. 1: Schéma de principe d'un montage d'électrophorèse capillaire

Le tracé de la réponse en fonction du temps est appelé électrophorégramme, chaque pic correspondant à une ou plusieurs espèces, si certains ions ont les mêmes temps de migration.

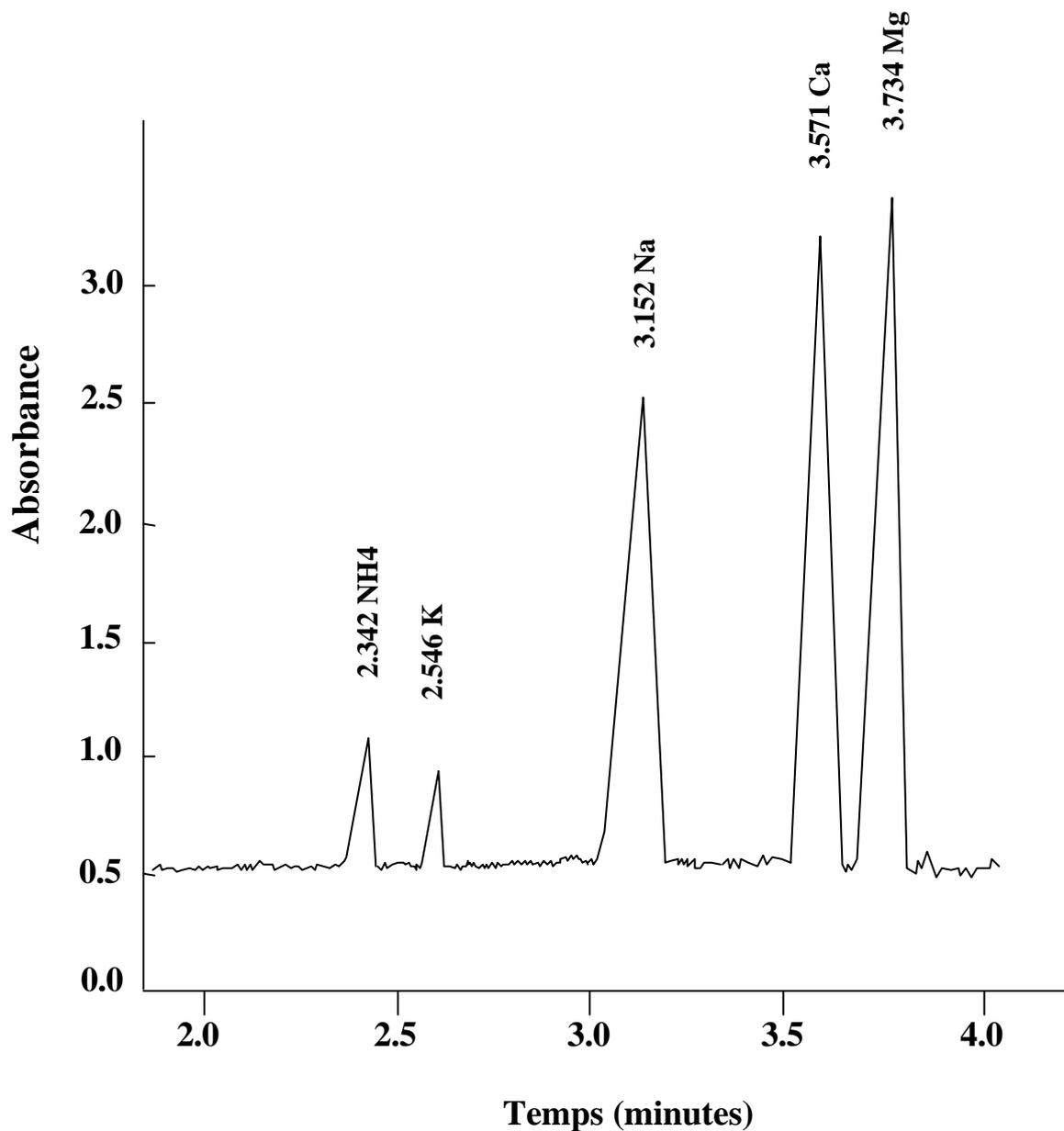


Fig.2: Exemple d'électrophorégramme

On interprète cet électrophorégramme soit de façon qualitative pour mettre en évidence la présence d'une espèce ionique, soit de façon quantitative puisque le rapport *Aire du pic/Temp* de migration est directement proportionnel à la concentration (voir Chapitre IV).

Les particules en suspension dans un liquide, de même que les molécules solvatées, peuvent porter une charge électrique dont la grandeur et le signe dépendent de la nature du milieu et en particulier de son pH. Cette charge provient de la fixation, à leur surface, d'ions contenus dans le milieu tampon. Pour des ions de tailles comparables, les vitesses de migration sont plus grandes s'ils sont porteurs de charges plus importantes, la séparation étant fonction du rapport *masse/charge de l'ion*. Pour chaque ion, la vitesse limite de migration résulte de l'équilibre entre la force électrique F qui s'exerce dans le champ E sur la particule de charge q , ($F = qE$), et les forces de frottements qui découlent de la viscosité η du milieu.

En électrophorèse, on observe que les constituants d'un mélange se séparent dans le temps par effet de deux facteurs principaux appelés mobilité électrophorétique et flux ou écoulement électro-osmotique, qui sont définissables pour les ions, les molécules, les particules ou les micelles.

2.2. Mobilité électrophorétique

La mobilité (ou migration) électrophorétique μ_e , correspond au déplacement des molécules chargées, dans un électrolyte supposé immobile, vers l'électrode de signe opposé. μ_e correspond au quotient de la vitesse v_e de l'ion, par la valeur du champ électrique E :

$$\mu_e = \frac{v_e}{E} = v_e \cdot \frac{L}{V}$$

L représente la longueur du capillaire et V la ddp appliquée à ses extrémités. μ_e ($\text{cm}^2 \cdot \text{V}^{-1} \cdot \text{s}^{-1}$) s'obtient à partir d'une mesure faite dans certaines conditions au départ d'un électrophorégramme. On affecte à la mobilité μ_e le signe (+) ou (-) selon la nature de la charge. La mobilité μ_e est nulle pour une espèce globalement sans charge.

2.3. Flux électro-osmotique

Le second paramètre qui contrôle le mouvement des solutés est appelé flux électro-osmotique, caractérisé par μ_{eos} , appelé encore mobilité électro-osmotique. Il est dû à l'écoulement de l'électrolyte qui apparaît aussi bien en électrophorèse sur bande par effet du support, qu'en électrophorèse capillaire par effet de la paroi interne du capillaire. La paroi de

silice est en effet tapissé de groupement silanols qui se déprotonnent si le pH est supérieur à 2 pour former une couche polyanionique de type Si-O^- .

Cas où les espèces à analyser sont chargées positivement: (Fig.3)

Les cations présents dans la solution tampon vont se fixer sur les groupements silanols chargés négativement pour former une couche fixe chargée positivement.

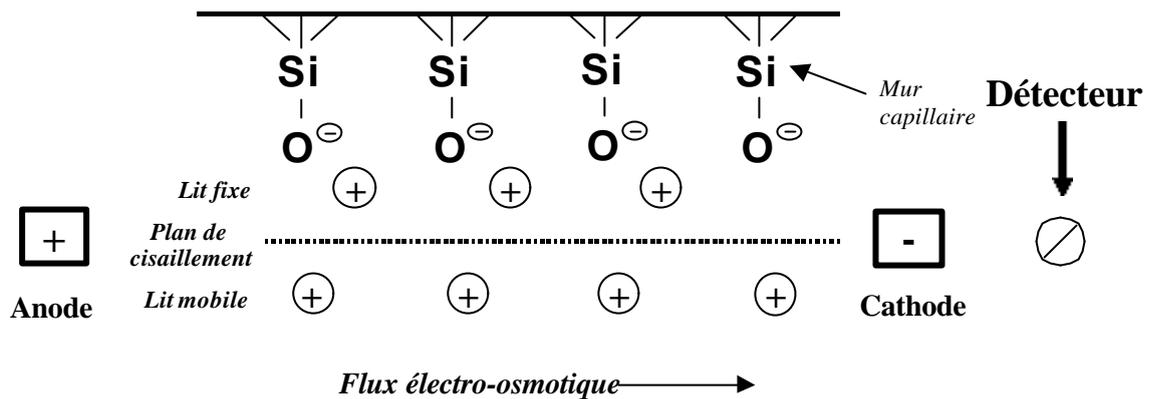


Fig. 3: Représentation du flux électro-osmotique (pour un cation) dans un capillaire.

Dès qu'un champ électrique est appliqué les cations (solvatés) de la solution vont migrer vers la cathode entraînant avec eux le tampon créant ainsi le flux électro-osmotique (cela revient à considérer le tampon comme la sphère de solvation des cations) Ce déplacement de l'électrolyte produit par la charge des ions et le potentiel appliqué, peut être contrôlé en modifiant la tension, le pH, ou en introduisant des additifs.

Cas où les espèces à analyser sont chargées négativement:

Le dispositif présenté dans la figure 3 ne peut s'appliquer à la séparation des anions (ceux-ci étant attirés vers l'anode), sauf dans le cas d'un flux électro-osmotique très supérieur à la vitesse propre de l'anion. En règle générale, on procède donc à l'ajout d'une amine quaternaire dans le tampon et on inverse la polarité, le détecteur étant fixe. L'amine quaternaire crée une couche fixe chargée positivement sur la paroi du capillaire. Sous l'effet d'une différence de potentiel les anions solvatés vont alors se déplacer de la cathode vers l'anode (Fig. 4).

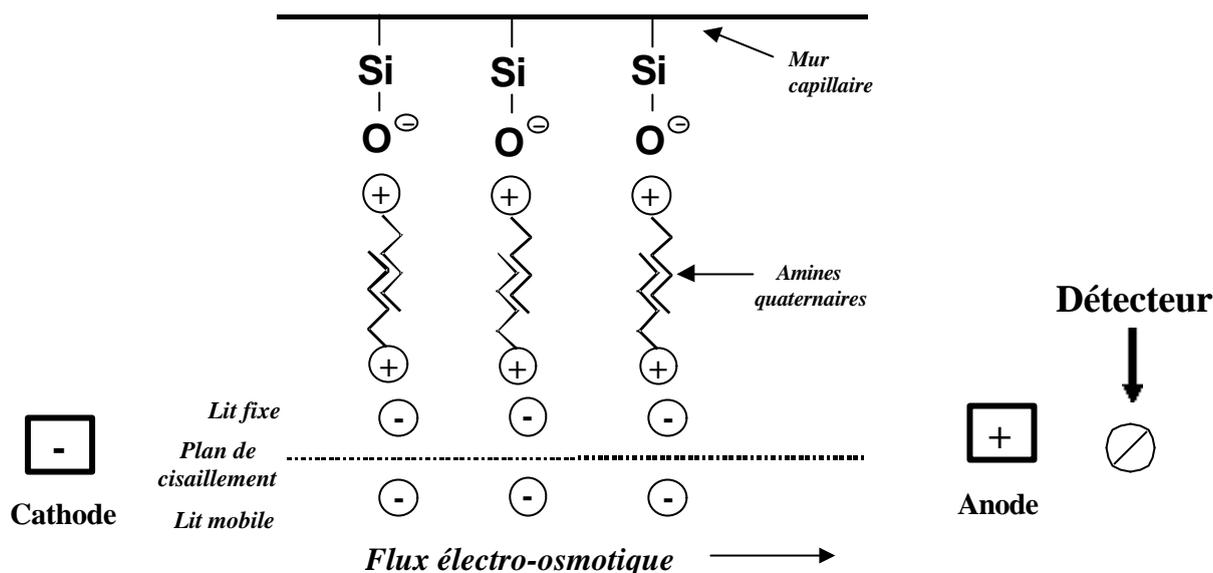


Fig. 4: Représentation du flux électro-osmotique inversé (pour un anion) dans un capillaire par l'ajout d'un amine quaternaire dans le tampon. La charge négative du groupe Si-O^- attire la charge positive de l'amine quaternaire et l'association des partie hydrophobes de l'amine change la polarité de la paroi du capillaire

On définit μ_{eos} par une relation calquée sur celle de la mobilité électrophorétique, v_{eos} représentant la vitesse électro-osmotique des molécules neutres de la phase mobile:

$$\mu_{eos} = \frac{v_{eos}}{E} = v_{eos} \cdot \frac{L}{V}$$

Pour calculer μ_{eos} on doit déterminer v_{eos} . Celle-ci est obtenue à partir du temps de parcours que met un marqueur neutre pour parcourir la distance effective L du capillaire. On choisit une molécule organique, non polaire au pH de l'électrolyte utilisé et facilement détectable par absorption dans le proche UV, par exemple.

2.4. Mobilité apparente

Le flux électro-osmotique, responsable d'une circulation de la phase mobile vers le détecteur est donc à prendre en compte pour évaluer la vitesse globale de migration (ou vitesse apparente) des molécules chargées. On observe, en effet, que chaque ion a une vitesse apparente v_{app} facilement mesurable à partir de laquelle on définit une mobilité électrophorétique apparente μ_{app} telle que $v_{app} = \mu_{app} \cdot E$ avec :

$$v_{app} = v_{eos} + v_e \quad \text{soit} \quad \mu_{app} = \mu_{eos} + \mu_e$$

En désignant par l la longueur effective du capillaire entre les points d'injection et de détection, et par V la ddp totale appliquée, le temps de migration t_m est donné par l'équation:

$$t_m = \frac{L^2}{\mu_{app} V}$$

expression que l'on retrouve aisément à partir de : $\mu_{app} = v_{app} \frac{L}{V}$ et de $v_{app} = \frac{l}{t_m}$

En langage imagé, on peut rapprocher la migration des espèces dans le capillaire à une course de natation dans une rivière dont le courant est la transposition du flux électro-osmotique. Si les nageurs vont dans le sens du courant, ils mettront moins de temps et leurs arrivées seront moins différenciées que s'ils font le parcours de l'aval vers l'amont. Dans ce dernier cas, si le courant est moins rapide que leurs vitesses propres, ils mettront plus de temps, mais leur arrivée sera mieux différenciée.

2.5. Performances de l'électrophorèse capillaire

L'électrophorèse capillaire est comparable à la chromatographie liquide quant aux performances. La sensibilité est très grande. La quantité requise d'échantillon est très faible et la consommation de réactif ou de solvant est négligeable. La mise au point d'une séparation revient à trouver un milieu tampon adapté aux espèces ioniques à séparer. Pour optimiser le tampon, il faut que la vitesse du flux électro-osmotique soit proche de celle de l'ion analysé afin d'éviter des distorsions de pics dus à des phénomènes d'électro-dispersion. Si on analyse plusieurs ions simultanément, un compromis doit être trouvé pour que tous les pics soient les plus fins et les plus symétriques possibles.

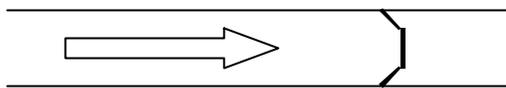
Les électrophorégrammes permettent d'établir, comme en chromatographie, les paramètres de séparation (facteurs de capacité, sélectivités, résolutions). L'efficacité théorique N , qui peut atteindre 10^6 plateaux au mètre, d'une colonne de longueur totale L et de longueur effective l , peut être calculée à partir des expressions suivantes, D représentant le coefficient de diffusion du soluté:

$$N = \frac{l^2}{2D.t_m} \quad (\text{ou bien } N = \frac{\mu_{app}}{2D} V \frac{l}{L})$$

Cette bonne résolution est due au profil d'éluion plat créé par le flux électro-osmotique, comparé à un flux laminaire pour lequel la vitesse au centre du capillaire est différente de

celle proche des parois du tube (Fig. 5). Les espèces sont donc éluées par bandes étroites permettant d'obtenir des pics fins.

Flux électro-osmotique (électrophorèse capillaire)



Flux pompé (chromatographie liquide)

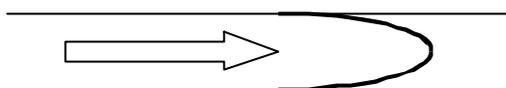


Fig. 5: Comparaison entre le profile d'un flux électro-osmotique et celui d'un flux pompé.

La relation ci-dessus montre que l'efficacité croît avec la différence de potentiel appliquée V . Cependant, il faut tenir compte de l'effet Joule (chaleur produite qu'il faut pouvoir dissiper), effet qui peut entraîner des distorsions de pic ainsi qu'une variation de la viscosité du tampon. Il convient donc de trouver un compromis entre une tension élevée et une minimisation de l'effet Joule.

On note également que les macromolécules, dont les facteurs de diffusion sont normalement plus faibles que ceux des petites molécules, conduisent à de meilleures séparations.

CHAPITRE III

Rappel sur les éléments de validation des méthodes d'analyse quantitative

(Limite de détection, limite de quantification, justesse, reproductibilité)

Toute méthode de dosage ou de mesure est classiquement caractérisée (et validée) à l'aide d'une série de critères ou de grandeurs regroupant la *spécificité*, la *linéarité*, l'*exactitude*, la *fidélité*, la *sensibilité*, le *seuil de détection*, le *seuil de quantification*, et la *robustesse* (Tableau 1).

Niveau	Critère
<i>Identification</i>	Spécificité
<i>Essai (teneur en impureté)</i>	Spécificité Seuil de détection ou seuil de quantification
<i>Dosage (teneur ou activité)</i>	Spécificité Linéarité Justesse Fidélité : - répétabilité - reproductibilité Seuil de quantification (Robustesse)

Tableau 1: Critères de validation d'une méthode analytique

1. La spécificité

La *spécificité* d'une procédure analytique est sa capacité à permettre l'identification et le dosage univoque de la substance à analyser, en présence des composés susceptibles de l'accompagner. Ces composés contiennent typiquement les impuretés, les produits de dégradation, la matrice, etc... Le manque de spécificité d'une méthode donnée peut être compensé par le recours à une ou plusieurs autres méthodes complémentaires.

Dans le cas d'analyses des eaux naturelles l'étude de la spécificité consiste à garantir l'identité de la substance à analyser à l'aide d'une solution étalon et à confirmer les résultats par d'autres méthodes. Des effets de matrices peuvent venir brouiller le signal entraînant soit une surestimation de la concentration de l'échantillon soit une sous estimation si le signal est partiellement masqué La méthodes des ajouts dosés permet de remédier à ces effets.

2. La linéarité

La *linéarité* d'une procédure d'analyse est sa capacité (à l'intérieur d'un certain intervalle de variation) à fournir des réponses directement proportionnelles à la concentration (quantité) de la substance dosée. La linéarité doit être étudiée sur tout l'intervalle de mesure de la procédure analytique considérée. En règle générale, la linéarité d'une procédure est établie en appliquant la méthode testée à des séries d'échantillons préparées à partir d'une solution mère.

Pour évaluer la linéarité, il convient d'établir un graphique des réponses obtenues en fonction de la concentration, et de procéder à un examen visuel de ce graphique. Si la relation est linéaire, il faut alors analyser les résultats par des méthodes statistiques appropriées, par exemple en calculant la droite de régression par la méthode des moindres carrés. Le coefficient de corrélation, l'ordonnée à l'origine, la pente de la droite de régression sont autant d'expressions mathématiques permettant d'évaluer la linéarité des relations obtenues expérimentalement. Pour établir la linéarité, il est recommandé d'utiliser au minimum 5 niveaux différents de concentration.

3. La justesse

La *justesse* est définie par l'étroitesse de l'accord entre la valeur moyenne obtenue la valeur de référence considérée comme la valeur vraie (AFNOR 1999). La justesse ne doit pas être confondue avec l'*exactitude* qui mesure le décalage total entre le résultat et la valeur vraie, intégrant à la fois les erreurs aléatoires et systématiques (AFNOR 1999).

4. La fidélité

La *fidélité* est un terme général s'appliquant à la variabilité entre des essais répétés. Elle exprime l'étroitesse de l'accord (degré de dispersion) entre une série de mesures provenant de multiples prises d'un même échantillon homogène dans des conditions définies. Elle fournit une indication sur les erreurs dues au hasard. La fidélité s'exprime par la mesure de la *reproductibilité* et de la *répétabilité*. Ces deux mesures extrêmes de la variabilité sont suffisantes pour convenir à la plupart des cas courants.

En règle générale, les dosages effectués sur des produits identiques, dans des circonstances présumées également identiques, ne conduisent pas à des résultats strictement identiques. Cela est dû à l'existence d'erreurs à caractère aléatoire, inhérentes à toute méthode d'essai. Les facteurs susceptibles d'influer sur le résultat d'un dosage ne peuvent pas, en effet, être tous contrôlés. En pratique, il est donc nécessaire de tenir compte de cette variabilité. De nombreux facteurs (en dehors des erreurs de type systématique) peuvent contribuer à la variabilité d'une méthode d'essai, comprenant :

- a) l'opérateur ;
- b) l'équipement utilisé ;
- c) l'étalonnage de l'équipement ;
- d) l'environnement (température, humidité, pollution de l'air, etc...) ;
- e) le temps ;
- f) les réactifs.

Cette variabilité est plus grande lorsque les dosages à comparer ont été effectués par des opérateurs différents et/ou avec des instruments différents, que lorsqu'ils ont été obtenus par le même opérateur utilisant le même équipement.

La *répétabilité* se rapporte à des essais de la même grandeur effectués dans des conditions aussi stables que possible et à de courts intervalles de temps, dans un même laboratoire, par un même opérateur employant le même équipement, tandis que la *reproductibilité* a trait à des essais effectués dans des conditions fortement variables, à des jours différents, dans différents laboratoires, avec des opérateurs différents et un équipement différent.

Dans le cas de la répétabilité, les facteurs a), b) et f) énumérés plus haut sont considérés comme constants et ne contribuent pas à la variabilité, tandis que, dans celui de la reproductibilité, ces facteurs varient et contribuent à la variabilité des résultats d'essai. La répétabilité et la reproductibilité sont donc deux extrêmes, la première mesurant la variabilité minimale des résultats et la seconde leur variabilité maximale.

Calcul de la répétabilité:

Dans les résultats que nous présentons plus loin, la répétabilité est définie comme étant égale à l'écart type exprimé en % calculé sur la moyenne (\bar{x}) de 10 analyses indépendantes d'un même échantillon soit:

$$R\acute{e}p\acute{e}t\acute{a}b\acute{i}l\acute{i}t\acute{e} = \frac{\sigma}{\bar{x}} \times \frac{100}{1}$$

5. La limite de détection

Selon la note explicative CEE III/844/87-FR, la *limite de détection* (LD) est définie comme "*la plus petite quantité d'une substance à examiner dans un échantillon pouvant être détectée, mais non quantifiée comme une valeur exacte. Le seuil de détection est généralement un paramètre des essais limites.*" Le seuil de détection est exprimé soit en

concentration, soit en quantité, et exprime la plus petite quantité x qui puisse être détectée avec une certitude suffisante pour une procédure d'analyse donnée.

Mathématiquement, la limite de détection LD est égale à la valeur d'information moyenne du blanc \bar{Y}_{blanc} , additionnée de k_d fois l'écart type σ_{blanc} obtenu à partir d'une série de n résultats (k_d étant fonction des risques de 1^{ère} et 2^{ème} espèce a et b).

$$L.D = \bar{Y}_{blanc} + k_d \cdot \sigma_{blanc}$$

$$\text{avec } k_d = (t_{1-\alpha} + t_{1-\beta})\sqrt{2}$$

Considérant les coefficients $t_{1-\alpha}$ et $t_{1-\beta}$ (risques unilatéraux) comme identiques, on a :

$$k_d = 2\sqrt{2} \cdot t_{1-\alpha}$$

avec $t_{1-\alpha} = t_{0.95}$ (selon la table de la loi de Student, test unilatéral, $P = 95\%$ et $v = n-1$).

On notera que dans les résultats présentés plus loin, les limites de détection ont été calculées en prenant $n = 10$.

6. La limite de quantification

Par définition, la *limite de quantification* (LQ) est la plus petite quantité d'une substance à analyser pouvant être dosée dans les conditions expérimentales décrites avec une fidélité et une exactitude définies.

La limite de quantification est calculée comme suit :

$$LQ = \bar{Y}_{blanc} + 10\sigma_{blanc}$$

7. La robustesse

La *robustesse* d'une procédure d'analyse est sa capacité à rendre des résultats exacts en présence de faibles changements de conditions expérimentales susceptibles de ce produire dans l'utilisation de cette procédure.

L'étude de la robustesse permet de définir les variations admissibles de chacun des paramètres opératoires critiques qui sont sans effet sur la validité des résultats fournis, ces

paramètres étant étudiés indépendamment les uns des autres ou regroupés. La robustesse n'est pas considérée comme un critère de validation obligatoire. Cependant, ce critère est de plus en plus présent dans la validation d'une méthode. Cela est spécialement vrai aux Etats-Unis où les laboratoires la demande.

En règle générale, on entend par faible changement des conditions expérimentales tout écart d'un paramètre opératoire par rapport à sa valeur nominale telle que définie dans la méthode d'analyse. Dans le cas des analyses par électrophorèse capillaire les paramètres opératoires peuvent être très variés: pH du tampon, " vieillissement " du tampon, de la lampe et du capillaire, température, composition de la matrice, etc...

Les seuls paramètres opératoires à considérer sont les paramètres quantifiables dont l'écart par rapport à la valeur nominale est susceptible d'influer sur le résultat final. La complexité de la procédure d'analyse augmente généralement le nombre de ces paramètres.

Pour évaluer la robustesse d'une procédure d'analyse, on applique celle-ci sur un échantillon homogène en faisant varier les paramètres retenus. Si on utilise la technique classique consistant à faire varier chacun des paramètres, tout en maintenant les autres constants, l'opération est rapidement irréalisable en raison du nombre des essais à effectuer. Il faut utiliser la technique dite des *plans factoriels*, qui fait varier plusieurs paramètres en même temps. Ce procédé permet de diminuer de façon importante le nombre des essais.

CHAPITRE IV

Application au dosage des anions et des cations inorganiques

(Cl, SO₄²⁻, NO₃⁻, K⁺, Na⁺, Ca²⁺, Mg²⁺, NH₄⁺)

1. Appareillage et conditions opératoires

L'ensemble du dispositif qui a été validé dans ce travail se compose du système d'électrophorèse capillaire spectraPHORESIS 2000[®] de Thermo Separation Product (TSP)[®] piloté par un micro ordinateur équipé d'un logiciel PC1000[®] qui permet l'acquisition et le traitement des données.

L'élaboration des étalons pour l'établissement des gammes de calibration est effectué à l'aide de solutions MERK[®] à 1000 mg.L⁻¹ (NH₄Cl, KNO₃, NaNO₃, Ca(NO₃)₂, Mg(NO₃)₂, NaCl, Na₂SO₄, NaNO₃), ajustées aux concentrations désirées par ajout d'eau déminéralisée (conductivité < 18 MΩ.m⁻¹). Ces dilutions sont au nombre de 5. Le dosage des anions et cations se fait en présence d'un électrolyte qui permet d'optimiser leur séparation. Trois critères principaux sont pris en compte: le mode d'absorbance, le rapport de mobilité entre électrolyte et les ions à doser, et le pH.

L'électrolyte nécessaire à la détermination des anions minéraux est préparé à partir d'un mélange comprenant du dichromate de potassium (Aldrich[®]) à 5 mMol.L⁻¹ et de l'hexaméthonium hydroxide à 0.5 mMol.L⁻¹, ce dernier étant obtenu par passage sur résine échangeuse d'anion d'hexaméthonium bromide (Aldrich[®]), auquel on ajoute une solution de triéthanolamine à la concentration de 1.5 mMol.L⁻¹. Comme dans le cas des étalons, les dilutions se font par ajout d'eau déminéralisée (conductivité < 18 MΩ.m⁻¹). Le pH de la solution est ajusté à 8 avec une solution de soude concentrée. Cet électrolyte est filtré à 0.2 μm.

L'électrolyte nécessaire à la détermination des cations majeurs se compose d'une solution de "méthol" (4-méthylaminophenol sulfate 99%, Aldrich[®]) à 5 mMol.L⁻¹ auquel on ajoute de l'acide ascorbique (L-ascorbic acid 99%, Aldrich[®]) à 1 mMol.L⁻¹ et du 18-crown-6-ether (Flucka[®]) à 2 mMol.L⁻¹. Cet électrolyte est filtré à 0.2 μm. L'ensemble des conditions opératoires réalisées lors de cette étude est résumé dans le tableau 2.

Paramètres	Anions	Cations
Température	25	20
Voltage (kV)	16	15
Electrolyte	K ₂ Cr ₂ O ₇	Métol
Injection hydrostatique, durée	3 s	4 s
Capillaire en silice fondu	Diamètre = 75 μm L = 44 cm	Diamètre = 75 μm L = 44 cm
Détection UV	Inversé	Inversé
Longueur d'onde	254 nm	204 nm
Polarité	négative	Positive

Tableau 2: Conditions opératoires de l'électrophorèse capillaire pour la détermination des anions minéraux et des cations majeurs.

2. Traitement des données et effet des paramètres spécifiques à l'électrophorèse capillaire sur

L'acquisition et le traitement des données sont réalisées avec le logiciel PC1000[®] de TSP[®]. Ce logiciel comporte trois méthodes: une méthode d'acquisition, une méthode de calcul pour le traitement des données et une méthode de définition du format des rapports. La méthode d'acquisition permet d'entrer les paramètres définis dans le mode opératoire décrit dans le tableau 2 (tension, temps d'injection, longueur d'onde de détection....).

2.1. Traitement des données

L'aire sous pic (proportionnelle à la concentration de l'anion ou du cation dosé) peut-être intégrée soit de façon automatique par le logiciel soit manuellement. Dans ce dernier cas, c'est l'opérateur qui fixe les limites de part et d'autre du pic. Pour des raisons d'homogénéité d'intégration et afin d'éviter les biais liés à la subjectivité de l'opérateur, il nous est apparu préférable d'utiliser l'intégration automatique. Pour ce faire, nous devons définir trois paramètres.

Les *temps de migration* propres aux différents anions et cations analysés. Ces temps de migration peuvent être définis soit comme des valeurs absolues, soit par rapport à un pic de référence. Dans le premier cas, le logiciel prendra en considération le pic le plus large trouvé dans une fenêtre de reconnaissance $T_m \pm 10\%$ (T_m étant le temps de migration de l'ion analysé). Lorsque les temps de migration varient légèrement au cours d'une séquence analytique, il est préférable d'utiliser la méthode du pic de référence en prenant comme référence le pic le moins affecté par la variation.

Le "*Bunching factor*" ou *facteur de tranches*. Le nombre de "tranches" optimal pour caractériser un pic dans PC1000[®] est de 50 à 60. Si le logiciel collecte les données à partir d'un détecteur 20 Hz (20 points par seconde) et que le pic à une largeur à la base de 10 secondes, on aura 200 points d'acquisition pour ce pic. Pour regrouper ces 200 points en 50 tranches, on devra alors affecter au "bunching factor" la valeur 4 ($200/4=50$). En fait, la plupart du temps les pics sont très étroits et le bunching factor est fixé à 1.

Le "*Peak threshold*" ou *seuil d'intégration*. Ce seuil est utilisé pour déterminer le minimum de pente représentant le début ou la fin d'un pic. La pente est calculée par le changement de niveau du signal entre deux tranches ou deux points d'acquisition successifs. Ce seuil doit être optimisé de manière à ne pas détecter le bruit de fond en tant que pic tout en permettant l'intégration de pics de très faible amplitude. Dans le cas présent, le logiciel utilisé détermine le niveau du bruit de fond et propose une valeur pour le seuil d'intégration.

2.2. Effet du temps d'injection

Pour déterminer l'influence du temps d'injection sur les mesures, des dosages de la même solution ont été répétés en faisant varier le temps d'injection. Les temps d'injection choisis ont été de 3 secondes (méthode a; temps d'injection utilisé en routine dans le laboratoire) et de 6 secondes (méthode b; temps à priori adapté à l'analyse des très faibles concentrations sachant que l'aire des pics augmente avec le temps d'injection).

Nous désignons par :

- n_a le nombre de résultats de la méthode a ;
- n_b le nombre de résultats de la méthode b ;
- x_a les résultats de la méthode a ;
- x_b les résultats de la méthode b ;
- \bar{x}_a le résultat moyen de la méthode a ;
- \bar{x}_b le résultat moyen de la méthode b.

La variance du système se définit comme suit :

$$v_t = \frac{\sum (x_a - \bar{x}_a)^2 + \sum (x_b - \bar{x}_b)^2}{(n_a - 1) + (n_b - 1)}$$

La différence entre les résultats moyens est :

$$d = (\bar{x}_a - \bar{x}_b)$$

Et, l'écart-type de la différence :

$$\sigma_d = \sqrt{\frac{v_t}{n_a} + \frac{v_t}{n_b}}$$

On calcule ensuite la valeur expérimentale de t :

$$t = \frac{d}{\sigma_d}$$

On compare la valeur t ainsi obtenue à celle fournie par la table de Fischer pour:

$$N = (n_a - 1) + (n_b - 1)$$

et pour une valeur P de la probabilité.

Si la valeur t calculée est supérieure à la valeur t de la table, la différence est significative et les deux méthodes doivent être considérées comme donnant des résultats différents pour la probabilité choisie. Dans le cas contraire on doit considérer que les deux méthodes conduisent à des résultats identiques.

Dans le cas du test effectué, nous avons :

$$\begin{aligned}n_a &= 20 \\n_b &= 20 \\ \bar{x}_a &= 4.99 \\ \bar{x}_b &= 4.33\end{aligned}$$

Soit :

$$\begin{aligned}v_{\text{système}} &= 0.029 \\ \sigma_d &= 0.055 \\ d &= 0.66 \\ t_{\text{calculé}} &= 12.2\end{aligned}$$

Pour des valeurs $P = 0.05$ (probabilité à 95 %) et $N = 38$, la table de Fisher donne une valeur t de 2, soit un $t_{\text{calculé}} \gg t_{\text{Fisher}}$.

En conclusion, on s'aperçoit donc que le temps d'injection est un paramètre critique en électrophorèse capillaire. Les résultats obtenus ici montrent que des méthodes utilisant des temps de 3 et 6 secondes, respectivement, doivent être considérées comme donnant des résultats différents pour une probabilité de 95%. De ce fait, tous les résultats présentés dans ce travail ont été obtenus en maintenant le temps d'injection constant, et égal à 3 secondes.

2.3. Effet du nombre d'injections par échantillon

Un test a été effectué pour déterminer si le nombre d'injections effectuées par échantillon influait ou non sur le résultat. Deux cas ont été considérés. Dans le premier (cas a), 20 injections du même échantillon ont été effectuées (2 répétitions). Dans le deuxième (cas b), il a été procédé à seulement deux injections du même échantillon (10 répétitions). Le test statistique permettant de comparer les résultats obtenus dans chacun de ces deux cas est le même que précédemment.

Les résultats ont été les suivants :

$$\begin{aligned}n_a &= 40 \\n_b &= 20 \\ \bar{x}_a &= 57.9 \\ \bar{x}_b &= 58.9\end{aligned}$$

Soit :

$$v = 0.940$$

$$\sigma_d = 0.27$$

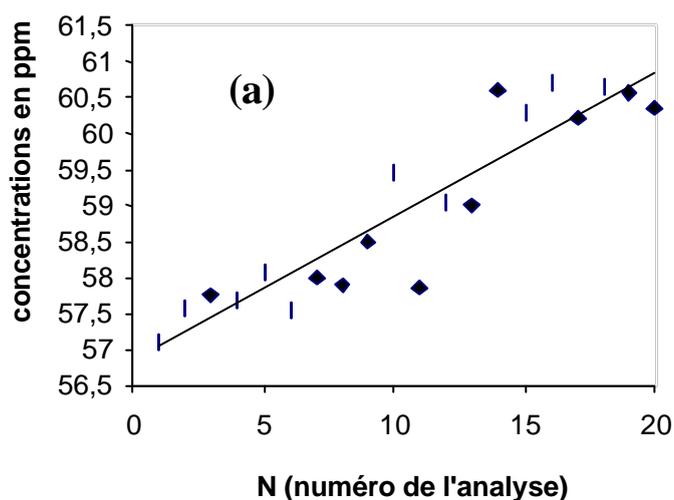
$$d = 1.07$$

$$t_{calculé} = 4.03$$

Pour des valeurs $P = 0.05$ (probabilité à 95 %) et $N = 38$, la table de Fisher donne une valeur t de 2, soit, là encore, un $t_{calculé} \gg t_{Fisher}$.

Ainsi, il apparaît que la concentration moyenne obtenue après 20 injections répétées d'un même échantillon est significativement différente de celle obtenue après la répétition de deux injections (Fig. 6). De même, les temps de migration augmente progressivement dans le cas où 20 injections successives sont effectuées (Fig. 7). Ces différences et modifications sont liées à une évolution de la composition de l'électrolyte au cours de la répétition des électrophorèses. En d'autres termes, on peut plonger le capillaire plusieurs fois dans le récipient contenant l'échantillon, mais celui contenant l'électrolyte doit être purgé fréquemment.

20 fois dans le même récipient



2 fois dans 10 récipients différents

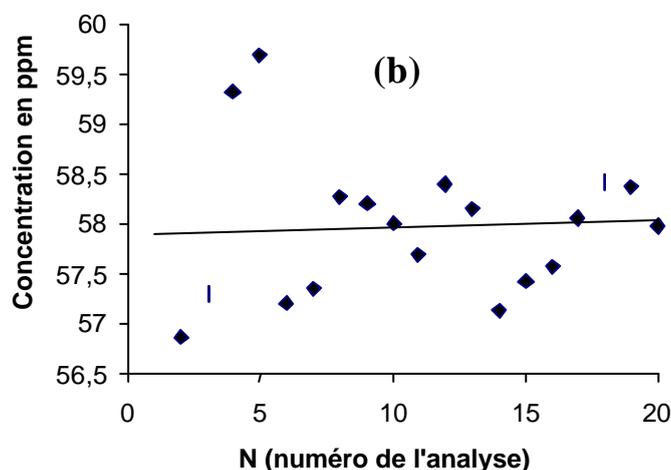


Fig. 6: Diagramme illustrant l'évolution constante et progressive des concentrations mesurées dans l'expérience comportant un grand nombre de répétitions (20), celles-ci étant effectuées à partir du même récipient (a). Cette évolution n'est pas observée lorsque les analyses sont répétées seulement 2 fois et en changeant de récipient (b).

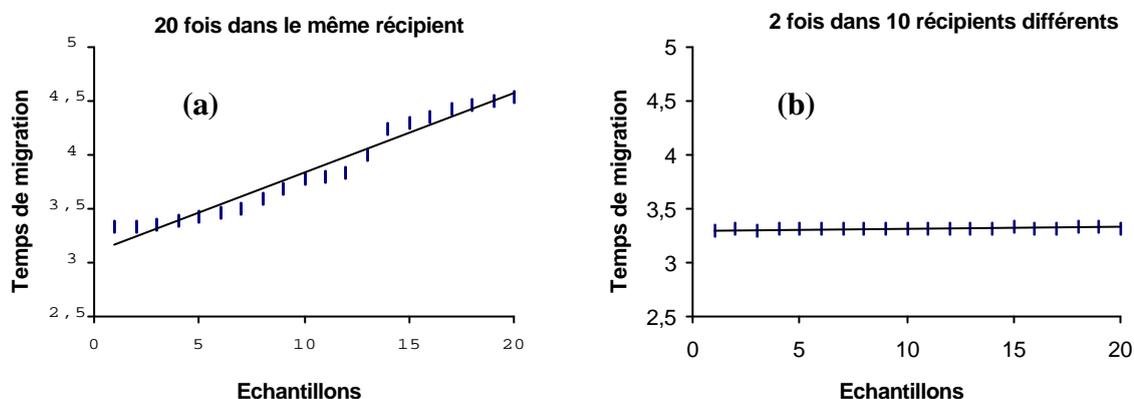


Fig. 7: Diagramme illustrant l'évolution constante et progressive des temps de migration dans l'expérience comportant un grand nombre de répétitions (20), celles-ci étant effectuées à partir du même récipient (a). Cette évolution n'est pas observée lorsque les analyses sont répétées seulement 2 fois et en changeant de récipient (b).

En conclusion, il a été décidé dans cette étude de ne procéder qu'à deux répétitions par échantillon analysé.

2.4. Effet de la pondération des gammes de calibration

Le logiciel TSP PC1000[®] utilisé lors des tests présentés ici possède une fonction qui permet de donner plus ou moins d'importance à certains points de la gamme de calibration, autorisant ainsi un test de l'influence de ce paramètre sur les résultats obtenus. Ces fonctions sont désignées par:

- NONE, qui donne à chaque point de la gamme le même "poids" statistique;
- 1/C, qui donne aux plus fortes valeurs une plus grande importance;
- 1/C², qui lui, donne une prépondérance aux valeurs les plus faibles.

Pour déterminer l'influence d'une pondération des droites de calibration sur les concentrations mesurées, trois séries de résultats obtenus pour des solutions présentant des concentrations croissantes en ion chlorure (5, 17 et 60 mg.L⁻¹) ont été traitées avec chacun des trois modes possibles, les résultats (valeurs "aberrantes" incluses) étant comparés dans le tableau 3.

Cl ⁻	None	1/C	1/C ²
Solution à 5 ppm	6.1 %	6.3 %	6.4 %
Solution à 17 ppm	1.8 %	1.8 %	1.8 %
Solution à 60 ppm	1.9 %	1.8 %	1.8 %

Tableau 3: Répétabilité (en %) des concentrations calculées pour des solutions à teneur en chlorure croissante en utilisant les trois modes autorisés par le logiciel TSP[®] PC1000[®] en matière de pondération, ou de non-pondération des courbes de calibration.

L'examen du tableau 3 montre que le choix de l'un ou l'autre des modes possibles en matière de calibration n'influe pas de façon significative sur la répétabilité des analyses. Sur la base de ce résultat, nous avons décidé d'accorder le même poids statistique à l'ensemble des points analytiques servant à définir les gammes de calibration utilisées dans cette étude (mode NONE du logiciel PC1000[®] de l'électrophorèse TSP[®])

3. Résultats

3.1. Spécificités de l'électrophorèse capillaire vis à vis des anions et cations inorganiques

Comme le montre le tableau 4, les temps de migrations moyens obtenus dans le cadre des conditions fixées dans ce travail (cf. tableau 2) attestent de la bonne spécificité de l'électrophorèse capillaire vis à vis du dosage des ions inorganiques en solution dans les eaux douces naturelles.

Anions	Temps de migration (en min)
Cl ⁻	3.15
SO ₄ ²⁻	3.45
NO ₃ ⁻	3.55

Cations	Temps de migration (en min)
NH ₄ ⁺	2.80
K ⁺	3.10
Na ⁺	4.05
Ca ₂ ⁺	4.85
Mg ₂ ⁺	5.10

Tableau 4: Temps de migration des ions minéraux analysés

3.2. Linéarité

Le logiciel PC1000[®] de l'électrophorèse TSP[®] permet de calculer la concentration en fonction de la hauteur ou de l'aire du pic. Aussi, nous est-il apparu utile d'effectuer des tests afin de déterminer laquelle des deux méthodes (calculs en fonction de la hauteur ou de l'aire) permettait d'obtenir une meilleure linéarité. Les résultats de l'un de ces tests – obtenu en l'occurrence pour l'ion chlorure - sont présentés dans la Fig. 8, les graphes pour les autres ions étant parfaitement similaires.

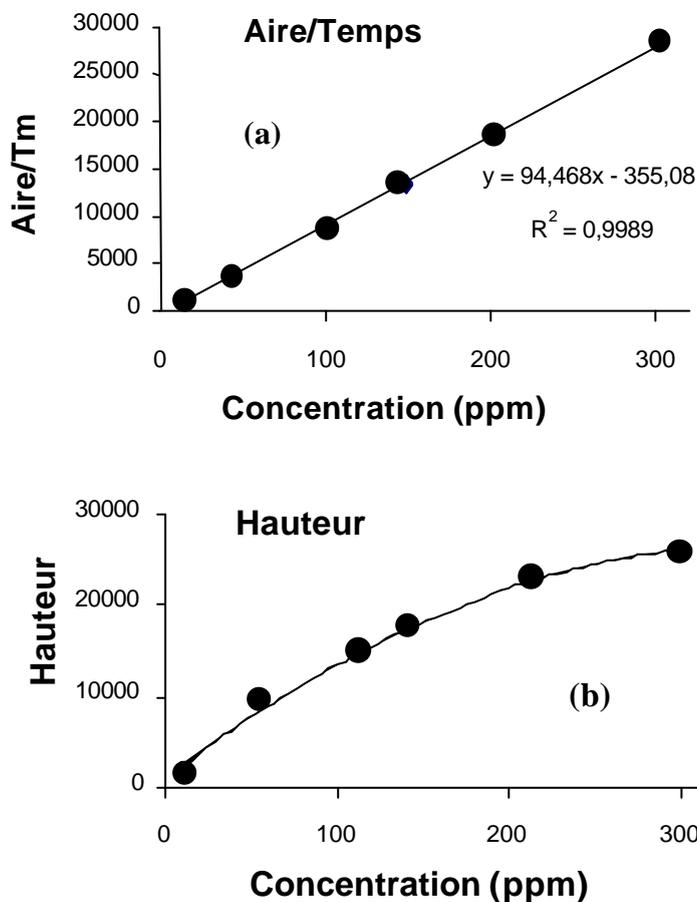


Figure 8: Diagrammes montrant la linéarité de l'électrophorèse lorsque les résultats sont exprimés sous la forme du rapport aire/temps de migration (a) et la non-linéarité de cette technique lorsque les résultats sont exprimés en hauteur de pics (b).

L'étude des relations concentrations/aires du pic et concentrations/hauteurs du pic pour les différents anions et cations minéraux examinés lors de ce travail a montré que seule le graphe représentant la concentration en fonction de l'aire corrigée du temps de migration conduisait à l'obtention de corrélations linéaires sur une large gamme de concentration (jusqu'à plus de 300 ppm dans le cas de l'ion chlorure; voir Fig. 8). Ces résultats démontrent que l'utilisation de l'électrophorèse capillaire impose d'effectuer une calibration relative à l'aire corrigée et non à la hauteur des pics.

3.3. Limites de détection

Les limites de détections calculées pour les 3 anions et les 5 cations inorganiques dosés dans le cadre de ce travail sont reportées dans les tableaux 5 et 6. Les limites les plus basses sont obtenues pour Mg^{2+} , K^+ et NH_4^+ ; les plus élevées sont calculées pour Na^+ et NO_3^- .

Composés	Aire _{moyen}	$K_d \cdot \sigma_{\text{blanc}}$	Temps de migration	Pente de la droite de calibration	Limite de détection (en $mg \cdot L^{-1}$)
Cl^-	65	0.472	3.20	97.2	0.68
SO_4^{2-}	63	0.816	3.50	74.0	1.06
NO_3^-	81	1.245	3.60	59.6	1.63

Tableau 5: Calcul de la limite de détection en $mg \cdot L^{-1}$ pour les 3 anions étudiés

Composés	Aire _{moyen}	$K_d \cdot \sigma_{\text{blanc}}$	Temps de migration	Pente de la droite de calibration	Limite de détection (en $mg \cdot L^{-1}$)
NH_4^+	44	0.241	2.76	265.4	0.30
K^+	40	0.243	3.1	114.2	0.35
Na^+	376	1.422	4.05	220.5	1.84
Ca^{2+}	87	0.388	4.8	229.3	0.47
Mg^{2+}	50	0.103	5.1	408.4	0.13

Tableau 6: Calcul de la limite de détection en $mg \cdot L^{-1}$ pour les 5 cations étudiés

Dans le tableau 7, nous avons reporté à titre de comparaison les limites de détection (méthode AFNOR) calculées pour 4 des 5 cations majeurs en utilisant l'ICP-MS (Inductively Coupled Plasma Mass Spectrometer) HP 4500[®] installée à Géosciences Rennes. La comparaison de ce tableau avec le tableau 6 montre que les limites de détection sont proches pour K^+ (0.35mg/l en Electrophorèse; 0.096mg/l en ICP-MS) alors qu'elles sont beaucoup plus fortes dans le cas des 3 autres cations (jusqu'à 5 ordres de grandeur pour Mg^{2+}).

Eléments	LD(AFNOR) pg.L ⁻¹	LQ(AFNOR) pg.L ⁻¹
Na ⁺	2704	2954
Mg ²⁺	51	57
K ⁺	96574	111137
Ca ²⁺	9562	10724

Tableau 7: Calcul de la Limite de Détection (LD) et de la Limite de Quantification (LQ) pour l'ICP-MS HP4500[®] en opération à Rennes.

3.4. Limites de quantification

Les limites de quantifications calculées pour les 3 anions et les 5 cations inorganiques dosés dans le cadre de ce travail sont reportées dans les tableaux 8 et 9. Les limites les plus basses sont obtenues pour Mg²⁺, K⁺ et Ca²⁺; les plus élevées sont calculées pour Na⁺ et NO₃⁻.

Composés	Aire _{moyen}	Temps de migration	Pente de la droite de calibration	Limite de quantification (en mg.L ⁻¹)
Cl ⁻	65	3.20	97.2	0.95
SO ₄ ²⁻	63	3.50	74.0	1.52
NO ₃ ⁻	81	3.60	59.6	2.33

Tableau 8: Calcul des limites de quantification en mg.L⁻¹ pour les 3 anions étudiés

Composés	Aire _{moyen}	Temps de migration	Pente de la droite de calibration	Limite de quantification (mg. L ⁻¹)
NH ₄ ⁺	44	2.76	265.4	1.00
K ⁺	40	3.1	114.2	0.49
Na ⁺	376	4.05	220.5	2.04
Ca ²⁺	87	4.8	229.3	0.69
Mg ²⁺	50	5.1	408.4	0.19

Tableau 9: Calcul de la limite de quantification en mg.L⁻¹ pour les 5 cations étudiés

Comme pour les limites de détection, nous avons reporté dans le tableau 7 les limites de quantification calculées pour 4 des 5 cations majeurs en utilisant l'ICP-MS HP 4500[®] installée à Géosciences Rennes. La comparaison de ce tableau avec le tableau 9 montre que les limites de quantification calculées pour l'électrophorèse capillaire sont nettement plus élevées (sauf pour K⁺) que celles calculées pour l'ICP-MS (jusqu'à 5 ordres de grandeur pour Mg²⁺).

3.5. Justesse

La justesse a été déterminée au travers de l'analyse d'une solution standard synthétique (CRM 617) commercialisée par l'IRMM (Institute for Reference Materials and Measurements, cf. annexe), et contenant les cations et anions étudiés (sauf NH₄⁺) à des concentrations proches de celles observées dans les eaux douces naturelles. Les résultats sont reportés dans les tableaux 10 et 11. Ces résultats portent sur la moyenne de 10 mesures séparées.

Composés	Valeurs certifiées (mg.L ⁻¹)	Valeurs obtenues (mg.L ⁻¹)
Cl ⁻	26.4 ± 0.4	25.9 ± 0.4
SO ₄ ²⁻	26.3 ± 0.5	26.9 ± 0.4
NO ₃ ⁻	25.8 ± 0.5	26.5 ± 0.8

Tableau 10: Validation de la justesse de la mesure des 3 anions étudiés par rapport au standard certifié CRM 617.

Composés	Valeurs certifiées (mg.L ⁻¹)	Valeurs obtenues (mg.L ⁻¹)
NH ₄ ⁺	<i>Non présent dans le standard</i>	<i>Non présent dans le standard</i>
K ⁺	9.9 ± 0.3	8.5 ± 0.3
Na ⁺	14.6 ± 0.3	13.3 ± 0.3
Ca ²⁺	14.6 ± 0.4	14.1 ± 0.4
Mg ²⁺	7.32 ± 0.15	7.45 ± 0.15

Tableau 11: Validation de la justesse de la mesure de 4 des 5 cations étudiés par au standard certifié CRM 617.

L'examen du tableau 10 montre que les concentrations en anions mesurées par électrophorèse capillaire pour le standard CRM 617 recourent, aux erreurs près, les valeurs données par le constructeur. La même conclusion s'applique à Mg^{2+} et Ca^{2+} . Seuls les cations Na^+ et K^+ présentent des concentrations mesurées significativement différentes des valeurs certifiées (plus faibles de 10 et 5.8%, respectivement).

Dans la Fig. 9, nous avons comparé le niveau de justesse atteint par l'électrophorèse capillaire avec celui de l'ICP-MS, méthode dont les limites de détection et de quantification sont particulièrement basses. Les tests comparatifs ont été effectués à l'aide du standard CRM617. L'examen de la Fig. 9 montre le bon accord observé entre l'électrophorèse capillaire et l'ICP-MS.

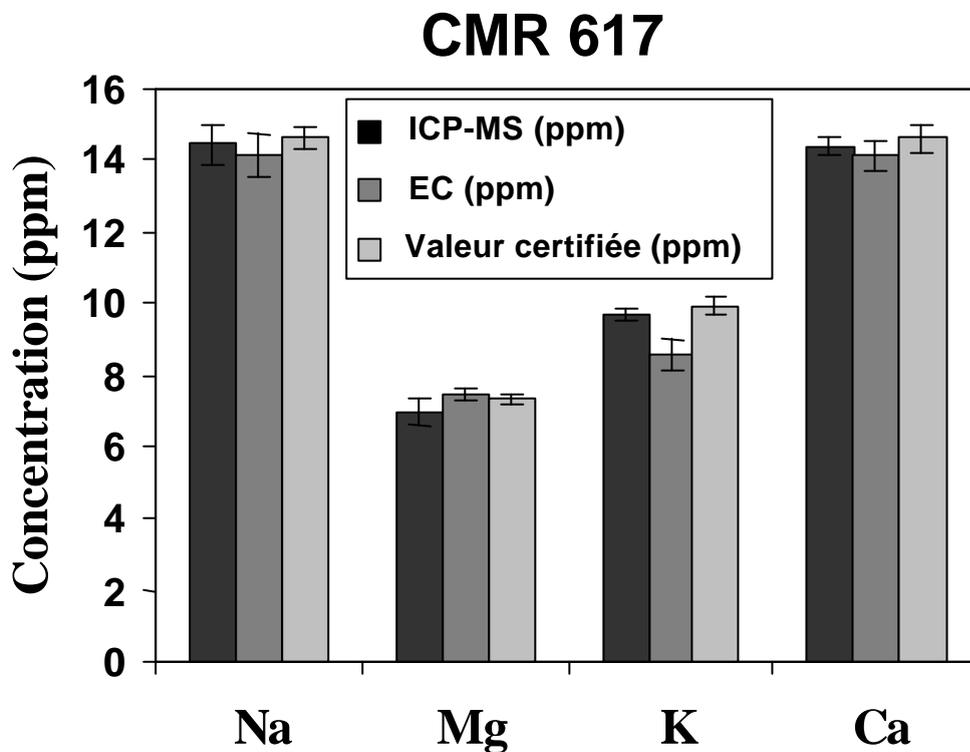


Fig. 9: Comparaison des performances de l'électrophorèse capillaire et de l'ICP-MS en matière de justesse des dosages des concentrations des cations minéraux dans les solutions aqueuses.

3.6. Répétabilité

Les tableaux 11 et 12 présentent les résultats de répétabilité (ces résultats prennent en compte les valeurs aberrantes). La répétabilité est visualisée par l'écart type (exprimée en %) calculé sur la moyenne de 10 analyses indépendantes d'un même échantillon comportant 2 répétitions, soit un total de 20 valeurs. Les tests de répétabilité présentés comportent une étude de l'effet de la concentration. A cette fin, des écarts types ont été déterminés pour 3 niveaux de concentration différents. Les solutions utilisées pour ces tests à concentration variable ont été préparées par dilution des solutions MERK[®] à 1000 mg.L⁻¹ (NH₄Cl, KNO₃, NaNO₃, Ca(NO₃)₂, Mg(NO₃)₂, NaCl, Na₂SO₄, NaNO₃) utilisées par ailleurs pour l'établissement des gammes étalon. L'effet de la concentration sur la répétabilité est illustré graphiquement dans les Figs. 10 (anions) et 11 (cations).

Composés	Ecart Type (Faible Concentration)	Ecart Type (Concentration Moyenne)	Ecart Type (Forte Concentration)
Cl ⁻	6.1% (5 mg.L ⁻¹)	1.8% (16.5 mg.L ⁻¹)	1.3% (61 mg.L ⁻¹)
SO ₄ ²⁻	9.8% (2.5 mg.L ⁻¹)	2.6% (8 mg.L ⁻¹)	2.3% (30 mg.L ⁻¹)
NO ₃ ⁻	6.4% (5.5 mg.L ⁻¹)	2.2% (19 mg.L ⁻¹)	2.3% (69 mg.L ⁻¹)

Tableau 11: Résultats de répétabilité à différentes concentrations pour les 3 anions étudiés (écarts types en % obtenus sur la moyenne de 10 analyses présentant chacune 2 répétitions).

Les valeurs entre parenthèses indiquent les concentrations des différents anions dans les solutions analysées.

L'examen des tableaux 10 et 11 et des Figs. 10 et 11 montre que la répétabilité dépend fortement du niveau de concentration. En cela, l'électrophorèse capillaire n'est pas différente des autres méthodes de chimie analytique. En outre, on constate que les cations présentent une répétabilité sensiblement dégradée (stabilisation des écarts types entre 3 et 5%) par rapport aux anions (stabilisation des écarts types aux alentours de 2%).

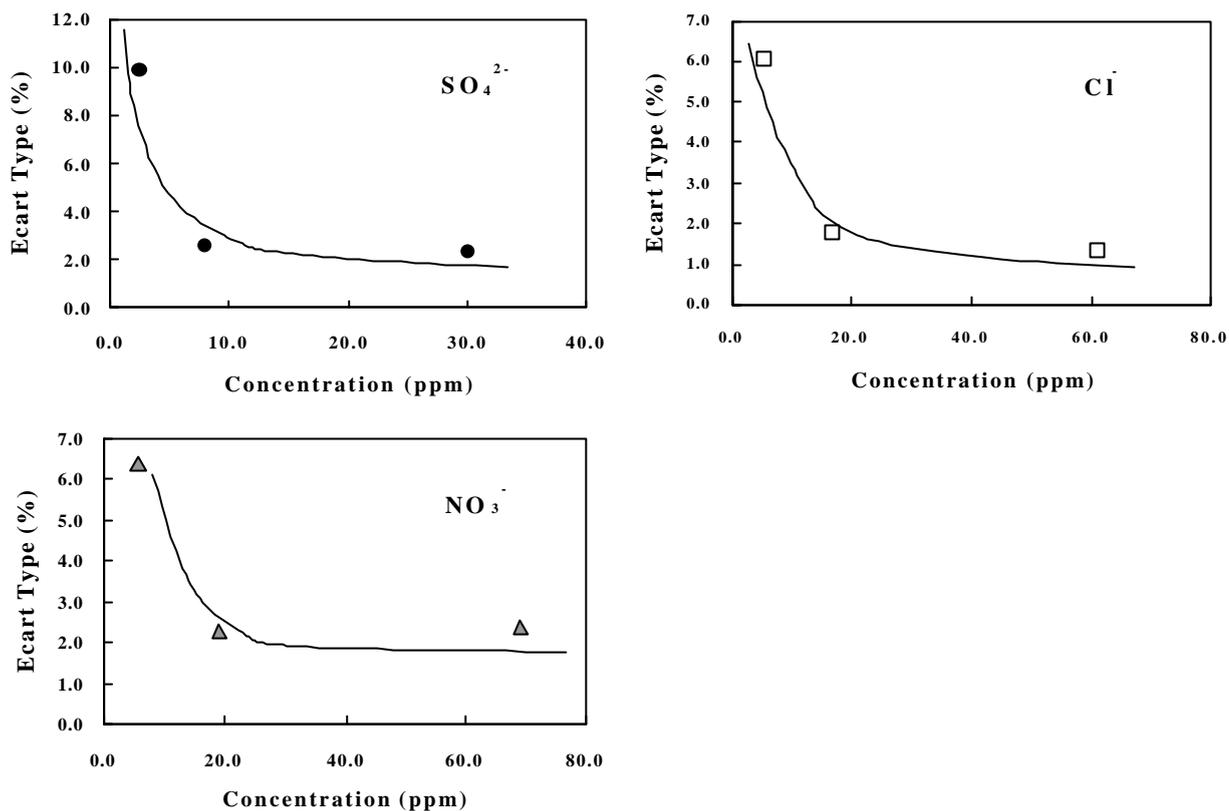


Fig. 10: Diagrammes illustrant l'évolution des écarts types obtenus sur la moyenne des concentrations mesurées pour chacun des trois anions étudiés en fonction de la concentration des solutions analysées. On note une stabilisation des écarts types autour de 1 à 3% dès que les concentrations excèdent 10 ppm (écarts types en % obtenus sur la moyenne de 10 analyses comportant chacune 2 répétitions).

Composés	Ecart Type (Faible Concentration)	Ecart Type (Concentration Moyenne)	Ecart Type (Forte Concentration)
NH₄⁺	10.3% (0.5 mg.L ⁻¹)	11.1% (1 mg.L ⁻¹)	5.8% (4.5 mg.L ⁻¹)
K⁺	9.0% (1 mg.L ⁻¹)	3.5% (1.5 mg.L ⁻¹)	5.0% (7 mg.L ⁻¹)
Na⁺	9.2% (7 mg.L ⁻¹)	4.1% (10 mg.L ⁻¹)	4.1% (45 mg.L ⁻¹)
Ca²⁺	3.7% (7 mg.L ⁻¹)	2.9% (10 mg.L ⁻¹)	3.6% (45.5 mg.L ⁻¹)
Mg²⁺	11.1% (3 mg.L ⁻¹)	2.4% (4.5 mg.L ⁻¹)	2.9% (20 mg.L ⁻¹)

Tableau 12: Résultats de répétabilité à différentes concentrations pour les 5 cations étudiés (Ecart types en % obtenus sur la moyenne de 10 analyses présentant chacune 2 répétitions).

Les valeurs entre parenthèses indiquent les concentrations des différents cations dans les solutions analysées.

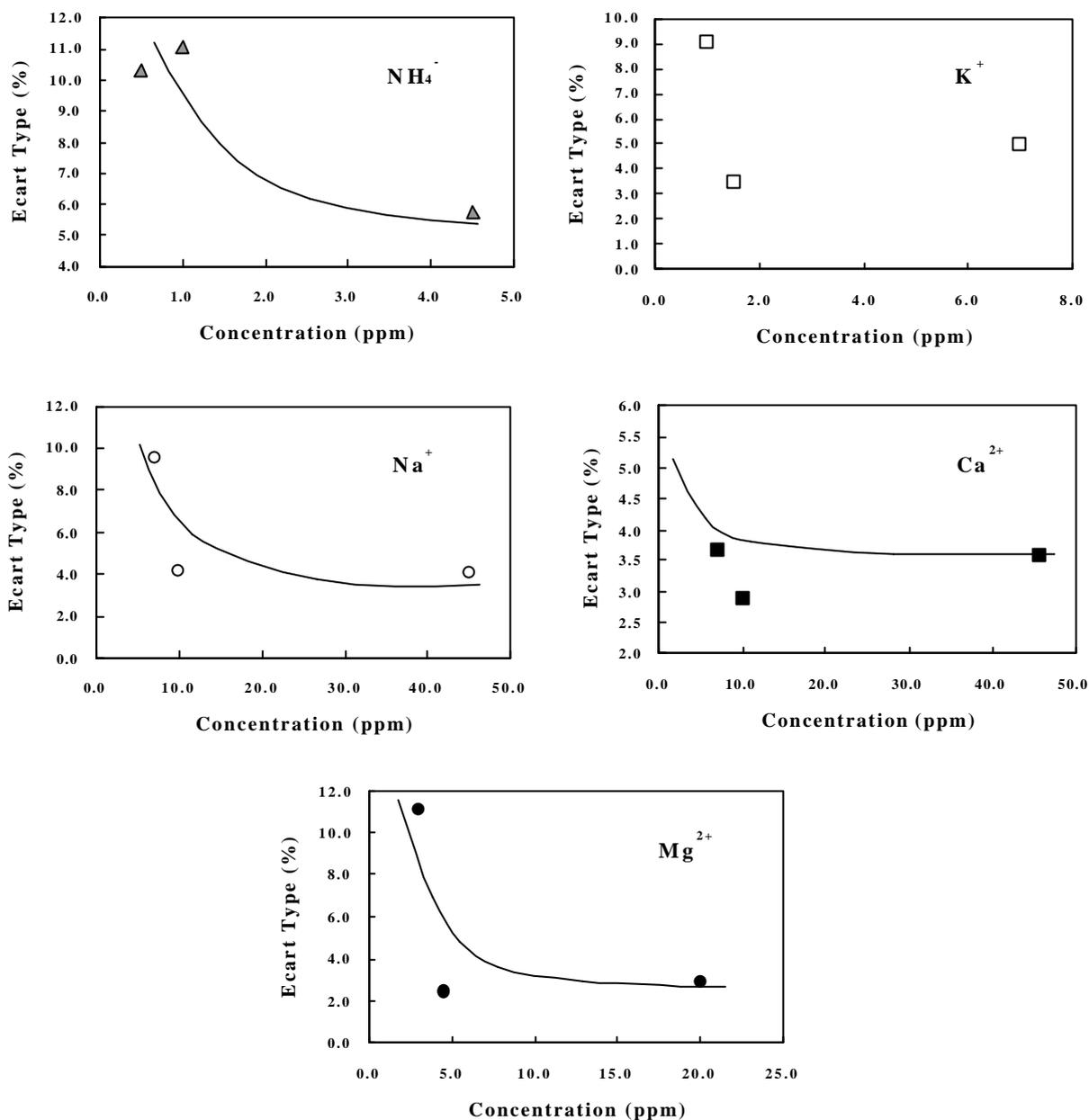


Fig. 11: Diagrammes illustrant l'évolution des écarts types obtenus sur la moyenne des concentrations mesurées pour chacun des cinq cations étudiés en fonction de la concentration des solutions analysées. On note une stabilisation des écarts types autour de 3 à 5% lorsque les concentrations des solutions analysées augmentent (écarts types en % obtenus sur la moyenne de 10 analyses comportant chacune 2 répétitions).

CHAPITRE V

Déroulement
d'une Séquence Analytique Type

Le déroulement d'une séquence analytique type comprend les opérations suivantes :

- 1) Mise en marche de l'ordinateur puis de l'électrophorèse capillaire (*préchauffage de la lampe UV*)
- 2) *Dégazage du tampon* pendant 20 minutes en prenant soin d'éviter la formation de bulles dans le capillaire. Cette opération se déroule en deux temps. Dans un premier temps on procède au dégazage pendant 10 minutes de la quantité de tampon nécessaire pour une journée d'analyse; on prélève ensuite environ 30 ml de tampon qui après un nouveau dégazage de 10 minutes aux ultra-sons sera utilisé pour remplir les compartiments (cathodique ou anodique) dans lesquels plongera l'électrode; finalement, le réservoir machine est redégazé pendant 10 minutes après extraction des 30 ml de tampon servant au remplissage des compartiments.
- 3) *Conditionnement du capillaire* pendant environ 30 minutes, le but étant de former les couches ioniques sur la paroi du capillaire (cf. tableau 13).

Position du vial	DUREE	TEMPERATURE	SOLUTION
1.01	5 min	30°C	EAU
1.02	5 min	60°C	NaOH, 1N
1.03	5 min	60°C	NaOH, 0.1N
1.04	5 min	60°C	EAU
1.04	5 min	25°C	EAU
1.05	5 min	25°C	TAMPON

Tableau 13: Tableau détaillant les différentes étapes nécessaires au conditionnement du capillaire.

- 4) *Vérification de la stabilité du courant.*
- 5) *Vérification de la ligne de base.*
- 6) *Vérification de la bonne résolution des pics et vérification des temps de migration* des espèces à doser à l'aide des solutions d'étalonnage. Cette étape est indispensable sachant que les temps de migration peuvent varier d'un jour à l'autre, en fonction de l'état du capillaire, du vieillissement du tampon, ou encore de la température de la pièce (seul le capillaire est thermostaté).
- 7) *Etalonnage.* A ce stade, 6 solutions étalon de concentrations connues sont injectés pour vérifier la bonne linéarité du système de détection sur toute la gamme de concentration souhaitée.
- 8) *Début de la séquence d'analyse* proprement dite. Lors de celle-ci, les échantillons sont injectés par série de 5, les séries étant séparées les unes des autres par un échantillon de la gamme d'étalonnage, celui-ci étant traité comme un inconnu. Cette procédure permet une

validation en continu des analyses et est utile pour déceler les dérives du détecteur ou les dérives liées à d'autres paramètres comme la température de la pièce, ou l'état de la paroi du capillaire après le passage d'un échantillon concentré.

On rappellera que les conditions opératoires (tension, diamètre du capillaire, ...) utilisées au cours de ce travail et lors des analyses pratiquées dans notre laboratoire sont présentées dans le tableau 2.

CHAPITRE VI

Conclusion

Plusieurs conclusions peuvent être dégagées de cette étude.

Concernant l'analyse des anions minéraux. Pour des concentrations que l'on trouve habituellement dans les eaux douces naturelles, la répétabilité obtenue est inférieure à 5%. A titre de comparaison, les résultats publiés dans la littérature pour la technique par électrophorèse capillaire font état de répétabilités comprises entre 3 et 3.5 %. Les limites de détection et de quantification que nous calculons sont identiques voire inférieures à celles rapportées dans la littérature pour les électrophorèses capillaires; elles sont du même ordre de grandeur que celles obtenues pour les chromatographies ioniques. Cependant, on doit noter que l'erreur sur la mesure augmente considérablement lorsque la quantité à doser s'approche de la limite de quantification, faisant des électrophorèses capillaires des instruments peu adaptés à la mesure des basses concentrations (<5 ppm). Concernant la justesse, les tests effectués sur le standard CRM 617 ont donné des résultats satisfaisants, les concentrations mesurées étant identiques, aux erreurs analytiques près, à celles données par le constructeur.

Analyse des cations minéraux. Il est classiquement reconnu que l'analyse des cations minéraux par électrophorèse capillaire est plus délicate que celles des anions. Les tests de répétabilité présentés dans ce travail confirme ce fait, les écarts types calculés sur les moyennes des répétitions effectuées étant plus élevés pour les cations (3 à 6%) que pour les anions (1 à 2%). En outre, les tests de justesse effectués sur le standard CRM 617 sont moins bons que pour les anions. Seuls, le calcium et le magnésium ont livré des concentrations mesurées identiques, aux erreurs près, aux valeurs certifiées du standard. Pour le potassium et le sodium, les concentrations mesurées se sont avérées être plus faibles que les valeurs données par le constructeur - de 10 et 5.8%, respectivement – sans qu'il soit possible d'expliquer la raison de ces écarts. Deux cations (magnésium et potassium) ont livré des limites de quantification particulièrement basses, <0.5 mg.L⁻¹.

En conclusion, les tests effectués montrent que la technique par électrophorèse capillaire (technique simple de mise en œuvre et peu coûteuse en fonctionnement) est adaptée aux dosages des cations et des anions inorganiques en solution dans les eaux douces naturelles, pour peu que ceux-ci soient présents à des niveaux de concentrations suffisants.

BIBLIOGRAPHIE

Pour en savoir plus...

- Dale R. Baker. (1995) Capillary electrophoresis. *Techniques in analytical chemistry series, Wiley-interscience*
- P. Morin, C. François, M. Dreux, (1994) Séparation de cations et d'anions inorganiques par électrophorèse capillaire ionique avec une détection spectrométrique UV indirecte. *Analysis* **22**, 178-187.
- Jandik P., Jones W.R., Weston A., and Brown P. Electrophoretic capillary ion analysis: Origins, principles and applications. *L-CG-INTL*, Vol 5, n° 1
- Buchberger W., Haddad P.R., (1992) Effects of carrier electrolyte composition on separation selectivity in capillary zone electrophoresis of low-molecular-mass anions. *Journal of Chromatography* **608**, 59-64.
- Romano J.P. and Krol J. (1993) Capillary ion electrophoresis, an environmental method for the determination of anions in water. *Journal of chromatography* **640**, 403-412.
- Hong-Wei Zhang, Xing-Guo Chen, Zhi-De Hu (1994) Influence of sample injection time of ions on migration time in capillary ion electrophoresis. *Journal of chromatography* **677**, 159-167.
- Jones.W.R. and Jandik P. (1992) Various approaches to analysis of difficult sample matrices of anions using capillary ion electrophoresis. *Journal of chromatography* **608**, 385-393.
- Göttlein A. and Blasek R. (1996). Analysis of small volumes of soil solution by capillary electrophoresis *Soil science*           
- Cockborne A.M. et Sevenier G. (1998) Détermination par électrophorèse capillaire, méthode CIA, des anions minéraux et des cations majeurs (comparaison avec différentes méthodes) *Spectra analyse* n° 205
- Pantsar-Kallio M., Pentti K.G., Manninen, (1995) Determination of sodium, potassium, calcium and magnesium cations by capillary electrophoresis compared with ion chromatography. *Analytica Chimica Acta* **314**, 67-75
- Jandik P. and Jones W.R. (1991) Optimisation of detection sensitivity in the capillary electrophoresis of inorganic anions. *Journal of chromatography* **546**, 431-443.
- Lacroix Y. (1962) Analyse chimique: interprétation des résultats par le calcul statistique (éditions Masson et Cie)
- Regeard A.(1999) Statistiques appliquées à l'analyse chimique (Rapport interne, ENSAR de Rennes)
- Documents distribuées lors d'un stage organisé par la société Merck (1998) "Validation des méthodes analytiques".

Feinberg M (2000) La validation des méthodes d'analyse. *Cahier Technique INRA* **44**,19-49.

AFNOR (1999) Recueil *Environnement, la qualité de l'eau*, Tome1 (terminologie, échantillonnage, contrôle qualité), Paris.

CAHIERS TECHNIQUES DE GEOSCIENCES RENNES
Université de Rennes I - Campus de Beaulieu
35042 - RENNES Cédex
Tél : (33) 2 99 28 14 75 - Fax (33) 2 99 28 61 00

N° 1 – M. BOUHNİK-LE COZ, P. PETITJEAN, E. SERRAT et G. GRUAU - Validation d'un protocole permettant le dosage simultané des cations majeurs et traces dans les eaux douces naturelles par ICP-MS. 84 p. (2001). **50 FF**

N° 2 – P. PETITJEAN, O. HENIN, S. ELLIAS et G. GRUAU - Application de l'électrophorèse capillaire au dosage des anions et des cations majeurs en solution dans les eaux douces naturelles. 49 p. (2001). **60 FF**

MEMOIRES DE GEOSCIENCES RENNES
Université de Rennes I - Campus de Beaulieu
35042 - RENNES Cédex
Tél : (33) 2 99 28 60 80 - Fax (33) 2 99 28 26 02

N° 1 - H. MARTIN - Nature, origine et évolution d'un segment de croûte continentale archéenne : contraintes chimiques et isotopiques. Exemple de la Finlande orientale. 392 p., 183 fig., 51 tabl., 4 pl. (1985). **140 FF**

N° 2 - G. QUERRE - Palingénèse de la croûte continentale à l'Archéen : Les granitoïdes tardifs (2,5-2,4 Ga) de Finlande Orientale. Pétrologie et géochimie. 226 p., 74, fig., 41 tabl., 3 pl. (1985). **85 FF**

N° 3 - J. DURAND - Le Grès Armoricaïn. Sédimentologie. Traces fossiles. Milieux de dépôt. 150 p., 76 fig., 9, tabl., 19 pl. (1985). **55 FF**

N° 4 - D. PRIOUR - Genèse des zones de cisaillement : Application de la méthode des éléments finis à la simulation numérique de la déformation des roches. 157 p., 106 fig., 7 tabl. (1985). **55 FF**

N° 5 - V. NGAKO - Evolution métamorphique et structurale de la bordure sud-ouest de la "série de Poli", segment camerounais de la chaîne panafricaine. 185 p., 76 fig., 16, tabl., 12 pl. (1986). **70 FF**

N° 6 - J. DE POULPIQUET - Etude géophysique d'un marqueur magnétique situé sur la marge continentale sud-armoricaine. 159 p., 121 fig., 5 tabl. (1986). **55 FF**

N° 7 - P. BARBEY - Signification géodynamique des domaines granulitiques. La ceinture des granulites de Laponie : une suture de collision continentale d'âge protérozoïque inférieur (1.9-2.4 Ga). 324 p., 89 fig., 46 tabl., 11 pl. (1986). **115 FF**

N° 8 - Ph. DAVY - Modélisation thermo-mécanique de la collision continentale. 233 p., 72 fig., 2 tabl. (1986). **95 FF**

N° 9 - Y. GEORGET - Nature et origine des granites peralumineux à cordiérite et des roches associées. Exemple des granitoïdes du Massif Armoricaïn (France) : Pétrologie et géochimie. 250 p., 140 fig., 67 tabl. (1986). **Epuisé**

N° 10 - D. MARQUER - Transfert de matière et déformation progressive des granitoïdes. Exemple des massifs de l'Aar et du Gothard (Alpes Centrales Suisses). 287 p., 134 fig., 52 tabl., 5 cartes hors-texte (1987). **Epuisé**

N° 11 - J.S. SALIS - Variation séculaire du champ magnétique terrestre. Direction et Paléointensité sur la période 7.000-70.000 BP dans la Chaîne des Puys. 190 p., 73 fig., 28 tabl., 1 carte hors-texte (1987). **90 FF**

N° 12 - Y. GERARD - Etude expérimentale des interactions entre déformation et transformation de phase. Exemple de la transition calcite-aragonite. 126 p., 42 fig., 3 tabl., 10 pl. (1987). **75 FF**

N° 13 - H. TATTEVIN - Déformation et transformation de phases induites par ondes de choc dans les silicates. Caractérisation par la microscopie électronique en transmission. 150 p., 50 fig., 1 tabl., 13 pl. (1987). **95 FF**

N° 14 - J.L. PAQUETTE - Comportement des systèmes isotopiques U-Pb et Sm-Nd dans le métamorphisme éclogitique. Chaîne hercynienne et chaîne alpine. 190 p., 88 fig., 39 tab., 2 pl. (1987). **95 FF**

N° 15 - B. VENDEVILLE - Champs de failles et tectonique en extension; modélisation expérimentale. 392 p., 181 fig., 1, tabl., 82 pl. (1987). **265 FF**

N° 16 - E. TAILLEBOIS - Cadre géologique des indices sulfurés à Zn, Pb, Cu, Fe du secteur de Gouézec-St-Thois : Dévono-Carbonifère du flanc Sud du Bassin de Châteaulin (Finistère). 195 p., 64 fig., 41 tabl., 8 pl. photo., 8 pl. h.texte. (1987). **110 FF**

- N° 17 - J.P. COGNE** - Contribution a l'étude paléomagnétique des roches déformées. 204 p., 86 fig., 17 tabl. (1987). **90 FF**
- N° 18 - E. DENIS** - Les sédiments briovériens (Protérozoïque supérieur) de Bretagne septentrionale et occidentale : Nature, mise en place et évolution. 263 p., 148 fig., 26 tab., 8 pl. (1988). **140 FF**
- N° 19 - M. BALLEVRE** - Collision continentale et chemins P-T : l'Unité pennique du Grand Paradis (Alpes Occidentales). 340 p., 146 fig., 10 tabl., (1988). **Epuisé**
- N° 20 - J.P. GRATIER** - L'équilibrage des coupes géologiques. Buts, méthodes et applications. Atelier du Groupe d'Etudes Tectoniques le 8 Avril 1987 à Rennes. 165 p., 82 fig., 2 tabl. (1988). **85 FF**
- N° 21 - R.P. MENOT** - Magmatismes paléozoïques et structuration carbonifère du Massif de Belledonne (Alpes Françaises). Contraintes nouvelles pour les schémas d'évolution de la chaîne varisque ouest-européenne. 465 p., 101 fig., 31 tab., 6 pl., (1988). **Epuisé**
- N° 22 - S. BLAIS** - Les ceintures de roches vertes archéennes de Finlande Orientale : Géologie, pétrologie, géochimie et évolution géodynamique. 312 p., 107 fig., 98, tab., 11 pl. photo, 1 pl. h.texte, (1989). **160 FF**
- N° 23 - A. CHAUVIN** - Intensité du champ magnétique terrestre en période stable de transition, enregistrée par des séquences de coulées volcaniques du Quaternaire. 217 p., 100 fig., 13 tab. (1989). **100 FF**
- N° 24 - J.P. VUICHARD** - La marge austroalpine durant la collision alpine; évolution tectonométamorphique de la zone de Sesia-Lanzo. 307 p., 143 fig., 26 tab., 6 pl. hors-texte. (1989). **170 FF**
- N° 25 - C. GUERROT** - Archéen et Protérozoïque dans la chaîne hercynienne ouest-européenne : géochimie isotopique (Sr-Nd-Pb) et géochronologie U-Pb sur zircons. 180 p., 68 fig., 29 tab., I pl. (1989). **90 FF**
- N° 26 - J.L. LAGARDE** - Granites tardi-carbonifères et déformation crustale. L'exemple de la Méseta marocaine. 353 p., 244 fig., 15pl. (1989). **210 FF**
- N° 27 - Ph. BARDY** - L'orogène cadomien dans le Nord-Est du Massif Armoricaïn et en Manche Occidentale. Etude tectonométamorphique et géophysique. 395 p., 142 fig., 7 tab., I pl. hors-texte. (1989). **175 FF**
- N° 28 - D. GAPAIS** - Les Orthogneiss : Structures, mécanismes de déformation et analyse cinématique. 377 p., 184 fig., 3 tab. (1989). **275 FF**
- N° 29 - E. LE GOFF** - Conditions pression-température de la déformation dans les orthogneiss : Modèle thermodynamique et exemples naturels. 321 p., 146 fig., 42 tab. (1989). **150 FF**
- N° 30 - D. KHATTACH** - Paléomagnétisme de formations paléozoïques du Maroc. 220 p., 97 fig., 35 tab., (1989). **100 FF**
- N° 31 - A. HAIDER** - Géologie de la formation ferrifère précambrienne et du complexe granulitique encaissant de Buur (Sud de la Somalie). Implications sur l'évolution crustale du socle de Buur. 215 p., 18 fig., 42 tab., 7 pl. (1989). **130 FF**
- N° 32 - T. DANIEL** - Traitement numérique d'image appliqué à l'analyse texturale de roches déformées. 186 p., 121 fig., 4 tab. (1989). **210 FF**
- N° 33 - C. LECUYER** - Hydrothermalisme fossile dans une paléocroûte océanique associée à un centre d'expansion lent : Le complexe ophiolitique de Trinity (N. Californie, U.S.A). 342 p., 109 fig., 73 tab. (1989). **200 FF**
- N° 34 - P. RICHARD** - Champs de failles au dessus d'un décrochement de socle: modélisation expérimentale. 382 p., 137 fig. (1989). **400 FF**

N° 35 - **J. de BREMOND d'ARS** - Estimation des propriétés rhéologiques des magmas par l'étude des instabilités gravitaires. Pétrologie du complexe plutonique lité de Guernesey. 370 p., 128 fig., 64 tabl. (1989). **180 FF**

N° 36 - **A. LE CLEAC'H** - Contribution à l'étude des propriétés physiques des minéraux à haute pression : Spectroscopie et calcul des grandeurs thermodynamiques de la lawsonite, des épidotes et des polymorphes de SiO₂. 190 p., 72 fig., 37 tabl. (1989). **100 FF**

N° 37 - **O. MERLE** - Cinématique des nappes superficielles et profondes dans une chaîne de collision. 280 p., 165 fig., 3 tabl. (1990). **160 FF**

N° 38 - **P. ALLEMAND** - Approche expérimentale de la mécanique du rifting continental. 205 p., 106 fig., 13 tabl. (1990). **160 FF**

N° 39 - **Ch. BASILE** - Analyse structurale et modélisation analogique d'une marge transformante : l'exemple de la marge de Côte-d'Ivoire - Ghana. 230 p., 161 fig., 7 tabl. (1990) . **Epuisé**

N° 40 - **M. AUDIBERT** - Déformation discontinue et rotations de blocs. Méthodes numériques de restauration. Application à la Galilée. 250 p., 80 fig., 5 tabl., (1991). **150 FF**

N° 41 - **G. RUFFET** - Paléomagnétisme et ⁴⁰Ar/³⁹Ar : étude combinée sur des intrusions précambriennes et paléozoïques du Trégor (Massif Armoricain). 261 p., 80 fig., 19 tabl. (1991). **120 FF**

N° 42 - **P. SUZANNE** - Extrusion latérale de l'Anatolie : Géométrie et mécanisme de la fracturation. 262 p., 100 fig., 12 pl., 5 tabl. (1991). **210 FF**

N° 43 - **G. FIQUET** - Propriétés thermodynamiques de minéraux du manteau supérieur. Calorimétrie à haute température et spectroscopie Raman à haute pression et haute température. 274 p., 101 fig., 53 tabl. (1991). **130 FF**

N° 44 - **J. MARTINOD** - Instabilités périodiques de la lithosphère (Flambage, Boudinage en compression et en extension). 283 p., 117 fig., 3 tabl., 2 pl. couleur. (1991). **170 FF**

N° 45 - **M.O. BESLIER** - Formation des marges passives et remontée du manteau: Modélisation expérimentale et exemple de la marge de la Galice. 257 p., 86 fig., 5 tab., 2 pl. noir/blanc, 2 Pl. couleur. (1991). **180 FF**

N° 46 - **J.B.L. FRANCOLIN** - Analyse structurale du Bassin du Rio Do Peixe. (Brésil). 250 p., 83 fig., 3 tab., 9 pl. couleur. (1992). **300 FF**

N° 47 - **S. TOURPIN** - Perte des mémoires isotopiques (Nd, Sr, O) et géochimiques (REE) primaires des komatiites au cours du métamorphisme : exemple de la Finlande Orientale. 85 p., 53 fig., 23 tabl. (1992). **100 FF**

N° 48 - **J.A. BARRAT** - Genèse des magmas associés à l'ouverture d'un domaine océanique : Géochimie des laves du Nord-Est de l'Afrique (Mer Rouge - Afar) et d'Arabie. 175 p., 47 fig., 23 tab. (1992). **100 FF**

N° 49 - **E. HALLOT** - Injection dans les réservoirs magmatiques. Contraintes pétrologiques (Massifs de Fort La Latte et de Saint Briec, Bretagne Nord) et modélisation analogique. 331 p., 101 fig., 30 tabl. (1993). **180 FF**

N° 50 - **T. SOURIOT** - Cinématique de l'extension post-pliocène en Afar. Imagerie SPOT et modélisation analogique. 225 p., 2 pl. coul., 1 tabl., 91 fig., 16 pl. photo., 1 carte H.Texte. (1993). **190 FF**

N° 51 - **T. EUZEN** - Pétrogenèse des granites de collision post- épaisissement. Le cas des granites crustaux et mantelliques du Complexe de Pontivy-Rostrenen (Massif Armoricain, France). 350 p., 2 pl. coul., 34 tabl. en annexe, (1993). **190 FF**

N° 52 - **J. LE GALL** - Reconstitution des dynamismes éruptifs d'une province paléovolcanique : l'exemple du graben cambrien du Maine (Est du Massif Armoricain). Pétrogenèse des magmas andésitiques et ignimbritiques et leur signification dans l'évolution géodynamique cadomienne. 370 p., 30pl. photo., 1 pl. coul. (1993). **350 FF**

- N° 53 - J. C. THOMAS** - Cinématique tertiaire et rotations de blocs dans l'ouest de l'Asie Centrale (Tien Shan Kirghiz et dépression Tadjik). Etude structurale et paléomagnétique. 330 p., 107 fig., 2 pl. coul., 18 tabl., 1 carte, annexes. (1993). **220 FF**
- N° 54 - F. LAFONT** - Influences relatives de la subsidence et de l'eustatisme sur la localisation et la géométrie des réservoirs d'un système deltaïque. Exemple de l'Eocène du bassin de Jaca, Pyrénées Orientales. 270 p., 115 fig., dont 17 pl. couleur. (1994). **150 FF**
- N° 55 - C. BIELLMANN** - Stabilité et réactivité des carbonates à très hautes pression et température. Implications pour le stockage du Carbone dans le manteau terrestre. 230 p., 74 fig., 11 tabl., 1 pl. couleur (1993). **175 FF**
- N° 56 - A. POTREL** - Evolution tectono-métamorphique d'un segment de croûte continentale archéenne. Exemple de l'Amsaga (R.I. Mauritanie), dorsale Réguibat (Craton Ouest Africain). 400 p., (dont annexes) 125 fig., 21 tabl., 1 pl. couleur, 43 pl. photo (1994). **270 FF**
- N° 57 - M. KUNTZ** - Approche expérimentale de la déformation dans les systèmes préfracturés : Contribution à l'étude de l'inversion tectonique des bassins sédimentaires. 220 p., 19 pl., 87 fig., 3 tabl. (1994). **155 FF**
- N° 58 - D. ROUBY** - Restauration en carte des domaines faillés en extension. Méthode et applications. 266 p., 98 fig. dont annexes (1994). **180 FF**
- N° 59 - J.J. TONDJIBIYO** - Chevauchements et bassins compressifs. Influence de l'érosion et de la sédimentation. Modélisation analogique et exemples naturels. 426 p., 141, fig., 4 pl. couleur, 21 tableaux, dont annexes (1995). **270 FF**
- N° 60 - H. BOUHALLIER** - Evolution structurale et métamorphique de la croûte continentale archéenne (Craton de Dharwar, Inde du Sud). 277 p., 100 fig., dont 5 pl. coul., 7 tab., dont annexes (1995). **150 FF**
- N° 61 - P. GAUTIER** - Géométrie crustale et cinématique de l'extension tardi-orogénique dans la domaine centre-égéen îles des Cyclades et d'Eubée, Grèce). 430 p., 89 fig., dont 4 pl. coul., 1 tabl., dont annexes (1995). **220 FF**
- N° 62 - M.T. ROMAN BERDIEL** - Mécanismes d'intrusion des granites supracrustaux. Modèles analogiques et exemples naturels. 270 p., 75 fig., 5 pl. laser, 9 tabl. (1995). **160 FF**
- N° 63 - M. JULLIEN** - Polytypisme, ordre d'empilement et interstratification dans la cookéite et les phyllosilicates non micacés du métamorphisme. Influence de la pression. 226 p., 61 fig., 8 tabl. (1995). **150 FF**
- N° 64 - Y. LAHAYE** - L'altération des komatiites. 224 p., 70 fig., 29 tabl., + annexes (1995). **150 FF**
- N° 65 - A. CRAVE** - Quantification de l'Organisation des réseaux hydrographiques. 210 p., 68 fig., dont annexe (1995). **épuisé**
- N° 66 - A. ESSAIFI** - Relations entre magmatisme-déformation et altération hydrothermale : L'exemple des Jebilet centrales (Hercynien, Maroc). 331 p., 248 fig., 4 tabl., dont annexes (1995). **170 FF**
- N° 67 - M. LE RAVALEC** - Vitesses et perméabilité des roches : modélisation du rôle des fluides et des fissures. 276 p., 119 fig. 3 pl. couleur, 5 tabl., dont annexe (1996). **140 FF**
- N° 68 - A. SEMIANI** - Métallogénie de la zone de cisaillement aurifère est-ouzzalienne : structure, pétrologie et géochimie des gisements d'or de Tirek-Amesmesssa (Hoggar occidentale, Algérie). 262 p., 72 fig., 36 tabl., 4 pl. couleur + annexes, (1996). **130 FF**
- N° 69 - F. MOREAU** - Méthodes de traitement de données géophysiques par transformée en ondelettes. 177 p., 57 fig., + annexes. (1996). **100 FF**
- N° 70 - B. TOURNERIE** - Imagerie de réflecteurs électromagnétiques en régime diffusif : Méthode et applications en Géophysique. 165 p., 45 fig., 8 tabl., + annexes, (1996). **100 FF**

N° 71 - T. NALPAS - Inversion des grabens du Sud de la Mer du Nord. Données de sub-surface et modélisation analogique. 245 p., 110 fig., dont 10 pl. coul., (1996). **120 FF**

N° 72 - M. URREIZTIETA - Tectonique néogène et bassins transpressifs en bordure méridionale de l'Altiplano-Puna (27°S), Nord-Ouest argentin. 311 p., 111 fig., 5 tabl., 6 pl. couleur, dont annexe. (1996). **200 FF**

N° 73 - A.N. KOUAMELAN - Géochronologie et Géochimie des Formations Archéennes et Protérozoïques de la Dorsale de Man en Côte d'Ivoire. Implications pour la Transition Archéen-Protérozoïque. 290 p., 99 fig., 23 tabl., 2 pl. couleur, dont annexe (1996). **FF**

N° 74 - Y. GARCIA - Variation de l'intensité du champ magnétique en France durant les deux derniers millénaires. 331 p., 122 fig., 35 tabl., dont annexe. (1996). **150 FF**

N° 75 - M. A. SANTOS PINTO - Le recyclage de la croûte continentale archéenne : Exemple du bloc du Gavião- Bahia, Brésil. 193 p., 102 fig., 51 tabl. (1996). **100 FF**

N° 76 - D. CHARDON - Les déformations continentales archéennes : Exemples naturels et modélisation hermomécanique. 300 p., 127 fig., 6 tabl., 4 pl. photo; dont annexes. (1997). **130 FF**

N° 77 - C. ROBIN - Mesure stratigraphique de la déformation : Application à l'évolution jurassique du Bassin de Paris. 293 p., 129 fig., 9 pl. couleur, dont annexes. (1997). **180 FF**

N° 78 - D. GRANJEON - Modélisation stratigraphique déterministe : Conception et applications d'un modèle diffusif 3D multilithologique. 197 p., 56 fig., 22 tabl., 8 pl. couleur. (1997). **100 FF**

Hors Série N°1 - P. DAVY, F. GUILLOCHEAU, B. HAMELIN (Coordinateurs) - Géomorphologie : Processus et modélisation. Ecole thématique du CNRS, 146 p., 69 fig., 2 tab., Lumigny, Juillet (1997). **50 FF**

N° 79 - A. JAFFREZIC - Géochimie des éléments métalliques, des nitrates et du carbone organique dissous dans les eaux et les sols hydromorphes. Agriculture intensive et qualité des eaux dans les zones humides en Bretagne. 296 p., 143 fig., 46 tabl., 1 pl. coul., dont annexes (1997). **130 FF**

N° 80 - O. BOUR - Transferts de fluides dans les milieux fracturés : Effets d'échelle. 272 p., 100 fig., 1 tabl., (1997). **100 FF**

N° 81 - E. BONNET - La localisation de la déformation dans les milieux fragile-ductile : Approche expérimentale et application à la lithosphère continentale. 183 p., 85 fig., 4 tabl., (1997). **85 FF**

N° 82 - S. GESSA - Le genre *Nowakia* (Dacryoconarides) dans le Praguien de la République Tchèque : Biométrie, systématique, phylogénie, paléoenvironnements. 256 p., 132, fig., 8 pl., + annexes. (1997). **125 FF**

N° 83 - T. MAUDUIT - Déformation gravitaire synsédimentaire sur une marge passive : modélisation analogique et application au Golfe de Guinée. 260 p., 96 fig., dont 12 pl. coul., (1998). **100 FF**

N° 84 - G. QUEREL - Cristallochimie des éléments traces dans les phases du manteau terrestre : applications de la spectroscopie de luminescence à haute pression et haute température. 241 p., 101 fig., 23 tabl., (1998). **95 FF**

N° 85 - M. DIRAISON - Evolution cénozoïque du Bassin de Magellan et tectonique des Andes australes. 333 p., 119 fig., dont 6 pl. coul., 2 pl. hors-texte, 7 tabl., (1998). **130 FF**

N° 86 - S. BONNET - Tectonique et dynamique du relief : le socle armoricain au Pléistocène. 352 p., 144 fig., dont 7pl. coul., +1 pl. coul. et 3 transparents en annexe, (1998). **115 FF**

N° 87 - F. TOUCHARD - Caractérisation hydrogéologique d'un aquifère en socle fracturé : site de Ploëmeur (Morbihan). 271 p., 103 fig., dont 5 coul., 37 tabl., annexe. (1999). **115 FF**

N°88 - T.V. LE - Stratigraphie sismique et modélisation stratigraphique : application à l'évolution tectonique oligo-miocène du Bassin du Fleuve Rouge (Vietnam). 229 p., 131 fig., dont 16 pl. coul. + annexes (1999). **110 FF**

N° 89 - V. CHAVAGNAC - Behaviour of the Sm-Nd isotopic system during metamorphism : examples from the HT-LP metamorphic terrane of the Limpopo Belt, South Africa and the UHP metamorphic terrane of Dabieshan, Central China. 405 p., 126 fig., 47 tabl. (1999). **150 FF**

N°90 - J. MOLENAT - Rôle de la nappe sur les transferts d'eau de nitrate dans un bassin versant agricole. Etude expérimentale et modélisation. 272 p., 87 fig., 19 tabl., 3 pl. couleur. (1999). **100 FF**

N° 91 - C. RIOU - Géochimie des terres rares et des éléments traces associés dans les nappes et l'eau des sols hydromorphes : Application au traçage hydrologique. 293 p., 74 fig., 17 tabl., + annexes. (1999). **100 FF**

N° 92 - I. COUTAND - Tectonique Cénozoïque du Haut Plateau de la Puna, Nord Ouest Argentin, Andes Centrales. 381 p., 125 fig., 10 tabl., 6 pl. coul., 1 pl. hors-texte + annexes. (1999). **150 FF**

N° 93 - F. DARBOUX - Modélisations numérique et expérimentale du ruissellement. Effet de la rugosité sur les distances de transfert. 170 pages., 56 fig., 4 tabl. (1999). **80 FF**

N° 94 - J.R. De DREUZY - Analyse des propriétés hydrauliques des réseaux de fractures. Discussion des modèles d'écoulement compatibles avec les principales propriétés géométriques. 217 pages, 118 fig., 9 tabl., (2000). **90 FF**

Hors-Série n°2 - G. BADARCH & B.M. JAHN - IGCP-420 Continental Growth in the Phanerozoic : Evidence from Central Asia. Second Workshop. Abstracts and Excursion Guidebook. (Geotraverse through a terrane collage in Southern Khangay). July 25 - August 3, 1999, Ulaanbaatar, Mongolia. 190 pages. (2000). **65FF**

N° 96 - Olivier BOURGEOIS - Processus d'extension lithosphérique en Islande. Interactions avec les calottes glaciaires quaternaires. 280 pages, 95 fig., dont 2 planches couleur, 2 tabl. (2000). **80 FF**

N° 97 - Sidonie REVILLON – Origine et composition du Plateau Océanique Caraïbe. 358 pages, 77 fig., 24 tabl. (2000). **120 FF**

Hors-Série n° 3 - Jean-Pierre BRUN & Marie-Anne OLLIVIER – 150 ans de Géologie à Rennes. 105 p., 13 pl. coul. (2000). **70 FF**

N° 98 – Marc PESSEL – Tomographie électrique : Développements méthodologiques et applications. 129 pages, 59 fig, dont 7 planches couleur, 1 tab. (2001). **75 FF**

POUR PASSER COMMANDE

Collection des MEMOIRES	Collection des CAHIERS TECHNIQUES
S'adresser à : Arlette FALAISE Géosciences Rennes Université de rennes 1 F-35042 Rennes cedex Tel : 02 99 28 60 80 Fax : 02 99 28 26 02 mail : arlette.falaise@univ-rennes1.fr	S'adresser à : Marie-Paule BERTRAND Géosciences Rennes Université de rennes 1 F-35042 Rennes cedex Tel : 02 99 28 14 75 Fax : 02 99 28 61 00 mail : marie-paule.bertrand@univ-rennes1.fr
Votre commande doit être accompagnée, soit : <ul style="list-style-type: none"> - de votre bon de commande - ou bien de votre règlement par chèque à l'ordre de : <i>Agent comptable du CNRS</i> 	

BON DE COMMANDE

NOM	
ORGANISME	
ADRESSE	

Veillez me faire parvenir les ouvrages suivants (cocher la collection concernée):

ÿ dans la collection des Mémoires

ÿ dans la collection des Cahiers techniques

N°	Auteur - Titre	Nombre d'ex	Prix unitaire	Total 1
Frais de port : 20,00 F le volume 5,00 par volume supplémentaire			Total 2	
TOTAL DE LA COMMANDE			Total 1 + Total 2	

**Directeur de la publication :
Gérard Gruau**

Imprimé à l'Université de Rennes 1

Dépôt légal : 2ème trimestre 2001

RESUME

Le laboratoire de Géochimie de l'UMR Géosciences Rennes est équipée d'une électrophorèse capillaire, appareil utilisé classiquement pour la séparation, l'identification et le dosage des molécules organiques. Nous souhaitons élargir cette méthode analytique à la séparation et au dosage des anions et des cations majeurs en solution dans les eaux douces naturelles. Les anions et les cations testés sont Cl^- , SO_4^{2-} , NO_3^- , K^+ , Na^+ , Ca^{2+} , Mg^{2+} , NH_4^+ .

L'ensemble des tests et résultats présentés dans ce mémoire démontre que les électrophorèses capillaires sont des instruments adaptés à ce type de dosage, pour peu que les espèces visées soient présentes à des niveaux de concentrations suffisamment élevées dans les échantillons analysés.

Analyse des anions minéraux. Pour des concentrations que l'on trouve habituellement dans les eaux douces naturelles, la répétabilité obtenue est inférieure à 5%. A titre de comparaison, les résultats publiés dans la littérature pour la technique par électrophorèse capillaire font état de répétabilités comprises entre 3 et 3.5 %. Les limites de détection et de quantification que nous calculons sont identiques voire inférieures à celles rapportées dans la littérature pour les électrophorèses capillaires. Elles sont du même ordre de grandeur que celles obtenues pour les chromatographies ioniques. Cependant, on doit noter que l'erreur sur la mesure augmente considérablement lorsque la quantité à doser s'approche de la limite de quantification, faisant des électrophorèses capillaires des instruments peu adaptées à la mesure des basses concentrations (<5 ppm). Concernant la justesse, les tests effectués sur le standard CRM 617 ont donné des résultats satisfaisants, les concentrations mesurées étant identiques, aux erreurs analytiques près, à celles données par le constructeur.

Analyse des cations minéraux. Il est classiquement reconnu que l'analyse des cations minéraux par électrophorèse capillaire est plus délicate que celles des anions. Les tests de répétabilité présentés dans ce travail confirme ce fait, les écarts types calculés sur les moyennes des répétitions effectuées étant plus élevés pour les cations (3 à 6%) que pour les anions (1 à 2%). En outre, les tests de justesse effectués sur le standard CRM 617 sont moins bons que pour les anions. Seuls le calcium et le magnésium ont livré des concentrations mesurées identiques, aux erreurs près, aux valeurs certifiées du standard. Pour le potassium et le sodium, les concentrations mesurées se sont avérées être plus faibles que les valeurs données par le constructeur - de 10 et 5.8%, respectivement - sans qu'il soit possible d'expliquer la raison de ces écarts. Deux cations (magnésium et potassium) ont livré des limites de quantification particulièrement basses: <0.5 mg.L⁻¹.