

**THESE DE DOCTORAT DE
L'UNIVERSITE PIERRE ET MARIE CURIE**

Spécialité : Physicochimie analytique
Ecole doctorale de Chimie Physique et Chimie Analytique de Paris-Centre
(ED 388)

Présentée par :
Fanny d'Orlyé

Pour obtenir le grade de
DOCTEUR de l'UNIVERSITE PIERRE ET MARIE CURIE

**Caractérisation physicochimique par électrophorèse capillaire de
nanoparticules magnétiques, anioniques et cationiques : distribution de taille,
densité de charge et coefficient de diffusion collectif**

Soutenue le 27 novembre 2008

Devant le jury composé de :

Pr. Valérie CABUIL
Pr. Ute PYELL
Pr. Jérôme RANDON
Dr. Michel MARTIN
Dr. Anne VARENNE
Pr. Pierre GAREIL

Président
Rapporteur
Rapporteur
Examineur
Codirecteur de thèse
Directeur de thèse

Préparée à l'Ecole Nationale Supérieure de Chimie de Paris

Remerciements

Ce travail a été réalisé au Laboratoire d'Electrochimie et Chimie Analytique (UMR 7575 CNRS-ENSCP-Paris 6) dirigé par le Docteur Daniel LINCOT. Je lui suis très reconnaissante de m'avoir ouvert les portes de son laboratoire.

Je tiens tout particulièrement à remercier le Professeur Pierre GAREIL pour m'avoir accueillie au sein de son équipe. Je le remercie pour sa confiance, sa grande disponibilité et son intérêt pour mon travail lors des nombreuses discussions scientifiques que nous avons eues. Ces trois années sous son encadrement m'ont permis de gagner en assurance au travers des différentes responsabilités qu'il a accepté de me confier. Je lui exprime donc toute ma gratitude pour m'avoir impliquée dans l'enseignement de la formation continue, l'encadrement des stagiaires, la rédaction des articles ou encore la présentation orale de mes travaux dans le cadre d'événements scientifiques internationaux.

Le paragraphe suivant est tout naturellement dédié au Docteur Anne Varenne qui m'a co-encadrée au cours de ce travail de thèse. Anne, tu es une passionnée ! Passionnée par les sciences, et tu as su m'en faire profiter, mais également passionnée par les gens ! Merci d'avoir été là dans les moments difficiles ! Merci pour ton attention journalière, ta gentillesse et ton sourire ! En un mot, merci de m'avoir offert ton amitié ! Elle m'est précieuse !

Je tiens à remercier le Professeur Valérie CABUIL pour m'avoir fait l'honneur de présider mon jury de thèse ainsi que le Professeur Ute PYELL et le Professeur Jérôme RANDON pour avoir accepté de juger ce travail et d'en être les rapporteurs auprès de l'université Paris 6. Je remercie également le Docteur Michel MARTIN pour avoir fait partie de mon jury de thèse en tant qu'examinateur, mais également pour les discussions scientifiques qui ont suivi la soutenance. Merci à tous pour l'intérêt que vous avez porté à ce manuscrit et pour le temps que vous y avez consacré.

Cette thèse s'est inscrite dans le cadre d'une collaboration entre le LECA de l'ESPCI, le LI2C de l'UPMC et le LECA de l'ENSCP. Aujourd'hui, au 1^{er} janvier 2009, ces trois unités ne font plus qu'une, réunies sous le nom de PECSA. A croire que cette collaboration a été fructueuse !... Sans distinction, merci donc à Delphine pour son aide dans la synthèse des ferrofluides, à Thomas et Jean-Michel pour la synthèse des particules cœur/coquilles, à Bruno pour avoir affronté avec moi le dosage à la ninhydrine, à Stéphanie pour ses idées et son dynamisme à toute épreuve, à Jérôme pour m'avoir permis de mieux appréhender les méthodes d'analyse statistique, et à tant d'autres pour les nombreuses discussions sur la physico-chimie des colloïdes...

un grand merci à l'ensemble des personnels de l'ENSCP avec qui j'ai eu de très bons rapports. Je citerai en particulier toute l'équipe du magasin pour sa disponibilité et sa gentillesse, Bruno pour nos nombreuses discussions d'ordre éthique, politique ou musical, Ali, l'homme aux clés, qui est venu me libérer des murs de l'école un de mes fameux dimanches en solitaire au laboratoire, ... Je voudrais également exprimer toute ma reconnaissance à Sébastiana et Fabienne qui m'ont accueillie dans leur service de TP alors que le laboratoire était en travaux. Comment oublier vos « gâteaux maison » les filles !

Au sein du laboratoire, je voudrais remercier l'ensemble du personnel pour son accueil et son soutien au quotidien, et plus particulièrement les « gens du sous-sol ». Je voudrais également rendre un hommage tout particulier aux doctorants et stagiaires qui ont marqué de leur présence ces trois années passées au laboratoire. Une spéciale dédicace à Yannis, mon grand frère du labo, pour ses conseils des débuts, pas toujours d'ordre scientifique ! Vieille canaille ! J'ai eu beaucoup de plaisirs et de surprises, parfois, à retrouver un coin de Tchéquie en partageant mon bureau avec toi Marek, le tchèque aux mille patries ! Je n'oublierai jamais l'ambiance au labo du temps de l'équipe des « déglingos », les « after work » et les after « after work » !... En tête, Jean, autrement connu sous le nom de la « Roussette marseillaise », suivi de sa garde rapprochée : Laurent, le papy karatéka, Gab, le « funky man », et Max, l'homme des sports extrêmes ! J'ai également une pensée toute particulière pour Audrey et Virginie, « les pipelettes », qui ont suivi avec moi une formation de déménageur en plus de celle de petit chimiste. Merci les filles, pour avoir

mis le labo en cartons ! J'aurais également un petit mot pour la discrète Marie, notre « petite dernière » au labo, qui a découvert la vie de [♫]doctorant en thèse de chimie [♫], avec ses hauts et ses bas ! Le doute, Marie, c'est aussi ce qui fait avancer ; l'essentiel, c'est de ne jamais perdre confiance ! Je terminerai par celle avec qui j'ai commencé cette aventure, Meriem, notre « tunisienne nationale » ! On a vraiment tout partagé pendant ces trois années et les soirées au labo auraient paru vraiment longues sans ta joie de vivre et le récit de tes histoires de cœur ! Je garderai toujours le souvenir de notre virée en Sicile. Prochain épisode : le mariage à Tunis !...

Avant de passer à la famille et aux amis, je tiens à remercier tout particulièrement Catherine DUFFAU, mon professeur de chimie en classe de mathématique spéciale au Lycée Lavoisier, pour qui j'ai une grande admiration. Merci de m'avoir communiqué votre passion et votre enthousiasme pour la chimie et l'enseignement.

Une page de remerciements ne serait pas complète sans les remerciements à la famille. Evidemment je remercie mes parents pour tout ce qu'ils ont fait pour moi, pour avoir été présents dans les moments de joie, comme dans les moments de doute. J'ai également une pensée toute particulière pour mes grands-parents qui, bien que disparus pour certains, ne m'ont jamais quittée. J'espère qu'ils sont fiers de moi aujourd'hui !

Reste maintenant à remercier les copains de Paris, Montpellier et d'ailleurs...Merci d'avoir supporté mes stress quotidiens de thésard « egocentro maniaco dépressif » !...Finalement, trois ans c'est pas si long !

Pour finir cette page, je n'ai plus qu'à remercier l'homme qui partage ma vie...pour le meilleur et pour le pire ! C'est dans le creux de ton épaule que je puise la force dont j'ai besoin ! Merci d'être toujours là pour moi !

Table des matières

Introduction Générale.....	11
-----------------------------------	-----------

Chapitre I. Revue bibliographique

Symboles et abréviations.....	15
I.1. Généralités	19
I.1.1. Nanoparticules et suspensions colloïdales.....	19
I.1.1.1. Qu'est ce qu'une nanoparticule ?.....	19
I.1.1.2. Le domaine colloïdal	19
I.1.2. Les ferrofluides.....	20
I.1.2.1. Un exemple de suspension colloïdale.....	21
I.1.2.2. Synthèse.....	21
I.1.2.3. Caractérisation.....	22
I.2. Physico-chimie des colloïdes chargés en solution.....	24
I.2.1. Double couche et interface chargée.....	24
I.2.1.1. Origine de la charge de surface.....	24
I.2.1.1.1. Ionisation de groupement de surface.....	24
I.2.1.1.2. Dissolution différentielle d'ions en surface de cristaux partiellement solubles.....	24
I.2.1.1.3. Substitution isomorphe.....	25
I.2.1.1.4. Surfaces cristallines chargées.....	25
I.2.1.1.5. Absorption spécifique d'ions.....	25
I.2.1.2. Description de l'interface surface plane chargée/solution électrolytique	26
I.2.1.2.1. La double couche électrique.....	26
I.2.1.2.2. La longueur de Debye.....	28
I.2.1.2.3. Le potentiel-zêta.....	28
I.2.1.2.4. Potentiel électrique et densité de charge de surface.....	29
I.2.1.3. Description de l'interface particule sphérique chargée/solution électrolytique	32
I.2.2. Théorie DLVO (Derjaguin, Landau, Verwey et Overbeek).....	33
I.2.2.1. Forces électrostatiques.....	34
I.2.2.2. Forces de Van der Waals.....	34
I.2.2.3. Energie potentielle totale d'interaction	35
I.3. Electrophorèse d'une particule colloïdale chargée en milieu libre.....	37
I.3.1. Bilan des forces.....	37
I.3.2. Solutions des équations de transport	38
I.3.2.1. Le modèle de Henry.....	39
I.3.2.2. Solutions tenant compte de l'effet de relaxation	40
I.4. Caractérisation et séparation de nanoparticules en électrophorèse capillaire.....	43

I.4.1. Particules organiques.....	43
I.4.1.1. Particules de latex de polystyrène et autres particules polymères	43
I.4.1.1.1. Séparation et caractérisation en électrophorèse capillaire.....	43
I.4.1.1.2. Les effets dispersifs.....	48
I.4.1.1.3. Influence des paramètres instrumentaux	51
I.4.1.1.4. Influence de l'électrolyte de séparation.....	54
I.4.1.1.5. CZE vs LDV : deux techniques complémentaires ?.....	57
I.4.1.1.6. Modes de détection et détection de particules individuelles	58
I.4.1.2. Les fullerènes.....	61
I.4.1.3. Les nanotubes de carbone.....	64
I.4.2. Particules inorganiques.....	67
I.4.2.1. Les particules d'oxydes	67
I.4.2.1.1. Séparation et caractérisation en électrophorèse capillaire.....	68
I.4.2.1.2. Influence des paramètres instrumentaux	72
I.4.2.1.3. Influence de l'électrolyte de séparation.....	75
I.4.2.1.4. CZE vs LDV : deux techniques complémentaires ?.....	83
I.4.2.2. Les Particules métalliques.....	83
I.4.2.3. Les semi-conducteurs (quantum dots).....	88
I.5. L'utilisation des NPs en électrochromatographie capillaire (CEC) et chromatographie électrocinétique capillaire (EKC).....	91
I.5.1. Les NPs comme pseudo-phase stationnaire dans l'électrolyte de séparation.....	91
I.5.2. Les NPs comme phase stationnaire à la surface des capillaires.....	92
I.5.3. Les NPs incorporées dans des monolithes.....	92
I.6. Références bibliographiques.....	99

Chapitre II. Comportement électrophorétique de nanoparticules anioniques et cationiques

Symboles et abréviations.....	111
II.1. Introduction.....	113
II.2. Caractérisation de particules anioniques.....	115
II.2.1. Présentation des échantillons.....	115
II.2.2. Influence de l'amplitude du champ électrique appliqué.....	117
II.2.3. Fraction volumique en particules dans l'échantillon.....	118
II.2.4. Influence de l'électrolyte de séparation.....	120
II.2.4.1. La force ionique.....	120
II.2.4.2. La composition.....	122
II.2.4.2.1. Concentration et nature du contre-ion.....	122
II.2.4.2.2. Concentration et nature du co-ion.....	124

II.2.4.3. Le pH.....	126
II.3. Article 1: Size-based characterization of nanometric cationic maghemite particles using capillary zone electrophoresis.....	128
II.4. Conclusion.....	151
II.5. Références bibliographiques	152

Chapitre III. Caractérisation en charge de nanoparticules cœur/coquille bifonctionnalisées de taille homogène

Symboles et abréviations.....	155
III.1. Introduction.....	157
III.2. Article 2: Charged-based characterization of nanometric cationic bifunctional maghemite/silica core/shell particles by capillary zone electrophoresis.....	159
III.3. Conclusion.....	185
III.4. Références bibliographiques	186

Chapitre IV. Développement d'un nouveau protocole de mesure mettant en jeu l'électrophorèse capillaire pour la détermination du coefficient de diffusion collectif de nanoparticules

Symboles et abréviations.....	187
IV.1. Introduction.....	189
IV.2. Article 3: Determination of nanoparticle diffusion coefficients by Taylor dispersion analysis using a capillary electrophoresis instrument.....	191
IV.3. Conclusion.....	210
IV.4. Références bibliographiques	211

Conclusion Générale	213
----------------------------------	------------

Introduction générale

Les nanotechnologies ouvrent aujourd'hui de nouvelles perspectives dans de nombreux domaines, de la médecine (analyses médicales, vectorisation de médicaments, prothèses) à l'environnement (épuration de l'eau, pots catalytiques, capteurs), via l'optique (éclairage, imagerie) et l'électronique (stockage de l'information). Mais à l'heure où les nanotechnologies s'apprêtent à envahir notre quotidien, les débats d'ordre éthique se multiplient. En ce qui concerne l'emploi de nanoparticules (NPs), la première question à laquelle nous devons donc répondre concerne leurs risques pour l'homme ou l'environnement. Avant d'avoir le recul nécessaire pour évaluer les risques écotoxicologiques, il nous appartient donc de mieux les caractériser afin d'appréhender l'ensemble de leurs propriétés physico-chimiques.

Parmi les techniques les plus couramment utilisées, la microscopie électronique en transmission (TEM) fournit des informations sur la distribution de taille et la forme des particules solides. Dans le cas de particules magnétiques, l'ajustement des courbes d'aimantation expérimentales par une fonction de Langevin permet d'estimer la capacité d'aimantation des particules, mais également leur distribution de taille. La diffusion dynamique de la lumière (DLS) permet la mesure des rayons hydrodynamiques, via la détermination de leur coefficient de diffusion, dans des conditions d'électrolyte données. Une mesure de la mobilité électrophorétique des particules peut être réalisée par microélectrophorèse ou vélocimétrie laser Doppler (LDV). Cette donnée peut ensuite être utilisée pour le calcul du potentiel- ζ des particules, indicateur de la stabilité colloïdale des dispersions. Néanmoins, le choix de l'expression analytique reliant les deux grandeurs reste conditionné par les domaines de potentiel- ζ et de ka explorés, a étant assimilé au rayon solide de la particule et κ étant l'inverse de la longueur Debye.

Dans ce contexte, l'application de l'électrophorèse capillaire (CE) à la caractérisation de nanoparticules s'est développée au cours des vingt dernières années. La sélectivité de cette technique séparative permet la caractérisation simultanée de populations de particules différant par leur taille, charge et/ou nature chimique (organiques ou inorganiques¹) au sein de mélanges, mais également la détection d'impuretés présentes dans la solution de dispersion. A ce jour, les études présentées dans la littérature restent globalement limitées à la caractérisation de particules anioniques sur des critères de taille.

Dans le cadre de cette thèse, nous nous sommes donc intéressés au développement de méthodes pour la caractérisation et la séparation de populations de nanoparticules magnétiques par CE, en vue de leur utilisation dans le contexte d'un microsystème dédié à l'immunodiagnostic en phase liquide. En particulier, nous nous sommes attachés à étendre le champ des applications de l'électrophorèse capillaire à la caractérisation de particules de charge positive, car peu décrite dans la littérature, probablement en raison de difficultés expérimentales. Cette thèse s'articule autour de quatre chapitres :

Un premier chapitre exposera les bases théoriques utilisées par la suite dans les chapitres expérimentaux. Seront rappelés les notions de double couche et de stabilité colloïdale ainsi que des éléments de compréhension sur les phénomènes de transport électrocinétiques de particules chargées en milieu libre. La fin de ce chapitre présentera des exemples d'application de l'EC à la caractérisation et la séparation de NPs, selon leur nature chimique, ainsi que leur mise en œuvre en électrochromatographie capillaire (CEC) et chromatographie électrocinétique capillaire (EKC) pour la séparation de mélanges complexes.

Le deuxième chapitre s'intéressera à l'étude du comportement électrophorétique en milieu libre de particules anioniques et cationiques. L'influence des différents paramètres inhérents au choix de l'électrolyte de séparation, dont la force ionique, la nature et la concentration des co-ions et contre-ions ainsi que le pH, sur la mobilité et la dispersion électrophorétique des particules sera évaluée. L'accent sera notamment porté sur l'optimisation des conditions permettant une caractérisation simple et précise de particules de charge de surface positive. Enfin, une approche plus fondamentale sera proposée, à la lumière des théories d'Overbeek-Booth, afin d'expliquer les séparations observées pour des populations de particules, homogènes de par leur nature chimique et leur charge de surface (cationique), mais dont les diamètres moyens (< 10 nm) diffèrent d'environ 2 nm.

Un troisième chapitre traitera de la caractérisation en charge de populations de particules cœur/coquille bifonctionnalisées amino-PEG de taille homogène (~ 40 nm). L'influence des conditions expérimentales, telles que l'amplitude du champ électrique, la quantité de particules injectée, la force ionique et le pH de l'électrolyte de séparation, sur la mobilité électrophorétique des particules et les performances séparatives sera évaluée. Nous nous intéresserons tout particulièrement à comprendre le lien qui existe entre les mesures de mobilité électrophorétique réalisées en CE et le taux de greffage des particules par les

groupements amines, déterminé indépendamment par un test colorimétrique. Dans ce contexte un modèle à deux pK_a tenant compte de l'ionisation des groupements amines greffés, mais également des groupements silanol résiduels, sera évalué afin de modéliser l'évolution de la mobilité des particules en fonction du pH.

La quatrième partie présentera le développement d'un protocole de mesure du coefficient de diffusion collectif de nanoparticules, fondé sur l'analyse de la dispersion de Taylor. L'influence des différents paramètres instrumentaux (dimensions du capillaire, pression imposée) sur l'analyse de la dispersion de Taylor, lors de sa mise en œuvre à l'aide d'un appareil d'électrophorèse capillaire, sera évaluée. La détermination des coefficients de diffusion collectifs moyens de populations de particules de maghémite, homogènes de par leur nature chimique et leur charge de surface (cationique), mais dont les diamètres moyens (< 10 nm) diffèrent d'environ 2 nm, sera ensuite étudiée. A titre de comparaison, une détermination indépendante des coefficients de diffusion des particules sera réalisée par DLS. Enfin, les effets de la fraction volumique en particules solides et de la force ionique de la solution de dispersion sur la détermination des coefficients de diffusion seront évalués et discutés en termes d'interactions inter-particulaires.

Symboles et abréviations Chapitre I. Revue bibliographique
--

a : distance du centre de la particule sphérique au plan de cisaillement assimilé au PEH
 a_0 : rayon solide d'une particule sphérique, m
 A : constante de Hamaker, J
ACES : acide N-[2-acétamido]-2-aminoéthane sulfonique acid
AFM: microscopie à force atomique
Ag NPs : nanoparticules d'argent
Au NPs : nanoparticules d'or
 c : concentration molaire, mol.L⁻¹
 c_i^∞ : concentration molaire de l'ion i au cœur de la solution électrolytique, mol.m⁻³
CAPS : acide 3-(Cyclohexylamino)-1-propanesulfonique
CCD : détecteur conductimétrique sans contact à couplage capacitif
CD: cyclodextrine
CE : électrophorèse capillaire
CF : carboxyfullerène
CFF: remplissage en continu
CNTPs : sondes à base de nanotubes de carbone
CNTs : nanotubes de carbone
CTABr : bromure d'hexadécyltriméthylammonium
CZE : électrophorèse capillaire de zone
 d : épaisseur de la couche de Stern, *i.e.* distance de la surface chargée au PEH, m
 D : distance interparticulaire de surface à surface (DLVO), m ou coefficient de diffusion
DF: dendrofullerène
DLS : diffusion dynamique de la lumière
DLVO : Derjaguin, Landau, Verwey et Overbeek
 e : charge élémentaire, C
 E^∞ : champ électrique externe uniforme, V
EDTA: acide éthylène diamine tétraacétique
EKC : chromatographie électrocinétique capillaire
EOF: écoulement électroosmotique
 F_E : force électrique, N
 F_H : force de friction hydrodynamique, N

F_R : force de ralentissement par friction (retard électrophorétique), N
 F_{RE} : force de retardement électrique (effet de relaxation), N
 g : accélération de la pesanteur, m/s^2
HPC: hydroxypropylcellulose
HPMC : hydroxypropylméthylcellulose
 I : force ionique de la solution électrolytique, $mol.L^{-1}$
IC: chromatographie ionique
 k_B : constante de Boltzmann, J/K
LDV: vélocimétrie laser Doppler
LIF : détecteur à fluorescence induite par laser
LLD : détecteur à diffusion de la lumière laser
LPS: latex de polystyrène
 m_- : coefficient de friction ionique adimensionnel de l'anion
 m_+ : coefficient de friction ionique adimensionnel du cation
MEKC : chromatographie électrocinétique micellaire capillaire
MS: spectrométrie de masse
MWNTs : nanotubes de carbone multi-parois
 N_A : nombre d'Avogadro, mol^{-1}
 n_i^∞ : nombre d'ion i au cœur de la solution électrolytique, m^{-3}
NPs : nanoparticules
PAA : polyacrylamide
PAH : hydrocarbures aromatiques polycycliques
PB : polybrène
PCS : spectroscopie par corrélation de photon
PEH : plan externe de Helmholtz
PEO : poly(éthylèneoxyde)
PF: remplissage partiel
PIH : plan interne de Helmholtz plan de Stern, m
PS: polystyrène
PSC : polystyrène carboxylé
PSP: phase pseudo stationnaire
PSS: polystyrène sulfaté
PVA: alcool polyvinylique
PVP : polyvinylpyrrolidone

PZC: point de charge nulle

Q : charge d'une particule, C

QDs : quantum dots

QELS: diffusion quasi-elastique de la lumière

r : coordonnée radiale, m

R : distance depuis le plan de Stern en coordonnées radiales, m ou distance interparticulaire de centre à centre (DLVO)

REPSM : préconcentration par amplification de champ électrique après injection hydrodynamique d'un large volume d'échantillon

SDS : dodécyl sulfate de sodium

SERS : diffusion Raman exaltée de surface

SWNTs : nanotubes de carbone simple-paroi

t : temps, s

t_d : temps nécessaire pour que la particule parcourt une distance égale à son rayon sous l'effet de l'agitation thermique, s

t_s : temps caractéristique de sédimentation sur une distance de la taille du rayon particulaire, s

T : température absolue, K

TBE : tampon TRIS-borate-EDTA buffer

TEM : microscopie électronique en transmission

TMAOH : hydroxyde de tétraméthylammonium

TRIS : tris(hydroxyméthyl)amine

TTAB : bromure de tétradécyltriméthylammonium

U : vitesse de migration électrophorétique d'une particule, m/s

V_A : énergie potentielle d'attraction, J

V_R : énergie potentielle de répulsion, J

V_T : énergie potentielle totale d'interaction, J

W_p : minimum d'énergie primaire, J

W_s : minimum d'énergie secondaire, J

x : coordonnée axiale, m

x_i : distance de la surface chargée au PIH en coordonnées axiales, m

z : valence

z_i : valence de l'ion i

Symboles grecs

- ε : permittivité diélectrique du milieu, C/(V.m)
 ε_0 : permittivité du vide, C/(V.m)
 ε_r : constante diélectrique du milieu
 ζ : potentiel-zêta, V
 η : viscosité du milieu, Pa.s
 κ : inverse de la longueur Debye, m⁻¹
 λ_- : coefficient de friction ionique de l'anion, C²/(S.m²)
 λ_+ : coefficient de friction ionique du cation, C²/(S.m²)
 Λ_-^0 : conductivité molaire limite de l'anion, S.m²/mol
 Λ_+^0 : conductivité molaire limite du cation, S.m²/mol
 μ_{ep} : mobilité électrophorétique d'une particule, m²/(V.s)
 ρ : densité volumique de charge, C/m³ ou masse volumique kg/m³
 $\Delta\rho$: différence de masse volumique, kg.m⁻³
 σ : densité surfacique de charge, C/m² ou variance spatiale, m
 σ_d : densité surfacique de charge au PEH, C/m²
 σ_i : densité surfacique de charge au PIH, C/m²
 $\Psi(r, x)$: potentiel dans la double couche électrique, V
 Ψ_d : potentiel de Stern, *i.e.* potentiel au PEH, V

Chapitre I. Revue bibliographique

I.1. Généralités

I.1.1. Nanoparticules et suspensions colloïdales

I.1.1.1. Qu'est ce qu'une nanoparticule ? [1]

Il n'existe pas de définition internationale normative de ce qu'est une nanoparticule, mais un extrait du nouveau document PAS71 (Royaume-Uni) mentionne : « une nanoparticule est un corps ayant une dimension de l'ordre de 100 nm ou moins ».

Une remarque est associée à cette définition : « Propriétés uniques qui différencient les nanoparticules des matériaux d'origine, typiquement développées à une échelle critique de 100 nm ». Les « nouvelles propriétés » mentionnées sont donc entièrement dépendantes du fait qu'à l'échelle des nanoparticules, les propriétés physico-chimiques de celles-ci sont différentes des propriétés du solide macroscopique, en partie dû à leur rapport surface/volume élevé ainsi qu'à des effets quantiques de taille.

Dans le cas de particules non sphériques, comme par exemple des nanotubes de carbone, cette définition a été élargie et s'applique à des matériaux dont au moins l'une des dimensions présente une échelle inférieure à 100 nm.

I.1.1.2. Le domaine colloïdal [2-4]

Une dispersion (ou suspension) colloïdale est définie comme un système multiphasique (à l'échelle microscopique), dans lequel une phase discrète (ou phase dispersée) est dispersée dans un milieu continu (ou dispersant), de constitution différente, sans être dissous par lui. Le caractère « discret » de la phase dispersée implique une restriction sur la taille des particules considérées. Par comparaison aux molécules du solvant, celles-ci doivent être d'un ordre de grandeur supérieur. Autrement dit, la limite de taille inférieure pour les particules de la phase dispersée est de l'ordre du nanomètre.

La limite de taille supérieure est elle conditionnée par la notion de stabilité colloïdale. Une dispersion colloïdale peut être considérée comme stable lorsqu'aucune séparation de phase rapide (à l'échelle macroscopique) ne se produit par sédimentation ou par crémage. La taille critique d'une particule colloïdale dépend donc des caractéristiques physiques des constituants du système (viscosité du solvant, différences de densité entre la phase dispersée et le milieu continu, ...). Cette taille peut se calculer simplement en comparant t_s , le temps caractéristique de sédimentation sur une distance de la taille du rayon de la particule, et t_d , le temps nécessaire pour que cette particule parcoure la même distance sous l'effet de l'agitation thermique. Dans ces conditions, la limite de taille supérieure définissant le domaine colloïdal est obtenue pour $t_d = t_s$ et nous est donnée par la relation (I.1) :

$$a_{\max} = \left(\frac{3k_B T}{4\pi\Delta\rho g} \right)^{\frac{1}{4}} \quad (\text{I.1})$$

où $a_{\max}$ est le rayon limite de la particule, k_B la constante de Boltzmann (en J/K), T la température (en K), $\Delta\rho$ la différence de masse volumique entre les deux phases (en kg/m^3), et g l'accélération de la pesanteur (en m/s^2).

Ainsi, des particules colloïdales sont maintenues en suspension par le mouvement Brownien. Cette agitation permet des collisions entre les particules qui présenteront différentes propensions à l'agrégation, suivant la nature des interactions de surface (à l'échelle nanoscopique). La description de ces phénomènes d'agrégation sera développée dans la suite de cette étude (§ II.2), à la lumière de la théorie de Derjaguin, Landau, Verwey et Overbeek (DLVO).

I.1.2. Les ferrofluides

Les ferrofluides sont des suspensions colloïdales constituées de nanoparticules magnétiques dispersées dans un solvant non magnétique, aqueux ou organique. Les nanoparticules magnétiques considérées sont le plus souvent des oxydes mixtes de fer(III) et d'un autre métal de transition divalent M (Fe, Co, Ni, Mn, Zn) sous la forme générale Fe_2MO_4 . Dans le cadre de notre étude, nous nous limiterons au cas de dispersions aqueuses de particules de maghémite $\gamma\text{-Fe}_2\text{O}_3$.

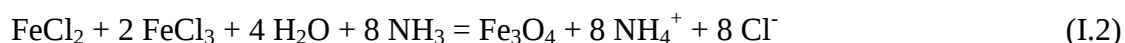
I.1.2.1. Un exemple de suspension colloïdale [5]

La taille des particules de maghémite de l'ordre de la dizaine de nanomètre retarde la sédimentation ($\rho_{\text{particule}} \sim 5 \text{ g/cm}^3$ et $t_d \ll t_s$) mais il est indispensable d'introduire des répulsions électrostatiques entre les particules afin d'éviter l'aggrégation irréversible sous l'effet des attractions de Van der Waals. Les répulsions sont contrôlées par le nombre de charges portées par les particules et peuvent être dues à l'ionisation ou la dissociation de groupes de surface, ou encore résulter de l'adsorption d'ions à la surface des particules. Dans le cas des particules d'oxyde de fer, la charge est inhérente soit à des réactions de type acido-basique à la surface de la particule, soit à l'adsorption d'espèces elles mêmes chargées (comme des ions citrate). Cette charge sera donc fonction de la concentration en ions H^+ libres lorsque la charge est contrôlée par le pH ou de la concentration d'espèces adsorbantes lorsque la charge est contrôlée par un phénomène d'adsorption.

I.1.2.2. Synthèse [6]

La maghémite $\gamma\text{-Fe}_2\text{O}_3$ est un oxyde de fer de structure spinelle inverse lacunaire qui peut être synthétisé par voie douce lors d'une polycondensation alcaline suivant le protocole décrit par R. Massart en 1980 [7].

La première étape consiste à synthétiser la magnétite Fe_3O_4 à partir de chlorures de fer (II) et (III) dans une solution d'ammoniaque molaire :



Les particules obtenues sont alors anioniques. On ajoute de l'acide nitrique (HNO_3), pour oxyder partiellement les particules et inverser leur charge de surface. Les particules désormais chargées positivement sont ensuite totalement oxydées en maghémite par ajout d'une solution de nitrate de fer (III). On obtient ainsi une suspension stable de particules cationiques avec les ions nitrate comme contre-ions en milieu acide. Par la suite, on se réfèrera à ce système par la dénomination de ferrofluide acide.

Par ajout d'hydroxyde de tétraméthylammonium, noté TMAOH, suivi de lavages à l'acétone pour éliminer les ions nitrate, on obtient des particules anioniques, stables en milieu basique,

dont les contre-ions sont les TMA^+ ajoutés. Ce système sera appelé par la suite ferrofluide basique.

Enfin, la surface des particules de maghémite peut également être modifiée par l'adsorption d'ions citrate. Dans la littérature, il est fait mention de complexes de coordination 1 : 1 et 1 : 2 de sorte que l'excédent de charges négatives contribue à assurer la stabilité de la suspension colloïdale [8]. E. Dubois a construit l'isotherme d'adsorption des citrates à la surface des particules de maghémite [9]. On constate qu'il existe un équilibre entre le citrate adsorbé et le citrate en solution mais que l'isotherme présente une saturation à 2 charges par nanomètre carré pour des concentrations en citrate supérieures à $2 \cdot 10^{-3}$ mol/L. En outre, il est intéressant de noter que ce phénomène ne dépend ni de la taille, ni de la fraction volumique en particules. Ce système sera appelé par la suite ferrofluide citraté.

I.1.2.3. Caractérisation [10]

Comme nous l'avons évoqué précédemment, les propriétés magnétiques des nanoparticules dépendent de leur structure physique : taille, forme, mais également microstructure et phase chimique. Pour ce qui est de leur comportement biologique (en vue d'applications), il dépend également fortement de leur taille et de leur forme ainsi que de leur polydispersité, et de la nature des groupements fonctionnels à leur surface. Plusieurs techniques sont utilisées couramment pour la détermination de ces différents paramètres.

Dans le cas de particules magnétiques, la mesure de l'aimantation d'une suspension colloïdale en fonction de l'intensité du champ magnétique appliqué permet non seulement de déterminer les propriétés magnétiques des particules, mais renseigne également sur leur distribution en taille (rayon solide et polydispersité). Cette méthode repose sur l'ajustement numérique de la loi de Langevin à la courbe d'aimantation expérimentale et permet d'accéder à une valeur moyenne en nombre du rayon solide des particules [6].

Plus classiquement, le rayon solide d'une particule peut être déterminé par imagerie, en microscopie électronique en transmission (TEM) [11, 12]. Cette technique donne accès à une valeur moyenne en nombre du rayon solide. En outre, elle fournit des détails concernant la distribution en taille et la forme des particules ainsi que leur état d'agrégation. Néanmoins, cette technique requière une analyse par traitement de l'image et doit donc être menée sur un nombre significatif de particules (d'un point de vue statistique). De plus, la préparation de

l'échantillon peut induire une agrégation des particules, de sorte que les mesures réalisées peuvent ne pas refléter la taille et la distribution des particules en solution [13, 14].

La spectroscopie par corrélation de photon (PCS), également appelée diffusion dynamique de la lumière (DLS) ou diffusion quasi-élastique de la lumière (QELS) est une technique couramment utilisée pour obtenir la taille de particules colloïdales. Le rayon hydrodynamique de particules sphériques peut être déterminé via la mesure de leur coefficient de diffusion. En outre cette technique permet d'accéder à la distribution en taille et donc d'estimer la polydispersité des particules en suspension [15]. Le résultat de cette mesure est une valeur moyenne en intensité. Le passage à une valeur moyenne pondérée par le nombre ou le volume des particules en suspension nécessite la connaissance de leur indice de réfraction complexe, rarement accessible. De ce fait, cette technique aura l'inconvénient d'être plus sensible à la présence des grosses particules au sein d'une population polydisperse.

Dans le cas de la vélocimétrie laser par décalage Doppler (LDV) [16], des particules mises en mouvement sous l'action d'un champ électrique extérieur E (alternatif) sont à l'origine d'une onde lumineuse diffusée, décalée en fréquence par rapport à la lumière d'une source laser incidente (effet Doppler). À partir de ce décalage en fréquence, il est possible de calculer la vitesse des particules en suspension et ainsi d'accéder à une distribution de mobilités électrophorétiques (μ_{ep}).

Enfin, l'utilisation de l'électrophorèse capillaire (CE) s'est étendue à la caractérisation de nanoparticules au cours des vingt dernières années [17-19]. Cette méthode repose sur une mesure directe de la mobilité électrophorétique pour des particules mises en mouvement sous l'action d'un champ électrique extérieur E (continu), au sein d'une veine capillaire en silice vierge, et permet d'obtenir des informations sur la taille et la charge des particules. À ce jour, la plupart des études en CE se sont intéressées à la caractérisation de nanoparticules chargées négativement, sur la base de leur différence de taille. En outre, la sélectivité de cette technique séparative a permis la caractérisation simultanée de mélanges de différentes populations de particules ainsi que la détection d'impuretés présentes dans la solution de dispersion.

I.2. Physico-chimie des colloïdes chargés en solution

I.2.1. Double couche et interface chargée

I.2.1.1. Origine de la charge de surface [2]

La stabilité des dispersions colloïdales est très sensible à la charge de surface des particules et à l'addition de sels. La plupart des substances acquièrent une charge de surface quand elles sont mises en contact avec un milieu aqueux [20, 21]. Une surface peut se charger électriquement suivant une variété de mécanismes. Nous nous intéresserons à certains de ces mécanismes, parmi les plus importants [20, 22, 23].

I.2.1.1.1. Ionisation de groupement de surface

Si la surface présente des groupements de nature acido-basique, leur dissociation peut donner lieu à une charge de surface positive ou négative. Dans les deux cas, les groupements de surface sont sensibles au pH de la solution. La charge de surface peut ainsi être réduite à zéro au point de charge nulle (PZC), par suppression de l'ionisation de surface, lors d'une diminution du pH dans le cas d'une surface basique. La plupart des oxydes métalliques peuvent avoir une charge de surface positive ou négative en fonction du pH de la solution électrolytique.

I.2.1.1.2. Dissolution différentielle d'ions en surface de cristaux partiellement solubles

Par exemple, lorsqu'un cristal d'iodure d'argent (AgI) est placé dans l'eau, une dissolution se produit jusqu'à ce que le produit des concentrations ioniques soit égal au produit de solubilité $[\text{Ag}^+][\text{I}^-] = 10^{-16} \text{ (mol/L)}^2$. Si une quantité égale d'ions Ag^+ et I^- est dissoute, alors $[\text{Ag}^+] = [\text{I}^-] = 10^{-8} \text{ (mol/L)}$ et la surface reste non chargée. Néanmoins, l'existence d'une dissolution préférentielle des ions Ag^+ est à l'origine d'une charge de surface négative. Si des ions Ag^+ sont maintenant ajoutés en solution, sous la forme de nitrate

d'argent (AgNO_3) par exemple, dans certaines conditions de concentration la dissolution préférentielle des ions Ag^+ est supprimée et la charge de surface du cristal tombe à zéro. L'addition supplémentaire d'ions Ag^+ conduit à une charge de surface positive puisque ce sont désormais les ions iodure qui se dissolvent préférentiellement.

I.2.1.1.3. Substitution isomorphe

Dans le cas des argiles, un cation intercalé ou structural peut être échangé avec un cation de plus faible valence. Il en résulte une charge de surface négative. Par exemple, un ion Al^{3+} peut remplacer un ion Si^{4+} à la surface de l'argile, produisant une charge de surface négative. Dans ce cas, un point de charge nulle peut être atteint par réduction du pH. Ici, les ions H^+ ajoutés se combinent avec les charges négatives de surface pour former des groupements OH.

I.2.1.1.4. Surfaces cristallines chargées

Lorsqu'un cristal est cassé, il peut arriver que des surfaces présentant des propriétés différentes soient mises à jour. Ainsi, dans le cas de certaines argiles (par exemple la kaolinite), lorsqu'une tablette est brisée, la nouvelle tranche exposée présente des groupements $\text{Al}(\text{OH})_3$ qui incorporent les ions H^+ et lui confèrent une charge positive. Cette charge de surface positive, au niveau de la tranche, peut coexister avec la charge de surface négative développée au niveau des surfaces latérales, et se trouve à l'origine de propriétés particulières. Dans ce cas, il n'y aura pas un unique PZC, mais chaque type de surface aura son PZC caractéristique propre. Pour la kaolinite, les surfaces latérales sont chargées négativement et les tranches positivement aux faibles valeurs de pH. Aux pH élevés, la charge positive sur les tranches décroît.

I.2.1.1.5. Adsorption spécifique d'ions

Des tensioactifs ioniques peuvent s'adsorber spécifiquement sur des surfaces. Des tensioactifs cationiques peuvent s'adsorber à des surfaces chargées négativement conduisant à

une charge de surface positive, tandis que des tensioactifs anioniques peuvent masquer la charge positive de surface en s'adsorbant par-dessus. Les tensioactifs jouent un rôle majeur dans la modification des charges de surface et par conséquent affectent le comportement des particules colloïdales en termes de stabilité.

I.2.1.2. Description de l'interface surface plane chargée/solution électrolytique

I.2.1.2.1. La double couche électrique [2, 24-26]

La présence de sites chargés à la surface d'un solide immergé au sein d'une solution électrolytique influence la distribution spatiale des espèces ioniques dans son voisinage. Les forces électrostatiques dues à la charge de surface attirent les espèces de charge opposée et repoussent celles de même charge. Le potentiel électrostatique exercé par la charge de surface varie progressivement au sein d'une zone appelée « double couche ». Plusieurs modèles successifs ont été élaborés pour décrire cette double couche.

I.2.1.2.1.a) Modèle à capacité constante (Helmholtz)

Le concept de double couche a d'abord été introduit par Helmholtz [2], qui envisageait un arrangement des charges en deux plans parallèles, formant ainsi un « condensateur moléculaire ». Néanmoins, l'agitation thermique qui provoque la dispersion des contre-ions dans l'espace, est à l'origine d'une « double couche diffuse ».

I.2.1.2.1.b) Modèle de la couche diffuse (Gouy-Chapman)

La théorie d'une telle double couche a ensuite été développée par Gouy [27] (1910) et, indépendamment, par Chapman [28] (1913) et est connue sous le nom de modèle de Gouy-Chapman. Elle repose sur l'existence, à proximité d'une surface chargée de potentiel Ψ_s , d'une couche dite diffuse dans laquelle la distribution des contre-ions et des coions, soumis à l'agitation thermique, est régie par les interactions électrostatiques (attractives/répulsives) avec la surface et les mécanismes de diffusion liés aux gradients de concentration qui tendent à rétablir l'équilibre avec le cœur de la solution électrolytique. L'équation de Poisson-Boltzmann (I.6) permet d'accéder aux profils du potentiel électrique dans la couche diffuse et

des concentrations ioniques au-delà de la surface chargée. Le défaut majeur de ce modèle est de considérer les ions comme des charges ponctuelles et le solvant comme un continuum diélectrique, hypothèses non satisfaisantes surtout lorsqu'on se trouve à proximité de la surface chargée. Il a donc été indispensable de définir un nouveau modèle permettant de rendre compte de la taille finie des ions.

I.2.1.2.1.c) Modèle de la double couche (Stern)

Dans ce modèle, introduit par Stern [29] en 1924, l'interface solide-solution se décompose alors en deux parties. La première est une couche dite compacte (Couche de Stern), d'épaisseur d , qui contient les ions présentant une interaction forte avec la surface et qui matérialise leur distance minimum d'approche. La deuxième partie de l'interface est constituée par la couche diffuse, dont les caractéristiques sont les mêmes que dans le modèle précédent. Le plan séparant la couche compacte de la couche diffuse est noté plan de Stern.

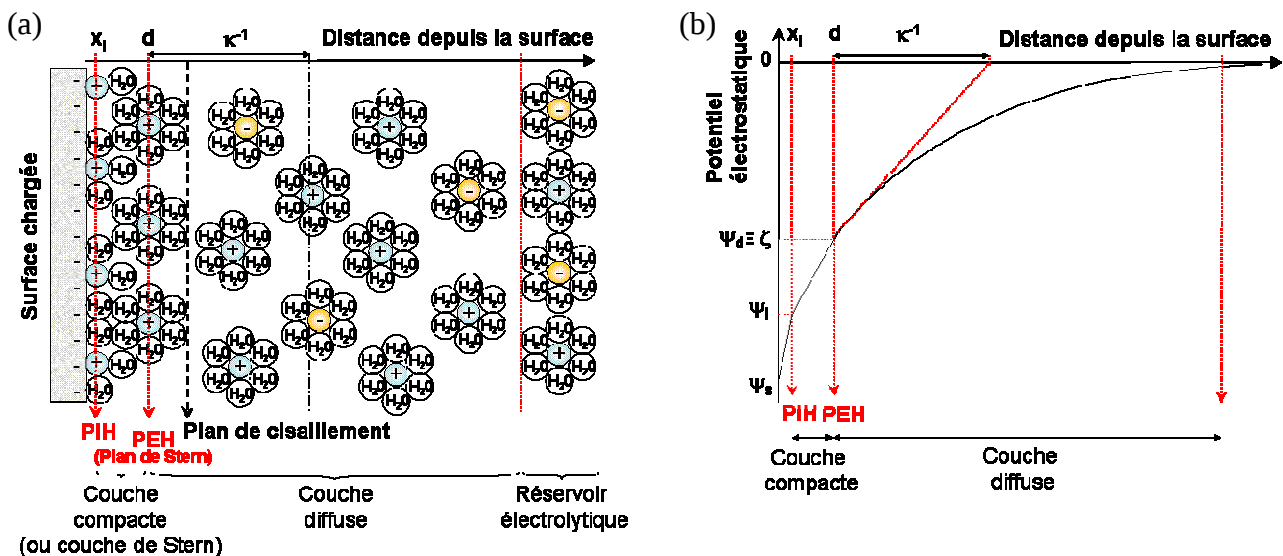


Figure 1 (adaptée de Masliyah et al. [2]): (a) modèle de la triple couche. (b) représentation schématique du profil du potentiel électrique montrant la longueur de Debye, et l'étendue de la double couche électrique.

I.2.1.2.1.d) Modèle de la triple couche (Grahame)

Le modèle de la double couche a par la suite été affiné par Grahame [30] en 1947. Il définit un plan supplémentaire (plan interne de Helmholtz, PIH) dans la couche de Stern, qui contient les ions spécifiquement adsorbés et partiellement ou entièrement désolvatés. Le plan

de Stern, désormais confondu avec le plan Externe de Helmholtz (PEH) contient lui les ions entièrement solvatés et retenus par les forces électrostatiques. Un schéma du modèle de la triple couche est représenté figure 1.a.

I.2.1.2.2. La longueur de Debye [2, 5, 24]

La longueur de Debye (κ^{-1}) correspond à la distance entre la surface chargée au plan externe de Helmholtz (PEH) et un point où le potentiel de surface (Ψ_d) est réduit à 1/e de sa valeur (Figure 1.b). Son expression est donnée par les équations (I.3) et (I.4)

$$\kappa^{-1} = \sqrt{\frac{\epsilon_0 \epsilon_r k_B T}{N_A e^2 \sum_i c_i^\infty z_i^2}} \quad (I.3)$$

$$\kappa^{-1} = \frac{0.304}{\sqrt{I}} \quad \text{exprimée en nm, dans l'eau à 25 °C} \quad (I.4)$$

avec ϵ_0 : la permittivité du vide, C/(V.m)
 ϵ_r : la constante diélectrique du milieu
 k_B : la constante de Boltzmann, J/K
 T : la température absolue, K
 N_A : le nombre d'Avogadro, mol⁻¹
 e : la charge élémentaire, C
 c_i^∞ : la concentration de l'ion i au cœur de la solution électrolytique, mol/m³
 z_i : la valence de l'ion i
 I : la force ionique de la solution électrolytique, mol/L

L'épaisseur caractéristique de la double couche électrique (couche compacte et diffuse) est souvent assimilée à la longueur de Debye, bien que la couche diffuse s'étende au-delà de κ^{-1} (3 ou 4 κ^{-1}) [24]. Il est à noter que ce paramètre dépend uniquement des propriétés de la solution électrolytique. Ainsi, l'équation (I.4) montre que plus la force $I = \frac{1}{2} \sum_i c_i^\infty z_i^2$ ionique I () de la suspension est élevée, plus la double couche est comprimée.

I.2.1.2.3. Le potentiel-zêta [2, 5]

Nous avons vu précédemment que les ions présentant une affinité spécifique pour la surface chargée sont localisés au sein de la couche de Stern (Figure 1.a) et sont considérés comme immobiles. Les ions dont les centres sont situés au-delà du plan de Stern constituent

eux une couche d'ions mobiles au voisinage de la surface, définissant ainsi la couche diffuse. La limite interne de la partie mobile de la double couche électrique, située à un ou deux rayons ioniques de la surface, est définie selon des considérations hydrodynamiques et appelée plan de cisaillement. C'est au niveau de ce plan que la condition limite de non-glissement du fluide est supposée s'appliquer, autrement dit que sa vitesse peut être considérée comme nulle. Le potentiel au plan de cisaillement est appelé potentiel électrocinétique, plus connu sous le nom de potentiel-zêta (ζ). Bien que d'amplitudes légèrement différentes, il est d'usage d'identifier le potentiel de Stern (Ψ_d) au potentiel- ζ car l'erreur introduite par cette approximation reste faible [31].

Le potentiel- ζ (ou potentiel Ψ_d) est généralement considéré comme un bon indicateur de la stabilité des suspensions colloïdales. Si le potentiel- ζ de particules de même signe (positif ou négatif) est élevé, les répulsions (de double couche) sont suffisamment importantes pour éviter le rapprochement des particules, donc leur agrégation [5].

Le potentiel- ζ ne peut être mesuré directement, mais doit être déterminé à partir de grandeurs électrocinétiques telles que la mobilité électrophorétique via l'utilisation de modèles appropriés (Henry, Hückel, Smoluchowski,...). Les méthodes de mesure (Zétamétrie, CE) ont déjà été succinctement présentées (§ I.1.2.3), quant aux modèles à adopter, ils seront développés dans la suite de l'exposé (§ III.2).

I.2.1.2.4. Potentiel électrique et densité de charge de surface [2, 5, 24]

I.2.1.2.4.a) La couche diffuse

Le potentiel électrique

Dans la couche diffuse ($x > d$) la relation entre le potentiel électrique Ψ et la densité volumique de charge ρ est donnée par l'équation de Poisson (I.5) :

$$\nabla^2 \Psi = -\frac{\rho}{\epsilon} \quad (I.5)$$

où $\epsilon = \epsilon_0 \epsilon_r$ est la permittivité diélectrique du milieu, exprimée en C/(V.m)

En insérant l'expression de la densité de charge dans l'équation de Poisson, on obtient l'équation de Poisson-Boltzmann (I.6) qui s'exprime comme suit dans le cas d'un problème à une dimension :

$$\frac{d^2\psi}{dx^2} = -\frac{e}{\epsilon} \sum_i n_i^{\infty} z_i \exp\left(-\frac{z_i e \psi}{k_B T}\right) \quad (\text{I.6})$$

où $n_i^{\infty} = N_A c_i^{\infty}$ est le nombre d'ion i au cœur de la solution électrolytique, exprimée en m^{-3} .

Une solution de cette équation à été proposée par Gouy [27] et Chapman [28] (I.7) dans le cas d'une double couche électrique plane et d'un électrolyte symétrique ($z : z$), établissant ainsi la loi de variation du potentiel électrique dans la couche diffuse.

$$\psi = \frac{2k_B T}{ze} \ln \left(\frac{1 + \exp(-\kappa(x-d)) \tanh\left(\frac{ze\psi_d}{4k_B T}\right)}{1 - \exp(-\kappa(x-d)) \tanh\left(\frac{ze\psi_d}{4k_B T}\right)} \right) \quad (\text{I.7})$$

Quand le potentiel de surface est faible ($\ll 25$ mV), autrement dit quand le terme d'énergie électrique $ze\psi$ est très petit devant le terme d'énergie thermique $k_B T$, l'équation de Poisson-Boltzmann peut être linéarisée (approximation de Debye-Hückel) et conduit à une loi de variation du potentiel (I.8) qui suit une décroissance exponentielle lorsqu'on s'éloigne de la surface chargée :

$$\psi = \psi_d \exp(-\kappa(x-d)) \quad (\text{I.8})$$

La charge de surface

La charge totale, par unité de surface, dans la couche diffuse est donnée par l'équation (I.9),

$$\sigma_d = \int_d^{\infty} \rho dx = -\frac{2\kappa k_B T \epsilon}{ze} \sinh\left(\frac{ze\psi_d}{2k_B T}\right) \quad (\text{I.9})$$

soit pour un électrolyte symétrique ($z:z$) de concentration c dans l'eau à 25 °C

$$\sigma_d = -11.74 \sqrt{c} \sinh(19.46 z \psi_d) \quad (\text{I.10})$$

exprimée en $\mu\text{C}/\text{cm}^2$ quand ψ_d est en volt et c en mol/L.

Il est à noter que le signe de σ_d est opposé au signe de ψ_d (puisque $z > 0$)

Quand le potentiel de surface est faible, c'est-à-dire quand l'équation de Poisson-Boltzmann linéarisée peut être utilisée, une expression simplifiée de la charge est obtenue :

$$\sigma_d = -\epsilon\kappa\psi_d \quad (\text{I.11})$$

De sorte que

$$-\frac{\sigma_d}{\psi_d} = K_d = \epsilon\kappa \quad (\text{I.12})$$

La constante K_d est appelée capacitance intégrale de la couche diffuse et l'équation (I.12) montre que dans le cas des faibles potentiels, la couche diffuse se comporte comme un condensateur plan dont les deux plans de charges σ_d et $-\sigma_d$ sont distants de κ^{-1} .

I.2.1.2.4.b) La couche compacte

Dans la couche compacte, ou couche de Stern, tous les ions sont supposés confinés sur deux plans : le PIH, à une distance x_i de la surface, pour les ions partiellement ou totalement désolvatés, spécifiquement adsorbés à la surface, et le PEH, à une distance d de la surface, pour les ions totalement solvatés, retenus par les forces électrostatiques. Dans ce modèle, les régions de l'espace comprises entre la surface et le PIH ($0 < x < x_i$) ainsi qu'entre le PIH et le PEH ($x_i < x < d$) peuvent être considérées comme vides de charge et traitées comme deux condensateurs en série. La décroissance du potentiel dans chaque région est alors linéaire et décrite par les expressions (I.13) et (I.14)

$$\psi_s - \psi_i = \frac{\sigma_0 x_i}{\epsilon_i} \quad \text{pour } 0 < x < x_i \quad (\text{I.13})$$

$$\psi_i - \psi_d = -\frac{\sigma_d (d - x_i)}{\epsilon_d} \quad \text{pour } x_i < x < d \quad (\text{I.14})$$

avec $\bar{\epsilon}_i$ et $\bar{\epsilon}_d$ les valeurs moyennes de permittivité définies dans les régions $0 < x < x_i$ et $x_i < x < d$, respectivement, considérées comme constantes.

L'équilibre des charges nécessite également que

$$\sigma_0 + \sigma_i + \sigma_d = 0 \quad (\text{I.15})$$

où σ_0 et σ_i représentent les densités surfaciques de charges à la surface du solide et au PIH, respectivement.

I.2.1.3. Description de l'interface particule sphérique chargée/solution électrolytique [2, 5, 24]

Cette description peut se faire par analogie avec l'interface surface plane chargée/solution électrolytique.

Le calcul de la variation de potentiel au sein de la couche diffuse peut se faire en résolvant l'équation de Poisson-Boltzmann exprimée en coordonnées sphériques compte tenue de la géométrie du système particule. La résolution de cette équation est plus complexe que dans le cas d'une géométrie plane et doit faire intervenir l'approximation de Debye-Hückel, valable pour les faibles valeurs de potentiel ($\ll 25$ mV). Ainsi, l'équation (I.16), décrivant la variation du potentiel Ψ dans la couche diffuse, a été obtenue par résolution de l'équation de Poisson-Boltzmann linéarisée.

$$\psi = \psi_d \left(\frac{a}{r} \right) \exp[-\kappa(r-a)] \quad (\text{I.16})$$

Avec Ψ_d le potentiel au plan de Stern, et $a = a_0 + d$, d étant l'épaisseur de la couche de Stern et a_0 le rayon solide de la particule (Figure 2).

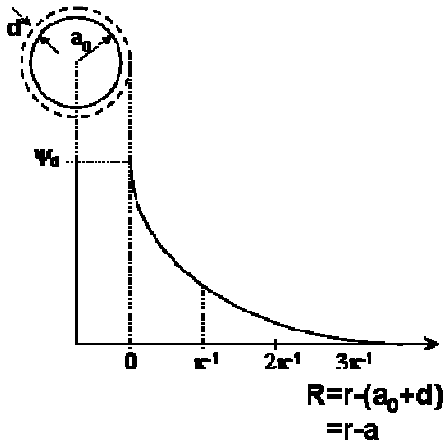


Figure 2 (d'après R. J. Hunter [24]): la double couche diffuse autour d'une sphère de faible potentiel.

Si on fait apparaître dans l'équation (I.16) la distance R depuis le plan de Stern,

$$\psi = \psi_d \left(\frac{1}{1 + \frac{\kappa R}{\kappa a}} \right) \exp(-\kappa R) \quad (\text{I.17})$$

il apparaît clairement que la différence entre la géométrie plane et la géométrie sphérique réside dans le terme $1/(1+\kappa R/\kappa a)$ qui est important uniquement pour les faibles valeurs de

rayon de courbure. Ainsi, dans le cas limite d'un rayon de courbure infini, ce terme tend vers 1 et on retrouve l'équation (I.8) associée à la description d'une double couche plane.

La relation entre la densité de charge de surface et le potentiel électrique (I.18) est une conséquence du théorème de Gauss et est similaire à celle obtenue pour une surface plane.

$$\sigma_d = -\epsilon\kappa\psi_d \left(1 + \frac{1}{\kappa a}\right) \quad (\text{I.18})$$

Encore une fois, dans le cas limite où κa tend vers l'infini (rayon de courbure a très grand devant l'épaisseur de la double couche κ^{-1}), l'équation (I.18) est réduite au cas d'une surface plane (équation (I.12)).

La relation entre la densité de charge de surface, σ_d , et le potentiel de surface donnée par l'équation (I.18) est seulement valable pour les faibles valeurs de potentiel. Une équation plus générale, bien qu'approximative, est donnée par Loeb et al. [32] dans le cas d'un électrolyte symétrique ($z : z$) :

$$\sigma_d = \frac{\epsilon\kappa k_B T}{ez} \left[2 \sinh\left(\frac{ze\psi_d}{2k_B T}\right) + \frac{4}{\kappa a} \tanh\left(\frac{ze\psi_d}{4k_B T}\right) \right] \quad (\text{I.19})$$

Par la suite, White [33] ainsi qu'Ohshima et al. [34, 35] ont proposé des solutions améliorées pour la distribution du potentiel d'une particule sphérique chargée. Ohshima a également donné une expression analytique approchée de la relation entre la densité de charge de surface et le potentiel de surface pour une particule colloïdale sphérique dans un milieu (aqueux ou non-aqueux) contenant comme seule autre espèce chargée les contre-ions des particules [36].

I.2.2. Théorie DLVO (Derjaguin, Landau, Verwey et Overbeek) [4, 37, 38]

Afin de décrire théoriquement le processus d'agrégation, nous allons rappeler brièvement la théorie DLVO (Derjaguin, Landau, Verwey et Overbeek) [39, 40] qui est la plus simple pour décrire la stabilité des colloïdes. Cette théorie considère uniquement deux types d'interactions entre les surfaces des particules colloïdales : l'attraction de Van der Waals, et la répulsion entropique due à la présence de charges électrostatiques en surface des particules, plus communément appelée « répulsion électrostatique ». En minimisant l'énergie libre résultant de la somme de ces deux interactions, on peut déterminer les états d'équilibre du système colloïdal.

I.2.2.1. Forces électrostatiques

Lorsque deux particules de charges identiques s'approchent, les parties diffuses des doubles couches électriques vont se repousser. L'énergie potentielle de répulsion V_R peut être exprimée par l'équation approchée (I.20) :

$$V_R = 2\pi\epsilon a \psi_d^2 \ln[1 + e^{-\kappa D}] \quad (\text{I.20})$$

ϵ : permittivité du milieu

a : rayon des particules

ψ_d : potentiel au plan externe de Helmholtz (PEH)

κ : inverse de la longueur de Debye-Hückel

D : distance entre particules

Les paramètres influençant l'énergie potentielle de répulsion sont le potentiel au PEH assimilable au potentiel- ζ , la permittivité ϵ du solvant (ou constante diélectrique) et la longueur de Debye κ^{-1} (donc la charge et la concentration de l'électrolyte)

I.2.2.2. Forces de van der Waals

Une attraction entre les particules est ressentie suite aux forces de Van der Waals. Ces forces résultent d'interactions atomiques et moléculaires de nature dipolaire. Les forces de van der Waals regroupent l'interaction de Keesom (orientation de dipôles permanents sous l'effet d'un champ électrique provoqué par un dipôle permanent), l'interaction de Debye (orientation des dipôles induits au sein d'atomes ou de molécules polarisables par un dipôle permanent) et l'interaction de London (orientation de dipôles dans le voisinage d'un dipôle instantané provoqué par une fluctuation dans la distribution de charges électriques). La résultante de ces forces est une attraction entre les deux particules. L'énergie potentielle d'attraction V_A correspondante s'exprime par la relation (I.21) :

$$V_A = -\frac{A}{6} \left[\frac{2a^2}{R^2 - 4a^2} + \frac{2a^2}{R^2} + \ln \left(\frac{R^2 - 4a^2}{R^2} \right) \right] \quad (\text{I.21})$$

A : constante de Hamaker (dépend des propriétés diélectriques des particules en interaction et du solvant) [41]

a : rayon des particules

R : distance centre à centre $R = 2a + D$, où D est la distance interparticulaire

Pour de faibles distances entre particules, $(R-2a)/a \ll 1$, l'équation (I.21) se réduit à l'équation (I.22) :

$$V_A = \frac{-Aa}{12(R-2a)} \quad (I.22)$$

Les forces attractives dépendent donc de la nature de la phase dispersée et du milieu de dispersion (par la constante de Hamaker A), de la taille des particules et de la distance entre particules.

I.2.2.3. Energie potentielle totale d'interaction

Le potentiel de DLVO prend en compte la contribution répulsive de double couche et la contribution attractive de van der Waals. L'évolution du potentiel d'interaction résultant est représentée schématiquement figure 3 en fonction de la distance interparticulaire D .

Lorsque deux particules éloignées se rapprochent, il s'exerce d'abord une interaction attractive, responsable de l'apparition d'un premier minimum dans la courbe d'énergie potentielle totale (minimum secondaire W_s). Ce dernier correspond à une faible coagulation réversible, nommée floculation. Si la barrière d'énergie potentielle totale est suffisamment basse (de l'ordre de l'énergie d'agitation thermique) les particules peuvent alors atteindre la distance d'équilibre correspondant au minimum primaire (W_p). Lorsque la distance entre les particules devient trop faible (de l'ordre du nm), une force répulsive non prédite par la théorie DLVO apparaît, qui traduit l'impossibilité pour les particules à s'interpénétrer. Le potentiel de sphère dure qui en résulte est à l'origine d'une augmentation rapide de l'énergie potentielle totale et donc d'une limitation de la profondeur du minimum primaire.

La hauteur de la barrière d'énergie potentielle totale est un paramètre important dans l'étude de la stabilité des suspensions colloïdales. Pour une taille donnée de particules, elle dépend principalement des facteurs suivants [41]:

- La concentration et la charge des ions de l'électrolyte via la longueur de Debye
- Le potentiel électrique ψ_d et donc la charge de surface des particules au PEH
- La nature du solvant (permittivité diélectrique du milieu) via la constante de Hamaker

Ainsi, une diminution de la contribution répulsive de l'interaction peut être provoquée par une augmentation de la force ionique de l'électrolyte et/ou par une diminution du potentiel de surface des particules et va entraîner une déstabilisation de la suspension particulaire comme l'illustre la figure 3 (profils a à e). A faible force ionique et/ou potentiel de surface des

particules élevé, la répulsion électrostatique prédomine : le minimum primaire n'est pas accessible ; la suspension est stable (profil a). Au fur et à mesure que la force ionique du milieu augmente et/ou que le potentiel de surface des particules diminue, le minimum secondaire de potentiel se creuse en même temps que la barrière d'énergie potentielle diminue (profils b à d). Tant que la barrière d'énergie potentielle reste supérieure à l'énergie d'agitation thermique, les particules tomberont dans le minimum secondaire de potentiel ou bien resteront en suspension dans la solution ; la suspension est cinétiquement stable. Pour une barrière d'énergie potentielle de l'ordre de l'énergie d'agitation thermique, une lente coagulation des particules est observée. Enfin, au-delà d'une certaine force ionique (concentration critique de coagulation) la barrière d'énergie potentielle devient nulle et les particules coagulent rapidement ; la suspension est instable (profil e).

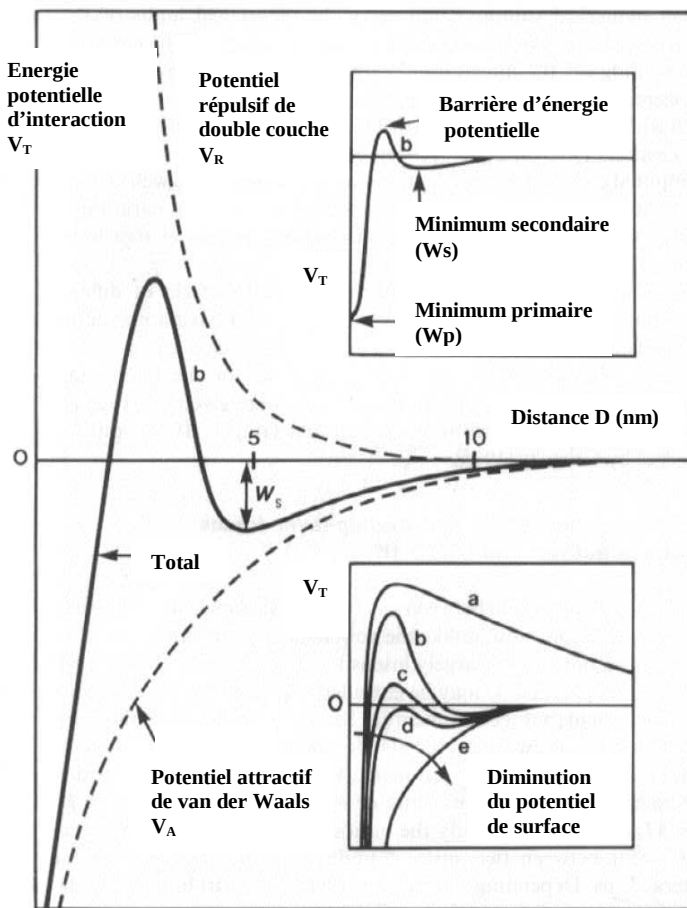


Figure 3 (Israelachvili [42]) : représentation de l'énergie potentielle d'interaction entre deux particules en fonction de la distance D.

Dans certains cas, il est nécessaire de compléter la théorie DLVO en tenant compte d'autres forces : forces stériques répulsives (adsorption de polymère), forces hydrophobes attractives,... Ces forces sont importantes car elles permettent le contrôle de la stabilité des suspensions pour lesquelles il est difficile de jouer sur la force ionique du milieu de dispersion.

I.3. Electrophorèse d'une particule colloïdale chargée en milieu libre

Cette partie a pour but de présenter le comportement électrophorétique en milieu libre d'une particule sphérique, rigide, non conductrice, ainsi que d'établir les différentes expressions analytiques permettant de relier la mobilité électrophorétique au potentiel- ζ . L'accent est porté sur les domaines de validité, parfois restreints, de ces différentes expressions.

I.3.1. Bilan des forces

Lorsqu'une particule sphérique de rayon a_0 et de charge Q ($Q = \sigma 4\pi a_0^2$), en suspension dans un fluide diélectrique pur (absence de charge ou d'ion), est soumise à un champ électrique externe uniforme E^∞ , la particule acquiert une certaine vitesse sous l'action de la force électrique $F_E = QE^\infty$. Dès lors que la particule se met en mouvement, il s'exerce sur elle une force de friction hydrodynamique, de direction opposée à son mouvement, donnée par la loi de Stokes $F_H = 6\pi\eta a_0 U$, où η est la viscosité du fluide et U la vitesse de la particule. En régime stationnaire, la force de friction équilibre la force électrique et la particule acquiert une vitesse constante $U = QE^\infty / 6\pi\eta a_0$. La mobilité électrophorétique μ_{ep} de la particule est alors définie comme le rapport entre la vitesse de migration électrophorétique et le champ électrique appliqué [2] :

$$\mu_{ep} = \frac{U}{E^\infty} = \frac{QU}{F_H} = \frac{Q}{6\pi\eta a_0} \quad (I.23)$$

Si on considère maintenant la particule en suspension dans une solution électrolytique, elle va influencer la distribution spatiale des espèces chargées au voisinage de sa surface et induire la formation d'une double couche électrique. Nous avons vu précédemment que les ions localisés au sein de la couche de Stern peuvent être considérés comme immobiles dans le référentiel de la particule et vont donc se déplacer avec elle lors de sa mise en mouvement sous l'action d'un champ électrique extérieur. Il peut alors être admis que le plan de cisaillement coïncide avec la surface de la particule [2], ce qui revient à considérer une particule rigide, sphérique, non conductrice, de rayon a ($a = d + a_0$, distance du centre de la particule au plan de cisaillement), de charge Q_d ($Q_d = \sigma_d 4\pi a^2$) et de potentiel de surface ζ (assimilé à Ψ_d). Les ions localisés dans la couche diffuse, d'épaisseur caractéristique κ^{-1} , constituent eux une couche d'ions mobiles au voisinage de la surface et par conséquent vont

affecter la particule dans son déplacement. En effet, sous l'influence d'un champ électrique extérieur, les contre-ions localisés dans la couche diffuse, et déjà soumis à la force d'attraction électrostatique exercée par la particule, tendent à se déplacer dans le sens opposé à celle-ci. Il en résulte alors une distorsion de la double couche, comme l'illustre la figure 4, à l'origine de deux forces supplémentaires s'exerçant sur la particule [43].

Les contre-ions de la couche diffuse vont entraîner dans leur mouvement des molécules de solvant. Ce mouvement global du fluide dans la direction opposée à celle de la particule est à l'origine d'une force de retard par friction (F_R) et le phénomène électrophorétique associé est qualifié de retard électrophorétique.

En outre, dans le nouvel état d'équilibre qui s'établit rapidement après l'application du champ électrique, le barycentre des charges apportées par les ions de la couche diffuse ne coïncide plus avec le centre de la particule. Il en résulte localement un champ électrique (dipôle induit) dont les effets s'opposent à ceux du champ extérieur appliqué. Le phénomène électrophorétique associé à cette nouvelle force de retard (F_{RE}) est qualifié d'effet de relaxation.

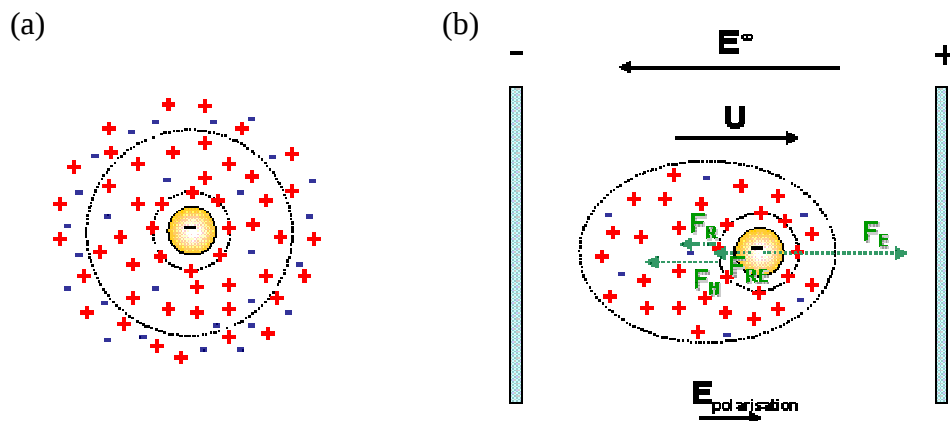


Figure 4 (d'après Wiersema et al. [43]) : représentation schématique de la double couche électrique autour d'une particule chargée, a) symétrique au repos et b) distordue sous l'action d'un champ électrique extérieur.

I.3.2. Solutions des équations de transport

Différentes approches ont été adoptées pour relier la mobilité électrophorétique d'une particule à son potentiel de surface. Les premiers travaux sur la question [44-46] ont souvent négligé l'un voire les deux phénomènes de ralentissement électrophorétique mentionnés précédemment. Toutes les solutions approchées proposées dans la littérature commencent par supposer que l'amplitude du champ électrique extérieur appliqué est faible devant l'amplitude

du champ électrique qui règne au sein de la double couche, de sorte que la distorsion de la couche diffuse peut être considérée comme faible [2].

I.3.2.1. Le modèle de Henry

L'expression analytique (I.24) proposée par Henry [46] pour décrire l'électrophorèse d'une particule sphérique, rigide, non conductrice, en suspension dans un électrolyte de viscosité η et de constante diélectrique ϵ_r , a été établie suivant la méthode des perturbations. Cette solution ne tient pas compte de l'effet de relaxation et se limite aux cas des faibles potentiels de surface ($\zeta < 25$ mV, approximation de Debye-Hückel), mais s'applique à toutes les valeurs du produit κa .

$$\mu_{ep} = \frac{2 \epsilon_0 \epsilon_r}{3 \eta} \zeta \cdot f(\kappa a) \quad (I.24)$$

La fonction de Henry $f(\kappa a)$ qui apparaît dans l'équation (I.24) est une fonction monotone du produit κa et prend des valeurs comprises entre 1 et 1,5 lorsque κa varie de 0 à l'infini, respectivement [22].

Dans le cas limites où $\kappa a \ll 1$, c'est-à-dire lorsque l'épaisseur de la double couche est grande devant le rayon de courbure de la particule, la fonction de Henry tend vers 1 et on retrouve l'équation de Hückel [45] (I.25) :

$$\mu_{ep} = \frac{2 \epsilon_0 \epsilon_r}{3 \eta} \zeta \quad (I.25)$$

Dans ce cas de figure, c'est la force de friction hydrodynamique qui est prépondérante et qui équilibre la force électrique s'exerçant sur la particule.

Dans le cas limites où $\kappa a \gg 1$, c'est-à-dire lorsque l'épaisseur de la double couche devient faible devant le rayon de courbure de la particule, la fonction de Henry tend vers 1,5 et on retrouve l'équation de von Smoluchowski [44] (I.26) :

$$\mu_{ep} = \frac{\epsilon_0 \epsilon_r}{\eta} \zeta \quad (I.26)$$

Dans ce cas de figure, la surface de la particule peut être assimilée à une surface plane et le mouvement local du fluide dans la double couche devient analogue à un écoulement

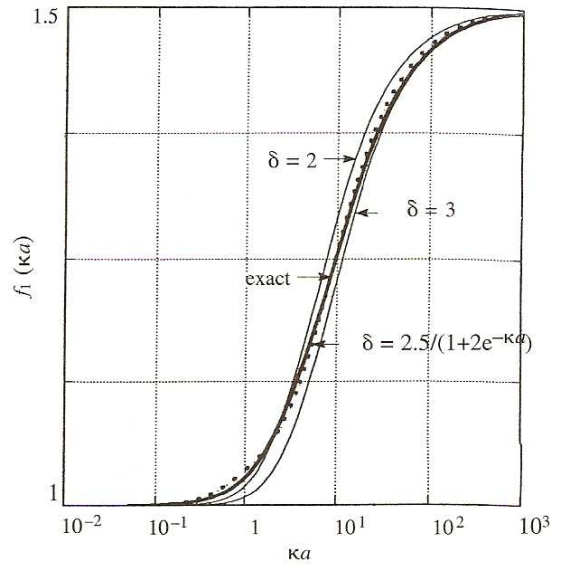
électroosmotique. La force de friction qui équilibre la force électrique s'exerçant sur la particule est alors principalement due au phénomène de retard électrophorétique.

La représentation graphique de la fonction de Henry est donnée en Figure 5. Henry [46] présenta ses résultats sous la forme de deux séries, l'une pour les faibles valeurs de κa (≤ 5) et l'autre pour les valeurs de κa élevées (≥ 25) et admit l'existence d'un hiatus pour les valeurs de κa intermédiaires (comprises entre 5 et 25) et par là même le besoin de recourir à une fonction d'interpolation. Pour pallier ce problème, Ohshima [47] donna une expression approchée de la fonction de Henry (I.27), valable pour toutes valeurs du produit κa , et induisant une erreur relative systématiquement inférieure à 1 %, comme l'illustre la figure 5.

$$f(\kappa a) = 1 + \frac{1}{2 \left(1 + \frac{\delta}{\kappa a} \right)^3} \quad (\text{I.27})$$

$$\text{avec : } \delta = \frac{2,5}{1 + 2 \exp(-\kappa a)} \quad (\text{I.28})$$

Figure 5 (Hunter [22]) : Variation de la fonction de Henry en fonction du produit κa et superposition des valeurs calculées à partir de l'expression approchée d'Ohshima [47].



I.3.2.2. Solutions tenant compte de l'effet de relaxation

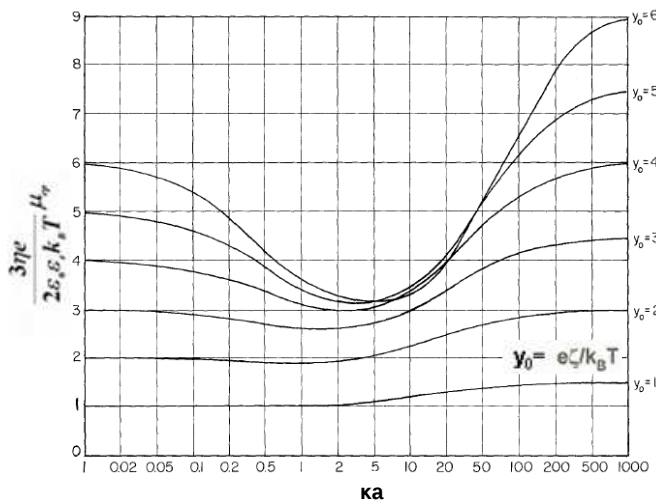
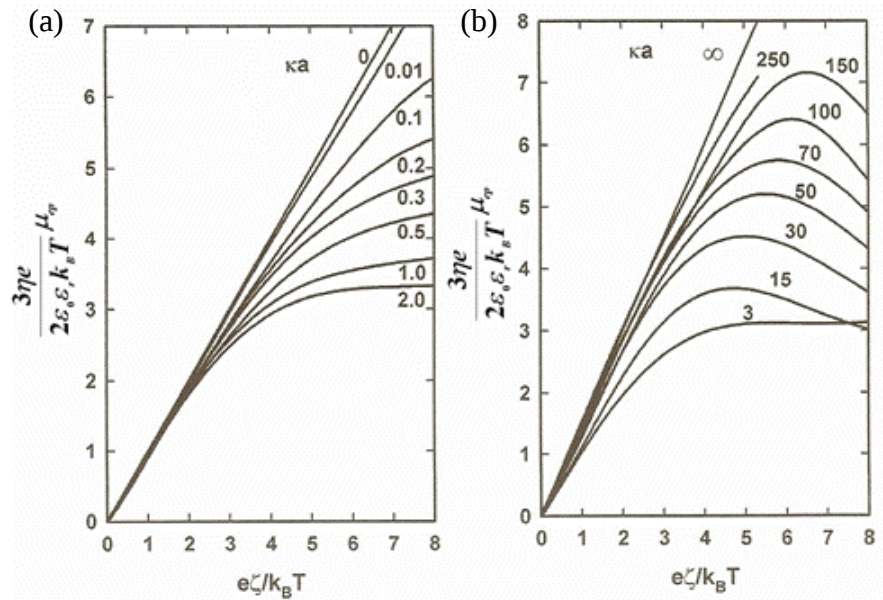


Figure 6 (Wiersema [43]): variation de la mobilité électrophorétique (unité réduite) d'une particule sphérique, dans un électrolyte symétrique ($m_+ = m_- = 0,184$, définis Eq. (I.32)), en fonction du produit κa . Les isopotentiels sont matérialisées en traits pleins (potentiel- ζ en unité réduite).

Overbeek [48] et Booth [49] ont été les premiers à correctement prendre en compte l'effet de relaxation, mais leurs résultats sont limités aux faibles valeurs de potentiel- ζ (< 25 mV) [2]^{Erreur ! Signet non défini.}. La résolution numérique, par Wiersema et al. [43], des équations gouvernant l'électrophorèse, dans un électrolyte binaire, d'une particule sphérique, rigide, non conductrice, a permis de repousser les contraintes de potentiel ζ , mais des difficultés persistent aux valeurs de ζ élevées (> 150 mV) (Figure 6).

Par la suite, O'Brien et White [50] ont surmonté cette difficulté et proposé une solution numérique exacte des équations de transport, valable quels que soient ζ et κa . Les figures 7.a et 7.b résument les résultats d'O'Brien et White et montrent la variation résultante de mobilité en fonction du potentiel- ζ (en unités réduites) pour les faibles valeurs de κa et les valeurs de κa élevées, respectivement.

Figure 7 (adapté de Masliyah [2], d'après O'Brien et White [50]) : variation de la mobilité électrophorétique (unité réduite) d'une particule sphérique, en milieu KCl, en fonction du potentiel- ζ (unité réduite) (a) pour les faibles valeurs du produit κa (< 2) et (b) pour les valeurs élevées du produit κa (> 3).



D'autres expressions analytiques approchées ont depuis été proposées par différents auteurs [51-55]. Deux types d'approches ont été envisagées, consistant à exprimer la mobilité électrophorétique en fonction de puissances de ζ [48, 49, 54] ou de puissances de $1/\kappa a$ [51-53]. En particulier, Ohshima et al. [53] ont établi une formule semi-empirique de mobilité correcte à l'ordre $1/\kappa a$, valable dans un électrolyte symétrique quelle que soit la valeur du potentiel- ζ , et présentant une erreur relative inférieure à 1 % par rapport aux résolutions numériques exactes d'O'Brien et White (Figure 8.b), pour des valeurs du produit κa élevées (≥ 10). Cette méthode a par la suite été étendue au cas d'une particule dans une solution électrolytique quelconque (termes en $1/\kappa a$ négligés, $\kappa a \geq 30$) [55]. Dans le cas des plus faibles valeurs du produit κa (≤ 10), Ohshima [54] a également proposé une expression approchée de la mobilité (I.29) dans un électrolyte symétrique ($z : z$). Néanmoins, dans le domaine $1 < \kappa a <$

10 et $\zeta > 100$ mV (soit $\varepsilon\zeta / k_B T > 4$, en unité réduite) il persiste un écart substantiel avec les résolutions numériques exactes d'O'Brien et White (Figure 8.a).

$$\mu_{ep} = \frac{2\varepsilon_0\varepsilon_r\zeta}{3\eta} \left(f(\kappa a) - \left(\frac{ze\zeta}{k_B T} \right)^2 \left\{ f_3(\kappa a) + \left(\frac{m_+ + m_-}{2} \right) f_4(\kappa a) \right\} \right) \quad (I.29)$$

avec : $f(\kappa a)$ la fonction de Henry dont l'expression approchée donnée par Ohshima a été rappelée équation (I.27)

$$f_3(\kappa a) = \frac{\kappa a \{ \kappa a + 1,3 \exp(-0,18 \kappa a) + 2,5 \}}{2 \{ \kappa a + 1,2 \exp(-7,4 \kappa a) + 4,8 \}^3} \quad (I.30)$$

$$f_4(\kappa a) = \frac{9 \kappa a \{ \kappa a + 5,2 \exp(-3,9 \kappa a) + 5,6 \}}{8 \{ \kappa a - 1,55 \exp(-0,32 \kappa a) + 6,02 \}^3} \quad (I.31)$$

et $m_{\pm}$ le coefficient de friction ionique, adimensionnel, donné par l'expression (I.32)

$$m_{\pm} = \frac{2\varepsilon_0\varepsilon_r k_B T}{3\eta z^2 e^2} \lambda_{\pm} \quad (I.32)$$

où le coefficient de friction ionique $\lambda_{\pm}$ (λ_+ pour le cation et λ_- pour l'anion de l'électrolyte) est relié à la conductivité molaire limite $\Lambda_{\pm}^0$ suivant la relation (I.33) :

$$\lambda_{\pm} = \frac{N_A e^2 z}{\Lambda_{\pm}^0} \quad \text{exprimé en } C^2/(S.m^2) \quad (I.33)$$

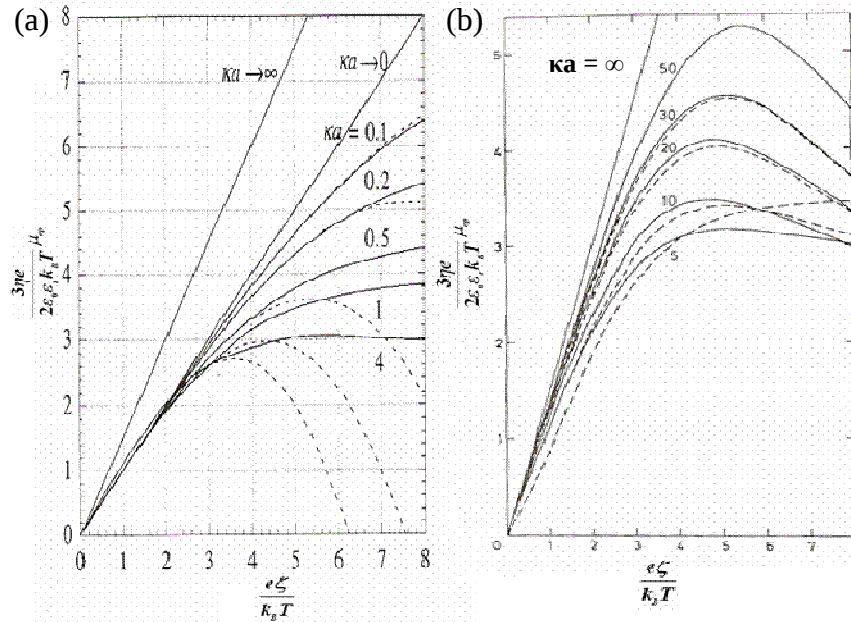


Figure 8 : variation de la mobilité électrophorétique (unité réduite) d'une particule sphérique de rayon a en fonction du potentiel- ζ (unité réduite) (a) pour des valeurs du produit $\kappa a < 10$, en milieu KCl ($m_+ = 0,176$ et $m_- = 0,169$) (tiré d'Ohshima [54]) et (b) pour les valeurs du produit $\kappa a > 10$, dans un électrolyte symétrique ($m_+ = m_- = 0,184$) (tiré d'Ohshima [53]). Les lignes pleines représentent les valeurs numériques exactes obtenues par O'Brien et White [50] et les lignes en pointillés les expressions approchées d'Ohshima.

I.4. Caractérisation et séparation de nanoparticules en électrophorèse capillaire

I.4.1. Particules organiques

I.4.1.1. Particules de latex de polystyrène et autres particules polymères

Les particules de latex de polystyrène (LPS) sont couramment utilisées comme colloïdes modèles, car leur taille et leur géométrie sont bien contrôlées. Elles possèdent une charge qui provient soit des initiateurs de polymérisation, soit de groupements chargés introduits en surplus des monomères lors de la polymérisation : principalement sulfate et carboxylate pour les particules chargées négativement, et amine pour celles chargées positivement. Néanmoins, les propriétés électriques de surface des particules de LPS restent peu connues. La raison la plus probable est leur haut degré d'hydrophobie (malgré la présence de groupements ionisables à leur surface) qui influence fortement l'adsorption des anions à la surface des particules. Par ailleurs, les particules de LPS sont parfois qualifiées de « poilues » par les auteurs, cet adjectif caractérisant la présence éventuelle d'une couche de polymère chargée à leur surface [18].

I.4.1.1.1. Séparation et caractérisation en électrophorèse capillaire

Différents articles décrivent la séparation de particules polymères en électrophorèse capillaire de zone (CZE) : particules de latex de polymère non fonctionnalisées [56-62], sulfatées [63-72], carboxylées [63-68, 70-72] ou aminées [71, 72], particules composites à base de polyaniline [73, 74] ou encore particules copolymères styrène/acrylate [75].

La première séparation de particules de LPS fonctionnalisées a été décrite par VanOrman et McIntire en 1989 [63]. Les auteurs ont séparé un mélange de six populations de particules de polystyrène (PS) chargées négativement (Figure 9) : cinq polystyrènes sulfatés (PSS) et un polystyrène carboxylé (PSC), différents par leur taille (de 39 à 683 nm de diamètre) et par leur charge, en nature et en nombre ($5,62 \cdot 10^2$ à $6,48 \cdot 10^5$ groupements

fonctionnels par particule), dans un électrolyte de séparation ACES (acide N-[2-acétamido]-2-aminoéthane sulfonique) 1 mM (pH 5,8). De façon quelque peu surprenante, les auteurs indiquent qu'un prétraitement du capillaire par un tensioactif cationique (CTABr : bromure d'hexadécyltriméthylammonium) s'est avéré nécessaire à l'obtention des séparations décrites. Une très faible quantité de tensioactif resterait adsorbée de façon permanente à la surface du capillaire via des associations hydrophobes. La nature des interactions paroi/particule serait alors modifiée par la présence de ce tensioactif masquant les sites hydrophobes, et les remplaçant par des sites hydrophiles, à l'origine d'interactions électrostatiques éventuelles. Dans cette configuration, l'écoulement électroosmotique (EOF) resterait cathodique et, en mode de polarité normale, le temps de migration des particules se révélerait être une fonction linéaire croissante de la taille des particules. L'absence de corrélation avec la densité de charge surfacique ou le rapport charge/masse, ainsi que la perte de résolution qui accompagne une augmentation de la force ionique de l'électrolyte de séparation, ont conduit les auteurs [63, 64] à conclure en faveur d'un mécanisme de séparation par interaction différentielle (bien que de nature non déterminée) des particules de PS avec la paroi interne du capillaire.

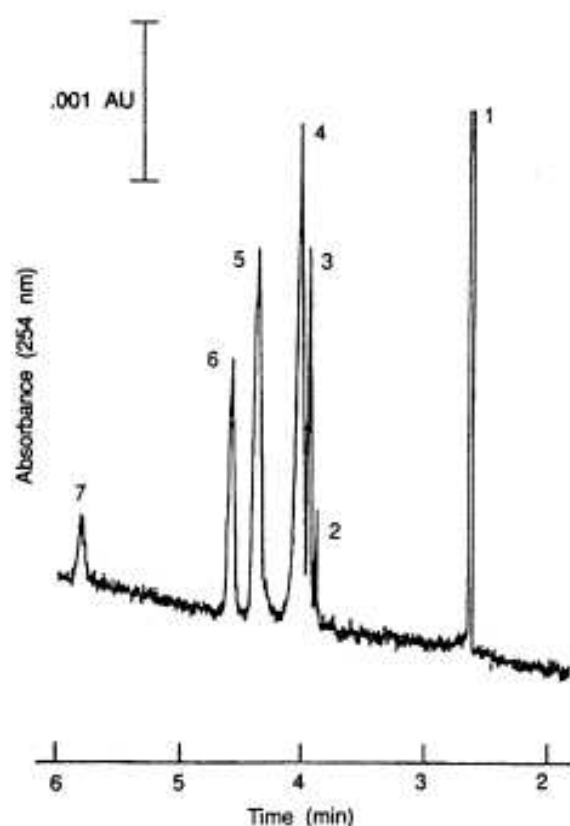


Figure 9 (VanOrman et McIntire [63]) : électrophérogramme montrant la séparation de populations de particules de polystyrène dans un électrolyte ACES 1 mM (pH 5,8). Identification des pics : (1) marqueur neutre ; (2) 39 nm ; (3) 72 nm ; (4) 132 nm ; (5) 308 nm ; (6) 488 nm ; (7) 683 nm de diamètre.

Par ailleurs, Ballou et al. [65, 66] ont observé la séparation en CZE de particules de LPS, de tailles (30 nm à 1,16 μ m de diamètre) et de densités de charge surfaciques ($1,29 \cdot 10^2$ à $6,2 \cdot 10^7$

groupements fonctionnels par particule, sulfate ou carboxylate) différentes. En mode de polarité normale, l'ordre de sortie des particules anioniques correspondait à l'ordre croissant de leur nombre de charges [65]. Une étude des paramètres dispersifs a par la suite permis de conclure quant à l'absence d'interaction particule/paroi et, par là même, à la nature électrophorétique des séparations [66]. L'obtention par d'autres groupes [67, 68, 71] de valeurs de mobilité comparables en CZE et en vélocimétrie laser à effet doppler (LDV) est venue confirmer la nature électrophorétique des séparations observées sur les particules de LPS de charge de surface négative. Fourest et al. [67] ont observé la même évolution de la mobilité et le principal facteur gouvernant la migration ne serait pas le nombre de charges de surface, mais le rapport charge/rayon particulaire (que nous pouvons interpréter comme la limite de Hückel). Néanmoins, la représentation graphique de la variation de la mobilité électrophorétique expérimentale en fonction du rapport charge /rayon particulaire ne correspond pas à une ligne droite passant par l'origine. Les auteurs [67] ont expliqué cet écart à l'idéalité par l'existence de forces de retard (effet de relaxation, retard électrophorétique), d'autant plus notables que la densité de charge de surface des particules était élevée. Enfin, Radko et al. [69] ont vérifié que les différentes mobilités électrophorétiques observées pour des particules de PSS de diamètre moyen compris entre 276 et 762 nm (densité de charge surfacique non corrélée à la taille) pouvaient être corrélées au produit ka (rapport du rayon de la particule a à la longueur de Debye κ^{-1}) et vérifiaient ainsi la théorie d'Overbeek-Booth [48, 49] tenant compte de l'effet de relaxation.

Des mélanges de populations de particules de PS non fonctionnalisées (entre 20 et 1000 nm de diamètre), de densités de charge de surface a priori comparables, ont été étudiés par différents auteurs [56-59, 61, 62] : jusqu'à sept populations de particules de PS (entre 57 et 992 nm de diamètre solide) ont pu être séparées par Rezenom et al. [61] dans un électrolyte de séparation TBE (Tris/borate/EDTA), pH 8.3 (figure 10). La charge de ces particules proviendrait alors de groupements fonctionnels acides issus de la réaction de polymérisation [56]. Des anions de la solution de dispersion pourraient également s'adsorber en surface et ainsi apporter des charges supplémentaires [56]. Dans tous les cas les particules de charge de surface négative sont détectées par ordre croissant de taille en mode de polarité normale. Si certains auteurs se contentent de constater l'ordre de migration des particules, d'autres tendent à une meilleure compréhension des mécanismes de séparation à la lumière des expressions analytiques de la mobilité proposées par Henry [56] (équation (I.24)) ou encore O'Brien et Hunter [58]. Il en résulte que dans le domaine de ka exploré par les auteurs ($ka > 5$), les

résultats expérimentaux présentés dans la littérature sont en bon accord avec les modèles qui prédisent une augmentation de la mobilité électrophorétique des particules lorsque leur taille augmente. L'amplitude de cette augmentation de mobilité est alors modulée par la contribution plus ou moins significative des forces de retard, en fonction des domaines de κa et de potentiel- ζ étudiés. Ainsi, lors de la caractérisation de populations de particules de diamètre compris entre 50 et 600 nm, Vanifatova et al. [56] ont montré que, dans les conditions de l'étude (tampon phosphate 5 mM, pH 9), la mobilité des particules tendait à devenir indépendante de la taille pour des valeurs élevées du produit κa (> 45), autrement dit pour les valeurs de rayon particulaire les plus élevées (400 et 600 nm).

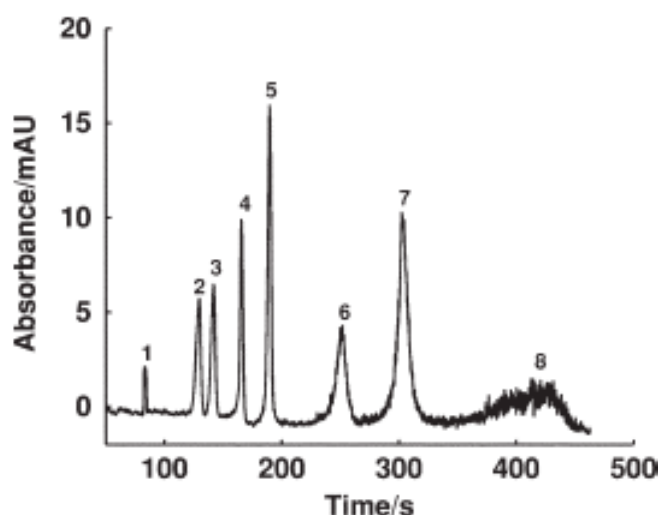


Figure 10 (Rezenom et al. [61]) : électrophérogramme montrant la séparation de populations de particules de PS dans un électrolyte TBE (pH 8,3). Détection UV à 210 nm. Identification des pics : (1) marqueur neutre ; (2) 57 nm ; (3) 110 nm ; (4) 202 nm ; (5) 356 nm ; (6) 548 nm ; (7) 754 nm ; (8) 992 nm de diamètre

Vanhoenacker et al. [75] ont travaillé sur des suspensions de latex copolymère styrène/acrylate. Dans un premier temps, des particules de même composition chimique, mais de tailles différentes (50 à 270 nm de diamètre) ont pu être séparées dans un tampon phosphate 5 mM, ajusté à pH 9 par ajout d'ammoniaque. Bien que l'ordre de migration des particules soit en accord avec les potentiel- ζ mesurés en LDV, la relation entre le potentiel- ζ et la mobilité observée n'est pas linéaire. Ce comportement a une nouvelle fois été imputé à l'effet de relaxation. Si des particules de même composition chimique, mais de tailles différentes ont classiquement été séparées, l'influence de la chimie de surface sur la mobilité de particules de tailles analogues a plus rarement été étudiée. Dans cette optique, des particules de latex copolymère styrène/acrylate, de taille comparable (65 à 69 nm de diamètre), mais de nature chimique variable, en fonction de la nature des monomères acrylate mis en jeu, ont ainsi été séparées. Les faibles efficacités de pic observées ont été attribuées à « l'hétérogénéité électrophorétique » qui résulte de l'hétérogénéité en taille des particules de

l'échantillon. Les auteurs [75] ont également utilisé la CZE pour la caractérisation de fractions hydrosolubles de dispersions d'uréthanes, ainsi que pour l'étude des interactions entre des populations de particules polymères à base d'acrylique et d'uréthane.

L'étude de l'homogénéité chimique de particules polymères composites à base de polyaniline et de silice (28 à 350 nm de diamètre) a également été menée en CZE [73]. Ces particules ont pu être partiellement séparées lors de leur injection simultanée sous forme de mélange. La caractérisation des particules issues du mélange a permis de mettre en évidence un déplacement systématique du pic des particules à base de polyaniline vers le pic des particules à base de silice (de potentiel- ζ le plus élevé), par comparaison avec les profils électrophorétiques obtenus pour chaque population injectée seule. Cette observation a suggéré aux auteurs [73] la formation d'agrégats suite au mélange des deux populations de particules. D'autres populations de particules à base de polyaniline, différentes par leur taille (350 et 624 nm) et la nature du polymère stabilisant (polyvinylpyrrolidone (PVP) et hydroxypropylcellulose (HPC), respectivement), ont pu être caractérisées par le groupe de Boček [74], à la fois en CZE et en MEKC. Un mélange de ces deux populations a ainsi pu être séparé en présence de micelles de SDS (SDS à 0,05 M dans un tampon H_3PO_4 50 mM + Tris, pH 8,5).

En outre, la CZE offre de nouvelles perspectives quant à l'étude de la réactivité de surface des particules. Ainsi, VanOrman et McIntire [71] ont pu étudier en CZE l'adsorption d'un tensioactif polymère neutre (T908) à la surface de LPS chargés négativement : une diminution de la mobilité électrophorétique des particules (corrélée à une diminution du potentiel- ζ mesuré en LDV) a ainsi été mesurée simultanément à une augmentation de la quantité de tensioactif présente dans l'électrolyte de séparation.

Si les LPS de charge négative semblent bien caractérisés en CZE, l'électrophorèse de leurs analogues de charge positive dans les mêmes conditions est très peu décrite [71, 72]. Ainsi, lors de l'électrophorèse de LPS porteurs de groupements amine en surface (diamètre compris entre 100 et 300 nm) [71], toutes les populations de particule, quelle que soit leur taille, montrent une même mobilité apparente négative en tampon phosphate 10 mM, pH 7,4, tandis que leur caractérisation en LDV révèle des mobilités positives distinctes. L'existence d'un mécanisme de rétention au sein des capillaires en silice vierge, attribué à des interactions paroi/particule de nature électrostatique, a alors été envisagée pour expliquer la charge

négative apparente des particules observée en CZE. L'utilisation de capillaires modifiés polybrène (PB) ou poly(vinyl alcohol) (PVA) a par la suite permis la caractérisation et la séparation d'un mélange de deux populations de particules de latex fonctionnalisées en surface par des groupements amine (500 nm et 1 μ de diamètre) [72]. Dans un tampon phosphate 10 mM, pH 3, les meilleures efficacités de pic sont obtenues en capillaire modifié PVA (jusqu'à 2300 plateaux théoriques ; longueur utile du capillaire : 19,5 cm). Dans les deux types de configuration (capillaire modifié par un tensioactif cationique ou un polymère neutre, respectivement), les particules de 500 nm de diamètre présentent la mobilité électrophorétique la plus élevée. Cet ordre de sortie, qui n'est pas discuté par les auteurs, ne semble pas cohérent avec les prédictions des théories électrocinétiques développées précédemment. Dans ces conditions, nous pouvons penser que la séparation n'est pas contrôlée par la taille, mais plutôt par la densité de charge des particules, bien que non précisée par les auteurs.

Compte tenu de la complexité des systèmes étudiés, nous avons procédé à une étude systématique des données de la littérature concernant les différents paramètres susceptibles d'influencer la mobilité des particules de LPS. Sauf mention contraire, les particules considérées dans la suite de cette étude bibliographique présentent une charge de surface négative, peu d'informations étant disponibles sur la caractérisation de leurs homologues cationiques en CZE.

I.4.1.1.2. Les effets dispersifs

Pour des particules, la variance spatiale globale est donnée par

$$\sigma^2 = \sigma_{inj}^2 + \sigma_{det}^2 + \sigma_D^2 + \sigma_T^2 + \sigma_k^2 + \sigma_{paroi}^2 + \sigma_{het}^2 \quad (I.34)$$

où les termes successifs sont respectivement la variance due à la longueur de la zone d'injection, à la longueur de la zone de détection, à la diffusion axiale, au gradient de température, à la différence de conductivité entre l'électrolyte de séparation et à la zone échantillon (dispersion électrophorétique), à l'interaction paroi/particule et l'hétérogénéité électrophorétique [66, 69, 70].

Cette équation sous-entend que (i) la ligne de courant d'une particule donnée n'est pas perturbée par d'autres particules dans son voisinage et (ii) que les répulsions électrostatiques ou autres interactions inter-particulaires sont négligeables. L'utilisation d'échantillons

faiblement concentrés en particules réduit l'éventuelle contribution de ces sources de dispersion supplémentaires [70].

La contribution théorique de l'injection à l'élargissement est

$$\sigma_{inj}^2 = \frac{l_{inj}^2}{12} \quad (I.35)$$

avec l_{inj} la longueur de la zone d'injection (en m), supposée en forme de bouchon [69, 70], et dans l'hypothèse d'une conductivité constante entre la zone échantillon et l'électrolyte de séparation.

La contribution théorique de la détection à l'élargissement est

$$\sigma_{det}^2 = \frac{l_{det}^2}{12} \quad (I.36)$$

avec l_{det} la largeur de la fenêtre de détection (en m) [66]. Elle est moins significative que celle de la zone d'injection et peut être négligée dans la plupart des systèmes.

La contribution de la diffusion axiale est donnée par l'équation (I.37)

$$\sigma_D^2 = 2Dt_d = \frac{2DL_d}{\mu_{app}E} \quad (I.37)$$

où D est le coefficient de diffusion de la particule, lié au rayon particulaire par la loi de Stokes-Einstein, t_d le temps de migration de la particule jusqu'au détecteur, L_d la longueur utile du capillaire, μ_{app} la mobilité électrophorétique de la particule et E l'amplitude du champ électrique appliqué, respectivement [66, 69].

La contribution du gradient de température (effet Joule) peut s'exprimer comme suit :

$$\sigma_T^2 = \frac{k^2 \theta_T^2 R_c^6 \mu_{app} L_d E^5}{1536 D k_T^2} \quad (I.38)$$

où k , θ_T , R_c et k_T sont respectivement la conductivité de l'électrolyte, le coefficient de variation thermique de la mobilité électrophorétique, le rayon interne du capillaire et la conductivité thermique de l'électrolyte de séparation. Les valeurs de θ_T et k_T sont données dans la littérature : $\theta_T = 0,02 \text{ K}^{-1}$ et $k_T = 0,6 \text{ W m}^{-1}\text{K}^{-1}$ pour l'eau [69].

La dispersion par électromigration est un phénomène plus complexe, dépendant à la fois de la mobilité des particules et des ions de l'électrolyte de séparation, ainsi que de leur

concentration. Néanmoins, pour estimer approximativement la contribution induite par la conductivité, une expression analytique simple est couramment utilisée :

$$\sigma_k^2 = \frac{L_d^2}{16} \left(\frac{\Delta k}{k} \right)^2 \quad (\text{I.39})$$

où Δk est la différence de conductivité entre la zone en migration et l'électrolyte de séparation [69].

La dispersion due aux interactions avec la paroi est plus délicate à exprimer, car elle requiert la connaissance des constantes cinétiques qui décrivent la dynamique d'adsorption de des particules. Dans le cas général, σ_{paroi}^2 est directement proportionnelle au produit $v^2 t$, où v est la vitesse de la zone des particules et t le temps de migration. Le coefficient de proportionnalité dépendant de la cinétique de répartition des particules entre la phase mobile (électrolyte de séparation) et la phase stationnaire (paroi interne du capillaire) [69]. En conséquence,

$$\sigma_{\text{paroi}}^2 \propto L_d \mu_{\text{app}} E \quad (\text{I.40})$$

La dispersion liée à l'hétérogénéité électrophorétique peut enfin être exprimée suivant l'équation (I.41) :

$$\sigma_{\text{het}}^2 = \left(\frac{\sigma_\mu}{\mu_{\text{app}}} \right) L_d^2 \quad (\text{I.41})$$

où σ_μ est l'écart-type de la distribution des mobilités effectives des particules de l'échantillon [66].

Basé sur l'observation d'une efficacité de séparation indépendante du champ électrique pour des particules de LPS de diamètre compris entre 70 et 100 nm, dans un système correctement thermostaté, Petersen et Ballou [66] ont émis l'hypothèse que l'hétérogénéité électrophorétique était la source principale de dispersion (> 90 %), la seconde étant l'injection (complément à 100 %). Dans de telles conditions, σ^2 , et par conséquent l'efficacité et la résolution sont indépendantes de E . On peut donc envisager d'augmenter les volumes de détection, le diamètre du capillaire et/ou l'amplitude du champ électrique appliqué, de sorte à améliorer la détection, sans perte notable d'efficacité ou de résolution [66]. Ceci contraste avec la CZE de petites espèces moléculaires pour lesquelles σ_{inj}^2 et σ_D^2 apportent en général les contributions prépondérantes à la variance totale, de sorte que σ^2 diminue lorsque E augmente jusqu'à ce que σ_T^2 devienne également significatif.

D'autres auteurs sont arrivés à la même conclusion et ont attribué cette hétérogénéité électrophorétique à l'hétérogénéité en taille, forme et charge de surface des particules d'une même population [69, 70]. Ainsi, la réduction de la dispersion observée par Duffy et al. [70] en tampon borate, après l'ajout de tensioactifs (SDS), suggère une hétérogénéité de charge de surface partiellement masquée par l'excès de charges négatives apporté par le SDS adsorbé à la surface des PSS et PSC.

Néanmoins, Radko et al. [69] ont montré que pour des valeurs élevées de champ électriques (500 V/cm) et la force ionique utilisée la plus élevée (5 mM), les effets thermiques dans le capillaire peuvent également contribuer de façon significative, voire prépondérante, à la dispersion.

I.4.1.1.3. Influence des paramètres instrumentaux

I.4.1. 1.3.a) Volume et mode d'injection

Peu d'études ont mis en évidence l'influence des paramètres d'injection sur la mobilité électrophorétique des particules. Certains auteurs [57, 67] travaillent indifféremment en mode d'injection électrocinétique ou hydrodynamique, mais la plupart choisissent le mode hydrodynamique afin de ne discriminer aucun composant de l'échantillon sur des critères de taille ou de charge, influençant la mobilité [65].

En mode d'injection hydrodynamique, Vanifatova et al. [56] ont fait varier les paramètres d'injection (pression et temps) et on montré une variation linéaire de la hauteur des pics en fonction de la durée d'injection, pour des populations de LPS non fonctionnalisés, de tailles différentes. Une influence de la quantité d'échantillon injectée sur la mobilité des particules a également été mentionnée par Xue et al. [59], mais sans plus d'explication.

I.4.1.1.3.b) Nature et dimensions du capillaire

L'existence d'interactions hydrophobes entre les particules de LPS et la paroi interne du capillaire a été mentionnée pour la première fois par VanOrman et McIntire [63, 64]. Depuis, certains auteurs [58, 62, 69, 70] ont confirmé la nécessité d'un traitement de surface

du capillaire pour la caractérisation et la séparation de ces particules polymères, tandis que d'autres travaillent indifféremment en silice vierge [56, 61, 65-67, 73, 75].

En ce qui concerne les dimensions du capillaire, Ballou et al. [65] préconisent de diminuer autant que possible le diamètre du capillaire pour une meilleure dissipation de chaleur. Néanmoins, nous pouvons nuancer cet argument en faisant valoir l'intérêt d'augmenter le diamètre du capillaire dans le but de limiter les interactions paroi/particule, si elles existent, ainsi que d'améliorer la sensibilité de la détection UV. Les auteurs [65] mentionnent également qu'une diminution de la longueur du capillaire joue en faveur de l'efficacité et de la résolution pour des mélanges de particules de LPS fonctionnalisés (carboxylate ou sulfate) de diamètre variant entre 30 nm et 1.16 μm . A ceci, nous pouvons ajouter qu'une diminution de la longueur du capillaire serait également favorable à une réduction des éventuelles interactions paroi/particule, en plus de raccourcir la durée totale de l'analyse.

I.4.1.1.3.c) Amplitude du champ électrique appliqué

Les effets d'une variation du champ électrique appliqué sur le comportement électrophorétique de particules de LPS ont été étudiés par quelques auteurs [56, 65, 66, 69].

Dans des conditions de capillaire non thermostaté (température ambiante 24 °C), Ballou et al. [65] observent une meilleure résolution des petites particules (< 200 nm de diamètre) d'un mélange de PSS et PSC aux faibles valeurs de potentiel, et une augmentation de l'efficacité ainsi qu'une diminution du temps de migration pour les plus grosses particules (> 200 nm de diamètre) aux champs électriques les plus élevés. Ils préconisent alors l'utilisation d'un gradient de potentiel pour les séparations. De façon plus générale, les auteurs [65] observent que la mobilité des particules de latex augmente en valeur absolue avec le champ électrique. Une augmentation de l'effet Joule aux champs électriques les plus élevés est alors proposée à l'origine de cet effet. Une seconde explication avancée par les auteurs implique l'effet de relaxation : aux champs élevés, la particule qui se déplace dans le sens opposé à la direction des contre-ions de la double couche électrique se trouverait partiellement « déshabillée » et donc plus directement exposée au champ électrique [65]. Néanmoins, il nous paraît bon de rappeler qu'une telle polarisation, à l'origine de l'effet de relaxation [43],

est plus connue pour générer une force de retardement supplémentaire et ainsi pour réduire la mobilité [18].

La même étude menée en milieu thermostaté [66] a permis de réduire l'influence du champ électrique sur la mobilité : pour des PSC de 100 nm de diamètre, une variation du champ électrique de 430 à 650 V/cm induit une augmentation de mobilité de 10 % en capillaire thermostaté, à comparer à une augmentation de 43 % en système non thermostaté. En outre, dans le cas où les principales sources de dispersion sont la largeur de la zone d'injection et l'hétérogénéité électrophorétique, et où le rapport $\Delta\mu_{ep}/\mu_{ep}^{moyen}$ est indépendant de E, alors E ne devrait pas avoir d'effet sur l'efficacité et la résolution. Cette hypothèse est en accord avec les observations faites par Vanifatova et al. [56] qui montrent que l'efficacité des séparations de LPS non fonctionnalisés (de 50 à 400 nm) n'était pas notablement affectée par une variation du champ électrique de 330 à 500 V/cm, bien que celle-ci génère des différences de valeurs de courant et de temps d'analyse. Dans ce cas, la sélectivité, l'efficacité et donc la résolution des séparations dépendent uniquement des propriétés des particules de l'échantillon dispersées dans l'électrolyte de séparation. Toute stratégie d'optimisation doit alors tendre à augmenter la sélectivité et/ou diminuer le rapport $\sigma_{\mu_{ep}}/\mu_{ep}$ par des modifications chimiques du système particule/électrolyte de séparation [66].

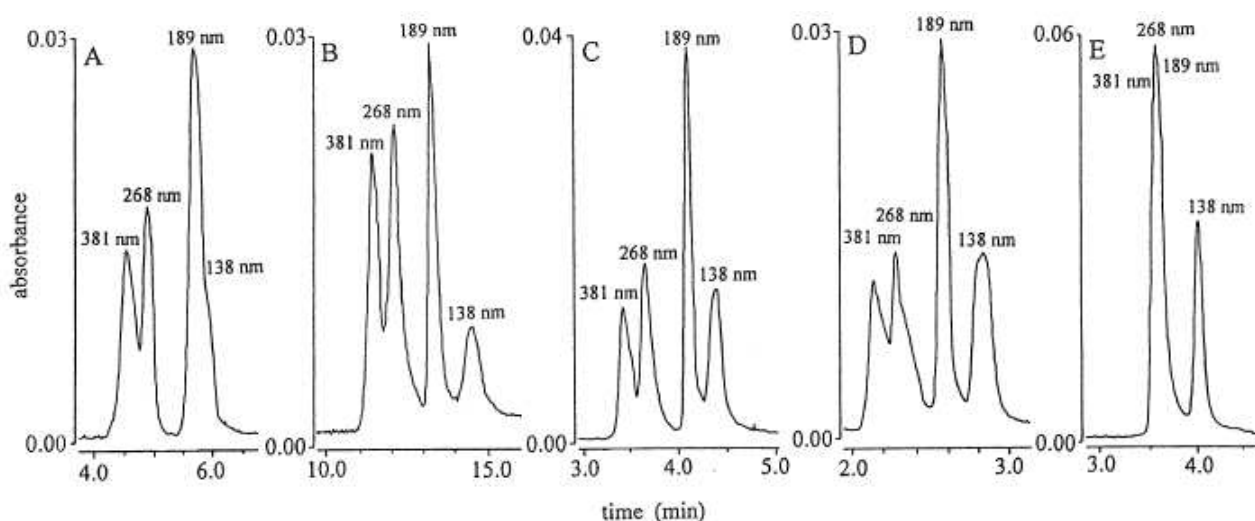


Figure 11 (Radko et al. [69]) : électrophérogrammes montrant la séparation d'un mélange de particules de LPS de rayons égaux à 139, 189, 268 et 381 nm et illustrant simultanément l'influence d'une variation du champ électrique appliqué (de 100 à 500 V/cm) et/ou de la force ionique de l'électrolyte de séparation (de 1,4 à 22, 25 mM). Conditions expérimentales succinctes : (A) TBE/64 = 1,4 mM, 300 V/cm ; (B) TBE/16 = 5,6 mM, 100 V/cm ; (C) TBE/16 = 5,6 mM, 300 V/cm ; (D) TBE/16 = 5,6 mM, 500 V/cm ; (E) TBE/4 = 22,25 mM, 300 V/cm.

Pour Radko et al. [69], l'effet du champ électrique sur l'efficacité ne peut pas être ignoré, du moins pour ce qui concerne les plus grosses particules (PSS de 536 et 762 nm de diamètre) : l'efficacité est une fonction décroissante de l'amplitude du champ électrique appliqué, et l'effet du champ électrique se fait d'autant plus sentir que la taille des particules est importante (Figure 11). Néanmoins, dans la majeure partie des cas, les effets thermiques induits par une augmentation de l'intensité du champ électrique ne suffisent pas à expliquer la dispersion observée.

I.4.1.1.4. Influence de l'électrolyte de séparation

I.4.1. 1.4.a) Le pH

Peu d'auteurs se sont réellement intéressés à cet effet. Lors de l'étude en CZE de particules de LPS non fonctionnalisées, Vanifatova et al. [56] ont montré qu'une augmentation du pH de l'électrolyte de séparation de 6 à 10 était à l'origine d'une augmentation de la mobilité électrophorétique des particules de l'ordre de 20%, en valeur absolue. Pour ce qui est de l'efficacité et de la sélectivité des séparations, elles ne suivent pas une évolution monotone en fonction du pH et sont en outre affectées par la taille des particules étudiées (de 50 à 600 nm de diamètre).

Par ailleurs, Jones et Ballou [65] ont observé une amélioration de la résolution lors de la séparation d'un mélange de PSS et PSC par augmentation du pH (de 6,6 à 10,7) d'un tampon phosphate. Néanmoins, la même étude, menée sur une paire de particules donnée (un PSS de 79 nm et un PSC de 100 nm de diamètre), montre que, même si l'efficacité augmente, la résolution diminue avec une augmentation du pH [65]. Nous pouvons donc conclure que, dans le cas où on envisage la séparation de plus de deux populations de particules, un compromis doit être recherché, car le pH optimal n'est pas nécessairement celui qui permettra d'obtenir la meilleure séparation pour différentes paires de ces particules.

I.4.1.1.4.b) La force ionique

Différents auteurs ont mentionné que les séparations en taille de particules de LPS étaient affectées par la force ionique du milieu [56, 63, 69].

Ainsi, VanOrman et McIntire [63] ont observé les meilleures séparations dans des conditions de faible force ionique (inférieure à 5 mM) et d'écoulement électroosmotique modéré, pour des PSS et PSC de diamètre compris entre 39 et 683 nm.

Pour un mélange de particules de LPS non fonctionnalisés (de 50 à 400 nm de diamètre), Vanifatova et al. [56] indiquent qu'une augmentation de la force ionique de 2,5 à 5 mM permet d'améliorer la résolution. Une nouvelle augmentation de la force ionique, jusqu'à 10 mM, est à l'origine d'une augmentation du temps de migration des particules qui migrent en mode contre-electroosmotique, sans perte d'efficacité de pic. Il est également à noter que dans ces conditions de séparation, les particules les plus grosses (400 et 600 nm de diamètre) co-migrent.

Radko et al. [69] ont pu relier les observations précédentes en explorant une gamme plus large de forces ioniques (de 0,3 à 4,7 mM). Les séparations en taille de quatre populations de PSS (276, 378, 536 et 762 nm de diamètre) se sont avérées dépendantes de la force ionique de l'électrolyte de séparation (tampon TBE, pH 8,3) (Figure 11). Aux forces ioniques les plus élevées (5 mM), les plus petites particules (276 nm de diamètres) peuvent être séparées des autres grâce à leur différence de mobilité. Une diminution de la force ionique permet d'observer la séparation des quatre populations de particules du mélange, les plus grosses particules étant les plus mobiles. Néanmoins il apparaît une valeur de force ionique limite (environ 0,6 mM) en deçà de laquelle, les deux populations de particules de plus petite taille (276 et 378 nm) migrent quasiment à la même vitesse, ce qui se traduit par un recouvrement de pics. En outre, il a été observé que de façon générale, la mobilité des LPS était une fonction croissante de la force ionique. Pour le cas considéré de particules ayant des potentiel- ζ élevés, et dans l'hypothèse de sphères dures, une telle évolution de la mobilité peut être expliquée par la théorie d'Overbeek-Booth [48, 49] et visualisée figure 7.b ($\kappa a > 3$) dans la zone de potentiel à la droite du maximum de mobilité. Une seconde explication avancée par les auteurs [69] implique l'éventuel caractère « poilu » des particules de polystyrènes. Dans ce cas, une diminution de la force ionique de l'électrolyte serait à l'origine d'un déplacement du plan de cisaillement dans la direction opposée à la surface, ce qui par conséquent induirait une diminution du potentiel- ζ , et donc de la mobilité. A ce stade du raisonnement, il apparaît difficile de trancher quant à l'importance de la contribution de chacun des deux mécanismes proposés. Néanmoins, à force ionique fixée, les auteurs [69] proposent que la valeur du potentiel- ζ des particules soit déterminée par l'expansion de la « couche poilue », tandis que

la dépendance en taille de leur mobilité serait gouvernée par la théorie d'Overbeek-Booth [48, 49]. Pour conclure, cette explication ne nous semble pas applicable. En effet, les auteurs [69] considèrent des populations de particules de taille différente mais dont le potentiel- ζ et donc la densité de charge varient également, et sans corrélation avec la taille de ces dernières.

Pour ce qui est de l'efficacité de la séparation, elle se révèle également influencée par la force ionique de l'électrolyte: l'efficacité diminue lorsque la force ionique diminue. Cette évolution s'explique bien dans des conditions où l'étalement du pic peut être considéré comme majoritairement lié à l'hétérogénéité électrophorétique des particules. En effet, une augmentation de l'hétérogénéité électrophorétique est attendue lors d'une diminution de force ionique puisque dans ce domaine l'effet de la distribution en taille sur la distribution des mobilités électrophorétiques s'est montré le plus prononcé. En outre, les auteurs [69] rappellent qu'une possible expansion de la couche « poilue » lors d'une diminution de la force ionique, pourrait d'une certaine façon contribuer à l'hétérogénéité électrophorétique et ne devrait donc pas être exclue. D'un point de vue pratique, pour toute paire de particules de tailles différentes, il existe une force ionique correspondant à une séparation optimale (meilleur compromis entre sélectivité et efficacité). Dans le cas où l'on envisage la séparation de plus de deux populations de particules de tailles différentes, un compromis doit être recherché, car la force ionique optimale n'est pas nécessairement celle qui permettra d'obtenir la meilleure séparation pour différentes paires de ces particules [69]. Dans ces conditions, il nous apparaîtrait intéressant d'envisager un gradient de force ionique pour ce type de séparations en taille.

I.4.1.1.4.c) La composition

Peu d'études se sont intéressées à l'influence de la composition de l'électrolyte de séparation sur la mobilité électrophorétique des particules. Pour des LPS fonctionnalisés acide carboxylique ou acide phenylborique la mobilité dépend de la nature de l'électrolyte de séparation [76] et en particulier de la nature du contre ion (cation). Parmi les cations métalliques mis en jeu (métaux de transition et terres rares), la mobilité des particules carboxylées est d'autant plus réduite (respectivement leur temps de migration, en mode contre électroosmotique) que l'interaction avec le cation est forte. Ces affinités suivent l'ordre de la série d'Irving-Williams (par exemple, $\text{Co (II)} < \text{Ni (II)} < \text{Cu (II)}$), elle-même à mettre en relation avec la décroissance du rayon ionique des ions métalliques de la série. De la même

façon, des interactions borate-saccharides ont pu être mises en évidence, via l'étude de mobilité des particules présentant des groupements acide phénylborique en surface.

I.4.1.1.5. CZE vs LDV : deux techniques complémentaires ?

Il a été mentionné précédemment l'obtention de valeurs de mobilité comparables en CZE et en LDV. Néanmoins, un écart systématique entre les valeurs de mobilité déterminées par l'une ou l'autre des deux techniques a été mis en évidence par VanOrman et McIntire [71] pour une population de LPS donnée (entre 100 et 300 nm de diamètre) : à fraction volumique en particule et milieu de dispersion identiques, les mesures en CZE sont en moyenne 10 % plus élevées. Un écart similaire a pu être observé sur les mobilités de LPS (300-1100 nm de diamètre) mesurées en présence de dodécylsulfate de sodium (SDS) [77]. En outre, lorsque le diamètre des particules de latex est réduit (100 nm), la valeur de mobilité absolue obtenue en CZE est alors presque deux fois supérieure à celle obtenue par LDV. La cause d'un tel écart n'a pas été expliquée, mais provient probablement des conditions inhérentes à chaque technique. Les auteurs [77] ont postulé qu'une polarisation plus prononcée de la double couche, due aux champs électriques extérieurs, d'amplitude plus importante en CZE (quelques centaines de V/cm) qu'en LDV (quelques V/cm), pourrait être la cause de cette augmentation de mobilité. Néanmoins, une telle polarisation induirait un effet de relaxation [43] connu pour être à l'origine d'une force de retard supplémentaire et ainsi pour réduire la mobilité [18].

Fourest et al. [67, 68], au contraire, mentionnent des valeurs de mobilité électrophorétique systématiquement plus faibles lorsqu'elles sont mesurées en CZE. Néanmoins les valeurs obtenues en LDV et en CZE n'apparaissent pas comparables dans cette étude puisque la concentration en particules ainsi que la nature du milieu de dispersion varient d'une technique à l'autre : les particules sont à 10^{-4} g/mL dans l'eau pour leur caractérisation en LDV et à 10^{-5} g/mL dans l'eau pour leur caractérisation en CZE, avec pour électrolyte de séparation un tampon phosphate 0,5 mM, pH 7. La plus faible mobilité mesurée en CZE peut ainsi être liée à un effet de la force ionique (diminution du potentiel- ζ), mais également à un effet de la concentration en particules déjà mis en évidence en LDV par les auteurs [67].

Un bilan peut finalement être dressé concernant les avantages et inconvénients inhérents à chaque technique. Les particules sont très sensibles à leur environnement, en particulier en termes de stabilité colloïdale. De ce point de vue, la LDV permet de les étudier dans leur milieu, tandis que la CE impose le choix d'un électrolyte de séparation [67, 68], entraînant ainsi une modification des propriétés électriques de surface des particules. Le choix de l'électrolyte est d'autant plus délicat qu'il ne doit pas uniquement satisfaire aux exigences des performances analytiques de la CE, mais également garantir la stabilité des particules étudiées. En outre, des interactions avec la paroi interne des capillaires en silice vierge peuvent fausser les mesures de mobilités réalisées en CZE. De son côté la CZE a l'avantage d'être une technique automatisée qui ne requiert qu'une très faible quantité d'échantillon à analyser [71]. En outre, elle apporte la sélectivité d'une technique séparative et permet d'accéder aux paramètres de distribution en taille et de densité de charge ainsi qu'à la caractérisation de mélanges de populations de particules de tailles et de mobilités proches. Comparativement, la LDV n'est pas ou peu sélective et introduit, de plus, une ségrégation en taille par son mode de détection, de sorte que le signal des grosses particules « écrase » celui des plus petites [67, 68]. De fait, les deux techniques apparaissent comme complémentaires l'une de l'autre.

I.4.1.1.6. Modes de détection et détection de particules individuelles

Le mode de détection le plus courant en CE est l'absorbance UV. Vanifatova et al. observent [56] des spectres d'absorbance UV différents d'une taille de particule à une autre, dans le cas de suspensions de LPS non fonctionnalisés (sur une gamme de 50 à 600 nm de diamètre, fraction volumique en particule $5 \cdot 10^{-3}$ %). Ces spectres montrent un maximum dans le bas UV qui se déplace dans le sens des longueurs d'ondes croissantes lorsque la taille des particules augmente. Pour des suspensions de particules de 400 et 600 nm de diamètre, l'absorbance devient alors pratiquement indépendante de la longueur d'onde et se caractérise par un décalage de la ligne de base au passage des particules [56]. Ainsi, la sensibilité de la détection pour une particule de taille donnée dépendra de la longueur d'onde choisie. Ces propriétés ont pu être exploitées pour l'identification des pics de particules de LPS de différentes tailles [77], leur séparation ayant été enregistrée à deux longueurs d'ondes [18]. Les limites de détection mentionnées dans la littérature sont donc fonction de la taille des particules considérées à une longueur d'onde donnée. Ainsi, dans le cas de particules de LPS

détectées par absorbance UV à 225 nm, VanOrman et McIntire [63] déterminent une quantité minimum de particules détectable égale à 3,6 millions (121 pg) et 2000 (367 pg) pour des particules de 39 et 683 nm de diamètre, respectivement. En outre, dans les conditions de l'étude (tampon ACES 1mM, pH 5,8), les auteurs [63] n'observent qu'un décalage de la ligne de base lors de la détection UV ($\lambda = 225$ nm), de particules de 1 μ m de diamètre, définissant ainsi une limite de détection en taille. D'un point de vue plus qualitatif, la caractérisation, par Rezenom et al. [61], de populations de particules de PS de diamètre compris entre 57 et 754 nm a donné lieu à des pics étroits (4-8 s) en détection UV ($\lambda = 210$ nm), tandis que le pic de particules de 992 nm de diamètre est relativement large (autour de 100 s) et présente un faible rapport signal sur bruit (Figure 10). De ce fait, le détecteur UV commercial utilisé n'apparaît pas assez sensible pour détecter l'absorbance et/ou la lumière diffusée par des particules à l'état individuel. En outre, sa vitesse d'acquisition ne serait pas assez rapide pour résoudre les signaux générés par chaque particule individuellement (temps de montée 0,1 s) [61].

Plus récemment, la CZE a été utilisée pour la caractérisation individuelle de particules de polystyrène, couplée à des méthodes de détection sensibles telles que la fluorescence induite par laser (LIF) [60, 62, 70] et la diffusion de lumière laser (LLS) [61, 62, 78]. L'intérêt de cette approche consiste à s'affranchir des perturbations inhérentes au voisinage d'autres particules [2, 24], susceptibles d'altérer le mouvement d'une particule, et donc de biaiser les mesures de mobilité réalisées dans un mode de détection nécessitant un nombre élevé de particules [70].

La technique de détection la plus courante pour la caractérisation individuelle de particules séparées en CZE est le LIF : polystyrènes [70], liposomes [79], noyaux cellulaires [80], mitochondries [81], organites [82], plaquettes [83]. Le couplage CZE-LIF a également permis de déterminer la mobilité électrophorétique ainsi que l'intensité de fluorescence de LPS fluorescents de diamètres différents (200 nm à 6 μ m) [70]. Des LPS fluorescents aussi petits que 200 nm de diamètre ont pu être détectés. Les électrophérogrammes obtenus après injection d'un volume de particules en suspension sont caractérisés par la présence de nombreux pics fins ou « spikes », chacun associé à la détection d'un unique événement (Figure 12). Les électrophérogrammes obtenus après injection d'une particule unique, présentent un unique « spike » dont le temps de migration se situe dans la fenêtre définie par les multiples « spikes » correspondant à l'analyse d'une suspension de particules identiques (Figure 12). Chaque particule détectée va donc être à l'origine d'un « spike » dont l'intensité

de fluorescence est fonction de sa taille, et dont le temps de migration caractéristique est utilisé dans le calcul de mobilité électrophorétique. Une représentation en deux dimensions de ces propriétés permet alors d'identifier la composition d'un mélange de particules, malgré l'existence de zones de chevauchement sur la valeur de l'une des deux propriétés mesurées [70]. D'un point de vue pratique, le LIF nécessite que les particules soient naturellement fluorescentes ou marquées par un marqueur fluorescent, ce qui n'est pas toujours possible.

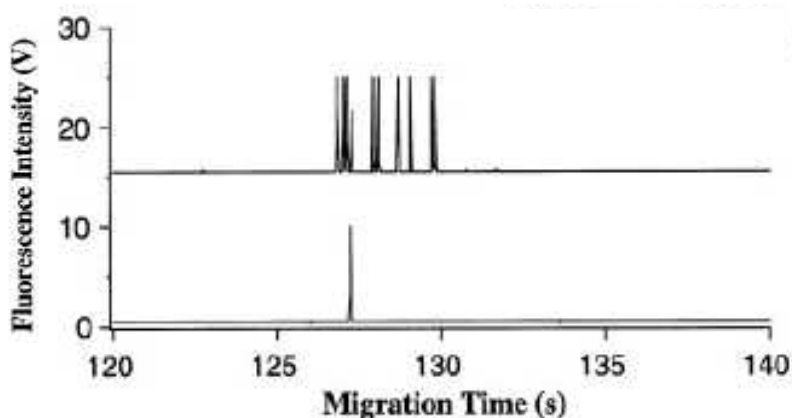


Figure 12 (Duffy et al. [70]) : électrophérogrammes montrant la détection individuelle des particules d'une population de PSC de 6 μm de diamètre dans un tampon borate 10 mM (pH 9,3) + SDS 10 mM. En haut : injection électrocinétique (-100 V/cm) de plusieurs particules de la suspension. En bas : siphonage sélectif d'une unique particule de la suspension.

La LLS est une alternative intéressante qui représente un mode de détection plus universel comparativement au LIF. Le couplage EC-LLS a été utilisé comme méthode de comptage dans le cadre de dosages immunologiques impliquant des particules de latex fonctionnalisées par des anticorps [78]: les événements de diffusion générés par les particules agglutinées sont distingués de ceux produits par les particules individualisées, puis comptabilisés, pour le dosage indirecte de la glucose 6 phosphate déhydrogénase (G6PDH). Une limite de détection de l'ordre de la zeptomole (quelques centaines de molécules) a ainsi été atteinte. La séparation et la détection d'un mélange de sept populations de particules de polystyrène, différentes par leur taille (57 à 992 nm de diamètre), ont également été réalisées par Rezenom et al. [61] à l'aide d'un appareillage d'électrophorèse capillaire couplé à un détecteur à diffusion de lumière laser. Comme en détection de fluorescence, chaque population de particules est à l'origine d'un électrophérogramme constitué de nombreux « spikes » situés dans une fenêtre de migration bien définie, chaque « spike » étant le résultat de la lumière diffusée par une particule individuelle. La fenêtre de détection ainsi définie correspond bien au temps de migration du pic d'absorbance observé en détection UV ($\lambda = 210$ nm) lors de la caractérisation de la même population de particules. En couplage CE-LLS, la plus petite particule détectée par les auteurs [61] présente un diamètre de 110 nm, la largeur du pic caractéristique de la détection d'une particule individuelle n'excède pas la dizaine de milliseconde et l'intensité de diffusion se révèle être une fonction globalement croissante du

diamètre particulaire, comme le prédit la théorie de Mie [84]. L'efficacité de détection définie comme le rapport du nombre d'évènements de diffusion sur le nombre de particules théoriquement injectées est comprise entre 38 et 57 % en fonction de la taille des particules. Les plus faibles efficacités sont obtenues pour les plus petites tailles de particules et les concentrations en particules les plus élevées. Comme la LLS n'est pas une méthode de détection sélective, des expériences en CE-LIF et CE-LLS ont été menées en parallèle sur des particules fluorescentes. Le nombre de particules détectées par chacune des deux méthodes n'est pas significativement différent. Cette observation permet de confirmer l'origine des évènements de diffusion observés en LLS, attribués aux particules d'intérêt, et élimine l'hypothèse de pics parasites liés à la présence de poussières ou de bulles d'air.

Le problème de l'absence de sélectivité du détecteur à diffusion de la lumière laser est néanmoins mis en évidence par Andreyev et Arriaga [62] qui proposent un détecteur capable d'enregistrer simultanément les évènements de diffusion et de fluorescence générés par des particules individuelles préalablement séparées en CE. Ainsi, lorsque les particules étudiées sont fluorescentes (dans leur cas, des particules de polystyrène de 200 nm à 1 μ m de diamètre), le signal de fluorescence permet d'identifier les évènements de diffusion générés par les particules au milieu d'autres évènements de diffusion générés, eux, par des contaminants. Une représentation en deux dimensions de ces propriétés (fluorescence vs diffusion) permet l'identification de groupes d'évènements caractéristiques de chacune des deux populations de particules d'un mélange (500 nm et 1 μ m de diamètre), ainsi que du contaminant [62].

I.4.1.2. Les fullerènes

Depuis la découverte du Buckminsterfullerène (C_{60}) produit par vaporisation de graphite [85], de nombreuses techniques se sont développées pour la synthèse [86, 87], la purification [88, 89] et l'utilisation en sciences des matériaux [90, 91] des fullerènes et de leurs dérivés de toutes tailles. L'une des applications majeures des fullerènes C_{60} et C_{70} ainsi que de leurs dérivés repose sur leur utilisation dans le domaine de la médecine en tant que composés biologiquement actifs [92, 93]. Puisque la stabilité des fullerènes est limitée aux solvants non-aqueux, tels que l'hexane, le toluène et le dichlorométhane, les fullerènes ne peuvent pas être utilisés directement à des fins thérapeutiques. Dans le but d'améliorer leur

dispersion en solutions aqueuses, trois approches ont été proposées dans la littérature. La première ne nécessite pas de modification chimique des fullerènes et est obtenue par leur incorporation dans la cavité hydrophobe des liposomes, des micelles, et autres systèmes hydrosolubles [94, 95]. Une seconde approche consiste à associer au fullerène un composé volumineux hydrosoluble [96, 97], couramment des polymères ou des dendrimères [98]. Enfin, la dernière approche repose sur un greffage covalent de petits groupements polaires, hydrophiles, à la surface des fullerènes [99, 100]. Les propriétés physico-chimiques des fullerènes et de leurs dérivés hydrophiles ont été étudiées au cours des 15 dernières années. A ce sujet, quelques articles font référence à l'utilisation de la CE [101-106].

Un mélange de fullerènes (C_{60}/C_{70}) a été séparé pour la première fois, ainsi que des hydrocarbures aromatiques polycycliques (PAH), par électrochromatographie sur colonnes capillaires (CEC) remplies par de la silice greffée octadécyle ($3\text{ }\mu\text{m}$ de diamètre) [101]. En raison de leur instabilité en milieux aqueux, des phases mobiles organiques ont été utilisées à cette occasion (acétonitrile modifié avec du chlorure de méthyle ou tétrahydrofurane). Des efficacités allant jusqu'à $1,6.10^5$ plateaux par mètre sont rapportées pour ces systèmes en CEC en milieu non aqueux.

La première étude montrant l'analyse de ces mêmes composés hautement hydrophobes (PAHs, n-alkylphénone, et fullerènes) a été publiée en 1995 par chromatographie électrocinétique micellaire capillaire (MEKC) en présence d'un polymère ionique [102]. L'utilisation d'un tampon purement aqueux (phosphate/borate) pour l'analyse par MEKC de fullerènes C_{60} et C_{70} n'a été décrite qu'en 2000 [103]. Le comportement électrophorétique de ces fullerènes, stabilisés par l'adsorption de tensioactifs en surface, a ainsi été examiné. Toutefois, l'interprétation des séparations, pour un mélange de C_{60} et C_{70} , en présence de micelles de SDS reste complexe. Une meilleure connaissance des processus d'agrégation et d'encapsulation des C_{60} et C_{70} en présence de SDS semble nécessaire. Le nombre moyen d'agrégats par micelle ainsi que la taille des fullerènes qui s'agrègent au coeur de la micelle restent également à définir.

Tamisier-Karolak et al. [104] ont par la suite rendu compte du comportement électrophorétique d'un dendro- C_{60} fullerènes (DF) de haute stabilité dans l'eau. L'électrophorèse en milieu libre (tampon phosphate 67 mM, pH 7,4) de ce DF est rendue difficile du fait de sa mobilité voisine de l'EOF, en valeur absolue. Une réduction de l'EOF est

obtenue par ajout d'hydroxypropylcellulose (HPC) à l'électrolyte de séparation. Les conditions opératoires optimales en termes de rapidité et d'efficacité de séparation ont pu être définies à l'aide d'un plan d'expérience, et sont obtenues expérimentalement dans un électrolyte phosphate (75 mM, pH 6)/méthanol (70/30 v/v) contenant de l'HPC à 0,075%. Cette étude nous laisse néanmoins penser qu'il y aurait un intérêt à poursuivre de telles caractérisations dans un capillaire modifié, en absence d'EOF. Une gamme plus large de fullerènes hydrophiles (carboxyfullerène (CF) et dendrofullerène (DF)) a été étudiée par Chan et al. [105]. Ces dérivés chargés du fullerène C_{60} ont été caractérisés par CZE au sein de capillaires en silice vierge ou modifiés (absence d'EOF). La résolution apparente des deux nanoparticules s'est révélée légèrement plus faible en capillaire modifié, mais la durée de l'analyse y est réduite de moitié. Alors que la séparation du DF en MEKC aboutit à l'observation d'un plus grand nombre de pics, ce qui semble révéler une plus grande hétérogénéité de l'échantillon, le profil du CF ne semble pas affecté par la présence (ou l'absence) de micelles de SDS dans l'électrolyte de séparation (tétraborate de sodium 10 mM, pH 9,2). La présence de CF et DF a été quantifiée dans des échantillons de sérum humain dopés en nanoparticules par MEKC et CZE avec des limites de détection comprises entre de 0,5 à 6 g / mL.

Enfin, la CE a été utilisée comme méthode alternative à la chromatographie ionique (IC) [106] pour le contrôle de la pureté d'un échantillon de Th- $C_{66}(\text{COOH})_{12}$ (fullerène C_{60} fonctionnalisé en surface par 6 molécules d'acide malonique disposées de façon hautement symétrique). Le Th- $C_{66}(\text{COOH})_{12}$ et ses produits de dégradation (issus d'une décarboxylation partielle) ont pu être identifiés et séparés. Le Th- $C_{66}(\text{COOH})_{12}$, en toute logique le plus chargé, présente le temps de migration le plus court en mode de polarité positive. Les auteurs expliquent cet ordre de sortie inattendu par l'existence d'un possible effet de relaxation, ce qui nous apparaît peu probable dans l'hypothèse où la décarboxylation n'agit pas sur le diamètre des nanoparticules. Pour rendre compte des observations réalisées par les auteurs, la CE ne semble pas permettre de séparer autant de pics que la chromatographie ionique à gradient d'élution. Bien que la CE ne soit pas en mesure de remplacer l'IC en tant que technique préparative, des études complémentaires devraient néanmoins être envisagées avant de conclure quant à l'intérêt de la CE pour ce type d'échantillon, par rapport à l'IC.

I.4.1.3. Les nanotubes de carbone

Les propriétés physiques et chimiques des nanotubes de carbone (CNTs) présentent un grand intérêt en vue d'applications, dans le domaine des matériaux ultra légers ou de haute résistance, de l'électronique à l'échelle nanométrique [107], des capteurs [108] ou encore du stockage d'hydrogène [109-111]. Les méthodes de fabrication classiques [112-114] de ces CNTs produisent entre 50 et 95 % de matériau pur, le complément correspondant à du carbone amorphe, graphitique, ou à des fullerènes. Les CNTs ainsi obtenus peuvent varier en longueur, diamètre et structure. Comme un grand nombre des propriétés d'intérêt des CNTs dépendent de ces paramètres dimensionnels et structuraux, leur purification devient un enjeu primordial pour le développement de leur technologie [115]. Les méthodes électrophorétiques ont montré un potentiel pour la caractérisation et la purification des CNTs. En particulier, l'électrophorèse capillaire (CE) a été utilisée pour la séparation en taille de nanotubes de carbone simple-parois (SWNTs) de diamètres et longueurs variables, ainsi que l'élimination du matériau amorphe [115, 116]. En présence de tensioactifs (SDS), les CNTs se chargent négativement du fait des interactions spécifiques entre la chaîne alkyle des tensioactifs et la surface des CNTs [117]. Les répulsions électrostatiques qui en résultent sont à l'origine de la stabilité des suspensions de CNTs.

Des SWNTs ont été dispersés par ultrasonication dans une solution aqueuse de SDS à 0,5 % puis séparés dans un électrolyte constitué de base trizma à 50 mM, toujours en présence de tensioactifs à 0,5 % [115]. Du SDS à des concentrations supérieures à la concentration micellaire critique (0,24 %), avait déjà été utilisé pour la séparation d'autres matériaux carbonés (fullerènes) [103] en chromatographie électrocinétique micellaire (MEKC). Néanmoins, dans le cas des SWNTs, l'utilisation d'un milieu micellaire n'a pas le même intérêt que dans le cadre des applications en MEKC classique. En effet, les SWNTs sont trop larges pour s'inclure au cœur des micelles, il en résulte un système monophasique SDS/SWNTs/eau dans lequel les CNTs chargés négativement sont en suspension stable [117].

En détection Raman [115, 116], les électrophérogrammes observés montrent une succession de pics très fins (1s de largeur), ou spikes, attribués à des fractions discrètes de CNTs [115], la finesse des pics étant principalement liée à la faible quantité de matière présente dans chaque fraction considérée (Figure 13). Une séparation en taille [115] est

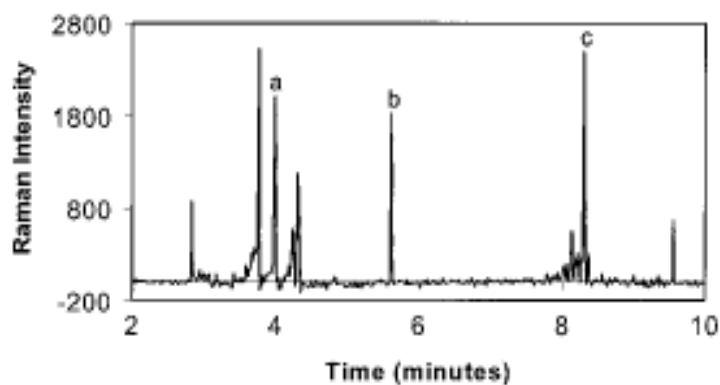


Figure 13 (Doorn et al. [115]) : électrophérogramme montrant la séparation en taille de SWNTs de diamètre uniforme et de longueurs différentes, croissantes de a à c. Le signal enregistré en fonction du temps correspond à l'intensité raman diffusée à 1591 cm^{-1} .

confirmée par des études en microscopie à force atomique (AFM) menées sur les fractions collectées, les tubes les plus courts présentant le temps de résidence le plus court au sein du capillaire, tandis que les tubes les plus longs et les petits agrégats sont détectés le plus tard en mode de polarité normale. Un mécanisme de séparation est proposé pour expliquer ces observations [115]. Ainsi, sous l'influence d'un champ électrique extérieur, les auteurs supposent que les CNTs s'alignent suivant l'axe du champ [118] et que, dans le cas de tubes de diamètre uniforme (1,3 nm), les différences de densité de charge linéaire ne sont pas significatives entre tubes de longueurs différentes (75 nm à 2 μm). Dans ces conditions, on s'attend à ce que les CNTs ne puissent pas être séparés en fonction de leur mobilité, ce qui implique que d'autres forces que les forces électrophorétiques soient responsables de la séparation. En effet, d'après les auteurs, le mouvement Brownien et l'agitation thermique tendent à écarter les CNTs de leur position d'équilibre, les tubes les plus courts étant les plus sensibles à ce phénomène. Les oscillations résultantes seraient donc à l'origine d'une résistance hydrodynamique au déplacement électrophorétique des CNTs, résistance qui augmente lorsque la longueur du tube diminue. Ceci explique donc que les tubes les plus courts soient détectés aux temps de migration les plus courts en mode contre-électroosmotique. Dans le cas de petits agrégats en forme de faisceaux de CNTs, une densité de charge linéaire plus importante serait attendue du fait de leur diamètre plus élevé. Par comparaison avec un tube individuel de même longueur, la mobilité électrophorétique de ces agrégats serait donc plus grande, ce qui expliquerait leur temps de sortie plus long [115]. Dans un second article [116], les auteurs ont montré que le potentiel de la CE pour les séparations de SWNTs n'était pas limité à des différences de longueur mais pouvait également s'appliquer à des différences de diamètre ou section transverse. Dans le cas de faisceaux de CNTs maintenus dans leur structure agrégée par la poly(vinylpyrrolidone) (PVP) agissant comme un liant [116], différentes fractions sont séparées en fonction des propriétés électriques et éventuellement de la taille des faisceaux qui les constituent, dans un électrolyte constitué de base Trizma à 50 mM uniquement. Pour des CNTs dispersés et séparés dans ce

même électrolyte, mais en présence de micelles (SDS, 0,5 %) cette fois [116], les gros faisceaux ont pu être distingués des plus petits et une fraction relativement pure de CNTs, dispersés sous forme individuelle, a également pu être isolée. Le changement de composition d'une fraction de CNTs à une autre a pu être observé au cours de la séparation grâce à une détection Raman en temps réel car l'empreinte vibrationnelle des CNTs est affectée par une variation de leur diamètre.

Des nanotubes de carbone simple-parois (SWNTs) et multiparois (MWNTs) [119] dispersés dans une solution de polymère (HPMC, 86 000 Da) à 0,025 % (g / 100 mL), en présence de SDS, ont montré une bonne stabilité dans un milieu de séparation exempt de tensioactif, et ont ainsi pu être séparés dans un électrolyte contenant le polymère uniquement (Figure 14). Dans ces conditions, les auteurs observent une amélioration de la stabilité et de la reproductibilité du système ainsi qu'une diminution importante du nombre des agrégats (par comparaison aux séparations décrites en milieu micellaires [115, 116]) qui seraient le résultat d'une adsorption de la HPMC à la surface des CNTs. En mode de polarité normale, les auteurs observent une augmentation du temps de sortie des CNTs avec une diminution globale de leur taille et/ou volume. Bien que ces observations soient cohérentes avec les ordres de migration rapportés en référence [116], le mécanisme de séparation reste peu clair et nous apparaît incompatible avec celui proposé en référence [115]. L'interaction des CNTs avec du pentachlorophenol comme molécule test [119] a permis de révéler différents comportements entre les SWNTs. Les différences de capacités d'adsorption observées ont été attribuées à des différences de propriétés physico-chimiques de surface des SWNTs résultant de leur mode de production.

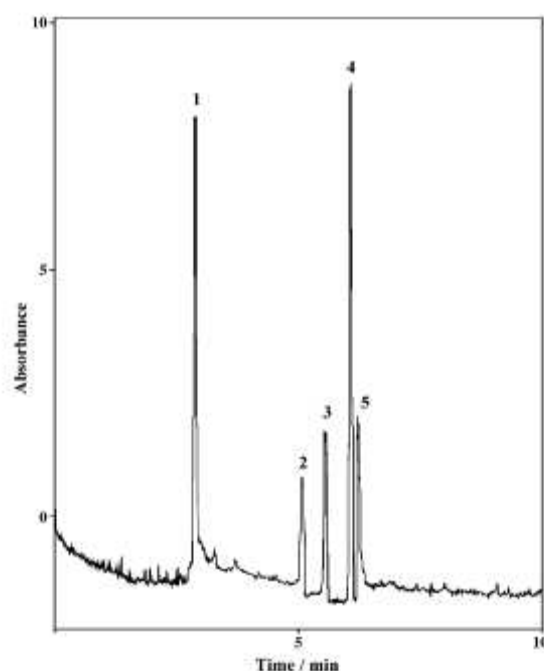


Figure 14 (Suarez et al. [119]) : électrophérogramme montrant la séparation d'un mélange de SWNTs (SWNT₁ (1,2-1,5 nm x 2-5 µm), SWNT₂ (0,7-1,2 nm x 2-20 µm)) et MWNTs (20-50 nm x 5-20 µm) dans un électrolyte acétate d'ammonium 5 mM, pH 8, contenant de la HPMC à 0,025 % (g / 100 mL). Identification des pics : (1) MWNT ; (2) MWNT ; (3) SWNT₂ ; (4) SWNT₁ ; (5) SWNT₂.

Plus récemment, le pouvoir solubilisant des liquides ioniques vis-à-vis des CNTs a été illustré [120]. Des faisceaux de SWNTs ont été dispersés dans du tétrafluoroborate de 1-butyl-3-méthylimidazolium, en présence de SDS, et analysés par électrophorèse capillaire dans un électrolyte de séparation constitué d'acide formique 50 mM, pH 2. Le processus par lequel les SWNTs se dispersent dans le liquide ionique a été étudié par spectroscopie Raman. Les changements de forme et de position des bandes spectrales observés sont attribués à une désolidarisation des faisceaux de SWNTs en interaction avec le liquide ionique. L'analyse de deux types distincts de faisceaux commerciaux est à l'origine de profils électrophorétiques caractéristiques qui pourraient être utilisés dans le contrôle de la pureté des SWNTs.

Enfin, des MWNTs ont été fonctionnalisés avec de l'isothiocyanate de fluorescéine dans le but de constituer des sondes moléculaires (CNTPs) [121]. La distribution de ces CNTPs dans une levure a été quantitativement déterminée par électrophorèse capillaire couplée à un détecteur de fluorescence induite par laser. La sensibilité de la détection des CNTP est alors grandement améliorée par comparaison à l'absorbance UV et la détection Raman. La pénétration des CNTPs dans les levures a été étudiée en fonction du temps et de la température. Un coefficient de perméabilité apparent caractérisant l'afflux des CNTPs dans la levure a été calculé suggérant un mécanisme de pénétration par endocytose. Cette étude implique que des CNTPs pourraient être de bons vecteurs de principes actifs.

I.4.2. Particules inorganiques

I.4.2.1. Les particules d'oxydes

En l'absence d'adsorption spécifique d'ions, les propriétés de surface des particules d'oxyde sont principalement gouvernées, outre la nature de l'oxyde, par les effets du pH et, dans une moindre mesure, par la force ionique, ou la concentration en sel, du milieu de dispersion [122]. En solutions aqueuses, de façon très simplifiée, une particule d'oxyde métallique peut être considérée comme un ampholyte. La surface de telles particules est chargée positivement aux faibles pH où la réaction (I.42) prédomine, et chargée négativement à des pH plus élevés où c'est la réaction (I.43) qui a lieu.





où K_+ et K_- sont les constantes de dissociation associées aux réactions (I.42) et (I.43) respectivement.

De façon analogue au traitement des espèces ionisables en CE, la mobilité électrophorétique des particules d'oxydes métalliques peut s'exprimer comme la somme pondérée de deux mobilités extrêmes, μ_+ et μ_- , correspondant à la mobilité des particules dont les groupements hydroxyle de surface sont entièrement sous la forme M-OH_2^+ et M-O^- , respectivement :

$$\mu_{ep} = F_+ \mu_+ + F_- \mu_- \quad (\text{I.44})$$

où les coefficients F_+ et F_- représentent les fractions molaires correspondant aux formes de charge positive et négative, respectivement.

Au final, l'expression de la mobilité en fonction du pH et des paramètres μ_+ , μ_- , K_+ , K_- est donnée par l'équation (I.45)

$$\mu_{ep} = \frac{\mu_+ + \frac{\mu_- K_+ K_-}{[H^+]^2}}{1 + \frac{K_+}{[H^+]} + \frac{K_+ K_-}{[H^+]^2}} \quad (\text{I.45})$$

Le point isoélectrique (pI) est la valeur de pH pour laquelle le potentiel- ζ est nul. Au pI, aucun phénomène électrocinétique n'est observé, de sorte que l'expression analytique du pI ($= \text{pH}_{\mu_{ep}=0}$) suit la relation (I.46) :

$$\text{pH}_{\mu_{ep}=0} = \frac{-\log\left(-\frac{K_+ K_- \mu_-}{\mu_+}\right)}{2} \quad (\text{I.46})$$

I.4.2.1.1. Séparation et caractérisation en électrophorèse capillaire

La première tentative de séparation de colloïdes inorganiques a été menée par McCormick [123] en 1991 sur des particules de silice. Des séparations en taille ont été obtenues pour des mélanges de populations de particules de diamètre compris entre 5 et 500 nm en tampon ammoniacal pH 9, les plus grosses particules présentant dans ces conditions les mobilités électrophorétiques les plus élevées (Figure 15).

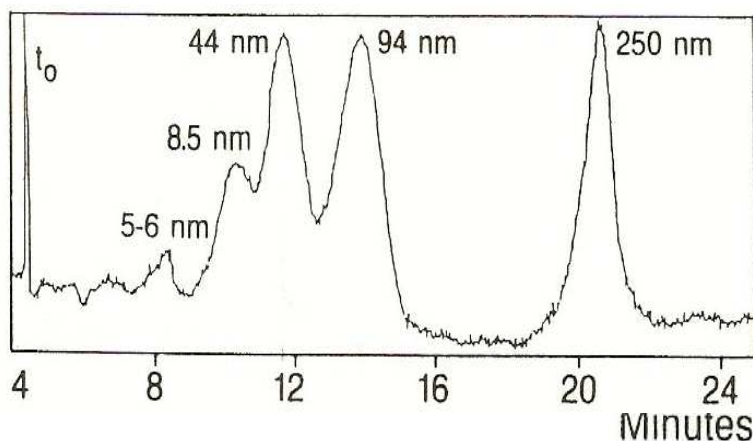


Figure 15 (McCormick [123]) : électrophérogramme montrant la séparation en taille d'un mélange de populations de particules de SiO_2 dans un tampon NH_4OH 2,5 mM + NH_4Cl 4,65 mM, pH 9.

Par ailleurs, Vanifatova et al. ont montré que la mobilité de particules de silice (de diamètre compris entre 50 et 442 nm) [124] était dépendante du pH et de la concentration en co-ion (phosphate) de l'électrolyte de séparation. En milieu alcalin, la mobilité des particules augmente en valeur absolue avec le diamètre des particules, ce qui nous apparaît cohérent avec les prédictions des théories électrocinétiques, en supposant une valeur de potentiel- ζ uniforme entre toutes les populations de particules à κ constant. Néanmoins, en milieu acide ($\text{pH} < 6$) un changement est observé dans l'ordre de migration : les plus grosses particules (355 et 442 nm) comigrent et deviennent moins mobiles que les particules de 50 et 100 nm de diamètre. Les auteurs attribuent ces observations à des différences de propriétés de surface, et donc de pK_a des groupements silanol, pour des particules provenant de fournisseurs différents. La sélectivité de la séparation d'un mélange de particules de SiO_2 peut être contrôlée en jouant sur le pH et la concentration de l'électrolyte, et optimisée en fonction des constituants du mélange [124]. Pour des paires de populations de particules de diamètres voisins, les conditions de séparation optimum diffèrent entre les petites et les grosses particules. Pour les grosses particules (355 et 442 nm de diamètre) la sélectivité augmente avec une augmentation du pH et une diminution de la concentration en phosphate de l'électrolyte de séparation. En ce qui concerne les petites particules (50 et 100 nm de diamètre), la sélectivité augmente avec une diminution du pH et de la concentration en phosphate de l'électrolyte de séparation. Ces observations ont été expliquées à partir des théories de Overbeek-Booth [48, 49] qui tiennent compte du retard électrophorétique et de l'effet de relaxation. Les mêmes effets du pH (5 à 11) et de la force ionique (4,37 à 17,5 mM) de l'électrolyte de séparation (acide orthophosphorique/acide acétique/acide borique/hydroxyde de sodium) sur la mobilité électrophorétique de quantum dots luminescents encapsulés dans une coque de silice (15 à 107 nm de diamètre) ont été mis en évidence par Pyell [125].

Dans le domaine de κa exploré (1,6 à 23,3) par Pyell [125], la dépendance en taille de la mobilité (fonction croissante de la taille des particules) a pu être exploitée pour l'étude de la

dispersion des profils électrophorétiques: connaissant la valeur du potentiel- ζ (estimée par superposition des points expérimentaux à la représentation des solutions numériques exactes des équations de transport de Wiersema et al. [43]) et la force ionique de l'électrolyte, une correspondance a pu être établie entre les profils de mobilités obtenus en CZE et les histogrammes de distribution en taille établis en MET, via l'expression analytique approchée de la mobilité proposée par Ohshima et al. [54] (valable pour toutes valeurs de k_a et des valeurs de potentiel- ζ inférieures à 100 mV). La corrélation de la forme du pic électrophorétique de nanoparticules colloïdale à la distribution en taille avait déjà été montrée sur des particules de PS [59] et d'Or [126]. Cette approche nous permet de conclure que l'hétérogénéité électrophorétique, déjà mentionnée par d'autres auteurs comme la source de dispersion majeure du pic électrophorétique de nanoparticules colloïdales, est due à l'hétérogénéité en taille des particules d'une même population.

Dès 1996, Ballou et al. [122, 127, 128] ont montré l'intérêt de la caractérisation de particules d'oxydes métalliques (TiO_2 , Al_2O_3 , Fe_2O_3 , Fe_3O_4) en CZE, malgré les difficultés rencontrées au préalable par Fourest et al. [67] qui ont décrit la propension des particules de SiO_2 , TiO_2 , Al_2O_3 à l'aggrégation, en fonction de la nature de l'électrolyte de séparation.

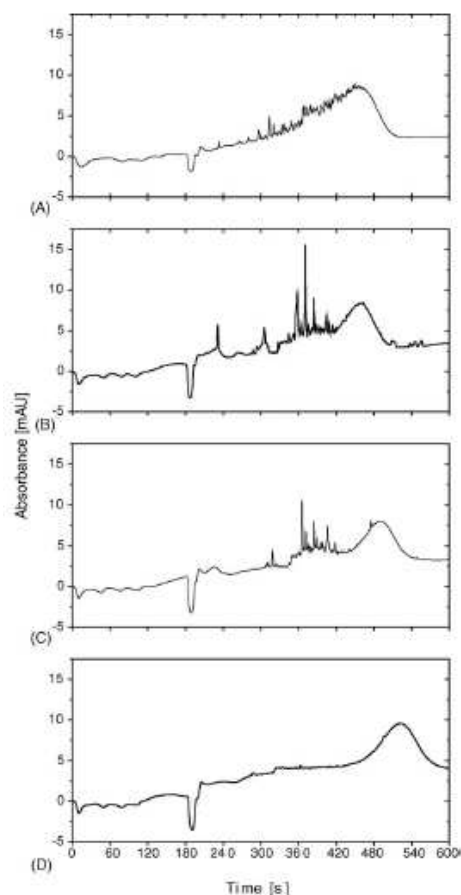
Une expression analytique (I.45) [122] basée sur un modèle de dissociation à deux sites a été proposée pour décrire le comportement électrophorétique de ces particules en fonction du pH. Les valeurs de pI ainsi estimées (entre 5 et 7) se sont montrées en bon accord avec les valeurs de la littérature. Néanmoins, il est à noter que des écart-types importants ont été obtenus pour les paramètres μ_+ et K_+ , et en particulier pour les particules de TiO_2 et Fe_2O_3 ($\text{RSD} (\%) > 100 \%$). Un tel manque de précision sur la mesure, corrélé à l'état de charge positif des particules d'oxyde, nous laisse imaginer l'existence d'interactions paroi/particules dans des capillaires en silice vierge.

Dans des conditions où la charge de surface des particules d'oxyde est négative, des solutions de pH élevé et de faible force ionique sont préconisées par les auteurs, car favorables à la stabilité et à la séparation de mélanges de particules d'oxydes métalliques, différentes par leur taille (10 nm à 1 μm de diamètre), leur nature chimique (TiO_2 , Al_2O_3 , Fe_2O_3 , Fe_3O_4) et/ou leur forme polymorphique ($\gamma\text{-Al}_2\text{O}_3$, $\alpha,\gamma\text{-Al}_2\text{O}_3$) [122]. Par symétrie, on imaginerait qu'un électrolyte de faibles pH et force ionique soit favorable à la caractérisation des particules d'oxyde lorsqu'elles présentent une charge de surface positive. Néanmoins, aucune étude sur le sujet n'a été rapportée dans la littérature. Des mélanges contenant ces mêmes particules d'oxyde ainsi que des particules de dioxyde d'uranium (UO_2) ont ainsi pu être séparés en

tampon carbonate (pH 10,6) ou pyrophosphate (pH 10,2) [128]. L'influence du champ électrique, de la concentration ainsi que de la composition de l'électrolyte sur la qualité des séparations a été déterminée. L'expérience montre que des particules colloïdales et des agrégats du même oxyde comigrent, les derniers étant à l'origine de pics fins ou « spikes » qui surmontent le profil électrophorétique. La reproductibilité des profils électrophorétiques (temps de migration, géométrie, hauteur, largeur) est excellente, avec un écart relatif inférieur à 1 % sur les temps de migration. Les effets liés à la nature de l'anion (phosphate, borate, carbonate), ainsi qu'à la concentration du cation (sodium) de l'électrolyte de séparation ont fait l'objet d'une étude ultérieure plus détaillée menée par le même groupe [127]. Il est alors apparu que les trois types d'anions testés avaient des effets significatifs sur la mobilité de chacun des oxydes, l'anion borate conduisant au plus haut degré de sélectivité entre le dioxyde de titane (TiO_2) et l'oxyde d'aluminium ($\alpha,\gamma\text{-Al}_2\text{O}_3$). Une concentration de 3 mM en Na^+ a permis d'obtenir les meilleures séparations, et ceci pour chacun des systèmes électrolytiques mentionnés (tampons phosphate pH 8, carbonate pH 10.1 et borate pH 8) [127].

Le comportement électrophorétique d'une population de nanoparticules de $\gamma\text{-Fe}_2\text{O}_3$ de diamètre nominal compris entre 20 et 30 nm a été étudié par Vanifatova et al. [129] dans différents électrolytes de séparation. Ainsi, les auteurs ont montré que la composition de l'électrolyte de séparation influençait la stabilité et la distribution en taille des particules de la suspension. Le profil électrophorétique caractéristique de cette population de particules (Figure 16) est large et recouvert de nombreux « spikes » du côté des plus faibles valeurs de mobilités. Ces « spikes », qui tendent à disparaître après décantation de l'échantillon, sont attribués à la présence de particules instables, sous forme individuelle ou floculée, qui décanteraient progressivement.

Figure 16 (Vanifatova et al. [129]) : évolution dans le temps du profil électrophorétique d'une population de $\gamma\text{-Fe}_2\text{O}_3$ caractérisée dans un tampon Na_3Cit 1 mM + Na_2SO_4 2 mM, pH 7,1. (A) Suspension fraîchement préparée ; (B-D) temps de repos 50, 100 et 160 min, respectivement.



Pour ce qui est de l'enveloppe lisse du profil, dont l'intensité reste inchangée au cours du temps, elle caractériserait la présence de particules colloïdales, stables dans l'électrolyte de séparation [129].

Une plus large gamme de ferrofluide a par la suite été caractérisée en CZE [130]. La charge de surface des particules étudiées varie en fonction de la nature de l'agent stabilisant : (i) anionique en présence de sulfonate de lignine (distribution en taille comprise entre 50 et 200 nm de diamètre), de chaînes d'alginate (70 nm de diamètre) ou de sulfonate de polystyrène réticulé (70 nm de diamètre), (ii) neutre en présence de dextran (60 nm de diamètre), et (iii) cationique en milieu acide (30 nm de diamètre). Les profils électrophorétiques obtenus présentent une dispersion importante, caractéristique de l'analyse de populations de particules colloïdales, comme l'ont déjà observé d'autres auteurs. La pureté des ferrofluides peut également être estimée à partir des électrophérogrammes par détection de pics supplémentaires pouvant par exemple être attribués à un excès de stabilisant.

Compte tenu de la complexité des systèmes étudiés, nous avons procédé à une étude systématique des données de la littérature concernant les différents paramètres susceptibles d'influencer la mobilité des particules d'oxydes minéraux. Sauf mention contraire, les particules considérées dans la suite de cette étude bibliographique présentent une charge de surface négative, peu d'informations étant disponibles sur la caractérisation de leurs homologues cationiques en CZE.

I.4.2.1.2. Influence des paramètres instrumentaux

I.4.2.1.2.a) Volume d'injection et fraction volumique en particules dans l'échantillon

Peu d'auteurs se sont réellement intéressés à l'effet du volume d'injection sur le comportement électrophorétique de particules d'oxydes. L'étude en CZE par Vanifatova et al. [129] d'une population de particules de $\gamma\text{-Fe}_2\text{O}_3$ à 10^{-2} % (v/v), a néanmoins permis de vérifier l'existence d'une relation linéaire entre la hauteur du pic et la durée de l'injection, de 5 à 25 s (respectivement de la pression d'injection, de 0,2 à 0,5 psi), en mode hydrodynamique.

Une influence de la concentration en particules dans l'échantillon sur la mobilité électrophorétique des particules d'oxyde (SiO_2 , TiO_2 , Al_2O_3) a pu être mesurée en LDV, même en présence d'un sel support indifférent dans la solution de dispersion (NaCl 10 mM) [67]. Pour une concentration en particules variant entre $4 \cdot 10^{-3}$ et $5 \cdot 10^{-6}$ g/mL, la dilution implique une diminution en valeur absolue de la mobilité des particules de SiO_2 chargées négativement dans les conditions de l'étude, tandis que des particules de TiO_2 et Al_2O_3 , initialement chargées positivement dans les conditions de l'étude, voient leur mobilité diminuer jusqu'à changer de signe pour des concentrations en particules comprises entre $5 \cdot 10^{-5}$ et $1 \cdot 10^{-4}$ g/ml, et $1 \cdot 10^{-5}$ et $5 \cdot 10^{-5}$ g/ml, respectivement (Figure 17). Bien que la nature exacte du milieu de dispersion ne soit pas précisée, le comportement des particules de SiO_2 nous apparaît analogue à celui observé par les auteurs lors d'une diminution du pH de la solution de dispersion. Pour ce qui est des particules de TiO_2 et Al_2O_3 leur comportement vis-à-vis de la dilution serait comparable à celui observé lors d'une augmentation du pH de l'électrolyte. Ces observations nous permettent de penser que les propriétés de surface des oxydes sont modifiées par la dilution et, entre autres, que leur point isoélectrique dépend de la concentration en particules. Aux concentrations en particules les plus élevées, la mobilité semble se stabiliser autour d'une valeur palier.

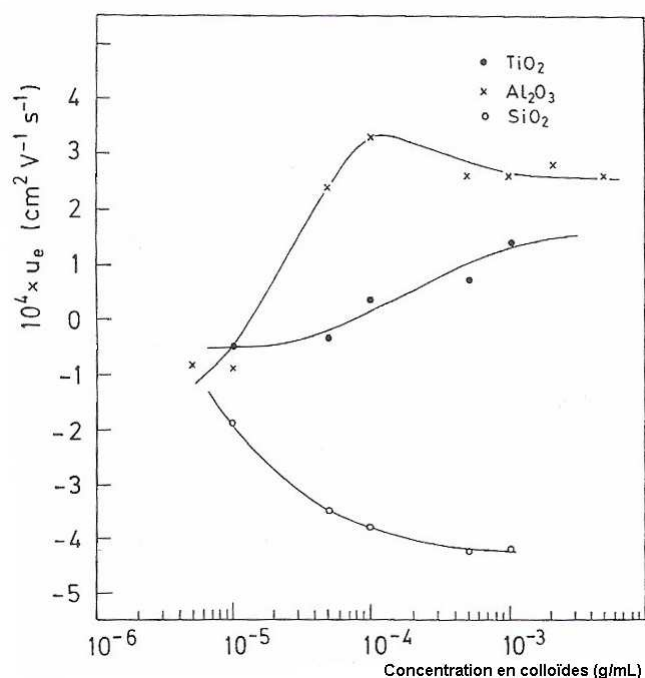


Figure 17 (Fourest et al. [67]) : représentation de la variation de la mobilité de trois oxydes minéraux différents (TiO_2 , Al_2O_3 et SiO_2) en fonction de la concentration en colloïde (de $5 \cdot 10^{-6}$ à $4 \cdot 10^{-3}$ g/mL) .

Un « effet de matrice » a également été mis en évidence en CZE sur la mobilité de particules d'oxydes, selon qu'elles sont injectées seules ou dans un mélange ($\alpha, \gamma\text{-Al}_2\text{O}_3$, TiO_2 et $\alpha\text{-Fe}_2\text{O}_3$) [127]. Ainsi, des particules d'oxyde de titane, les plus mobiles parmi les particules du

mélange, voient leur mobilité diminuer (de 1 à 10 % dans un tampon borate (pH 8), en fonction de la concentration en contre-ion Na^+ dans l'électrolyte de séparation, sur une gamme de 0,75 à 24 mM) par la présence d'autres particules dans l'échantillon, tandis que l'effet inverse se produit pour des particules d'oxyde d'aluminium, les moins mobiles parmi les particules du mélange (augmentation de la mobilité de 5 à 63 %). Une telle variation de mobilité est illustrée figure 18 dans le cas d'un mélange de particules de $\alpha, \gamma\text{-Al}_2\text{O}_3$ et TiO_2 uniquement (aucune précision n'est alors apportée concernant la fraction volumique en particules dans l'échantillon). Toutefois, dans une étude ultérieure [128], les mobilités électrophorétiques obtenues pour des particules d'oxydes injectées seules ou dans un mélange présentent une différence relative inférieure à 2%. Dans ces conditions, la fraction volumique en particules pour un oxyde donné est conservée, à savoir égale à 0,15 % dans les suspensions de particules individuelles comme dans le mélange.

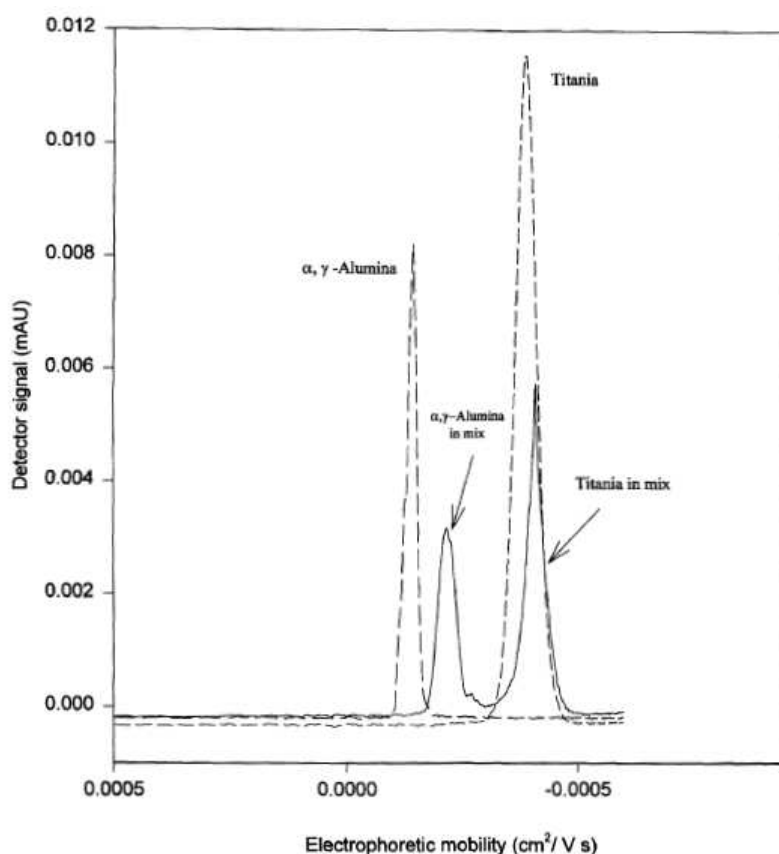


Figure 18 (Ducatte et al. [127]) : superposition des profils électrophorétiques de population de particules de $\alpha, \gamma\text{-Al}_2\text{O}_3$ et TiO_2 injectées seules ou en mélange. BGE : tampon borate pH 8.

I.4.2.1.2.b) Amplitude du champ électrique appliqué

Les effets d'une variation du champ électrique appliqué sur le comportement électrophorétique de populations de particules d'oxydes minéraux ont été étudiés par quelques auteurs [125, 128-130].

Pour des particules de $\gamma\text{-Fe}_2\text{O}_3$ dispersées dans un électrolyte constitué de Na_2SO_4 1,67 mM et NaOH 1 mM (pH 10,8), Vanifatova et al. [129] ont montré que la mobilité électrophorétique mesurée était indépendante de l'amplitude du champ électrique appliqué (E) lorsque ce dernier variait entre 125 et 500 V/cm. La même observation a été réalisée par Pyell [125] sur des cœur/coquilles de silice pour des valeurs de champ comprise entre 100 et 700 V/cm.

L'effet du champ électrique sur la qualité des séparations a également été considéré. Des expériences menées sur des ferrofluides anioniques ont montré qu'une diminution du champ électrique de 333 à 167 V/cm pouvait être à l'origine d'une amélioration de la résolution apparente de deux populations de particules de nature chimique comparable (particules magnétiques dans une résine de sulfonate de polystyrène) [130]. Une étude plus détaillée du phénomène a été menée par Petersen et Ballou [128] sur des mélanges modèles de particules d'oxydes (TiO_2 , Fe_2O_3 , Fe_3O_4 , $\gamma\text{-Al}_2\text{O}_3$, $\alpha,\gamma\text{-Al}_2\text{O}_3$). La sélectivité est montrée indépendante de E , en accord avec les résultats déjà obtenus par le même groupe sur des particules de latex fonctionnalisées [66]. Les efficacités sont mesurées constantes entre 200 et 300 V/cm mais diminuent d'environ 40 % lorsque le champ électrique appliqué augmente de 300 à 500 V/cm, de même que les mobilités apparentes augmentent d'environ 3 % lorsque le champ électrique appliqué augmente de 200 à 500 V/cm. Cette tendance suggère aux auteurs une mauvaise dissipation de chaleur liée à l'effet Joule. La grande perte d'efficacité étant alors expliquée par une contribution devenue significative du terme diffusif dans l'expression de la dispersion.

I.4.2.1.3. Influence de l'électrolyte de séparation

I.4.2.1.3.a) Le pH

La caractérisation en CZE de particules de TiO_2 dans un électrolyte indifférent (NaNO_3), non tamponné, de force ionique constante (5 mM) et de pH variable (3 à 12) a permis aux auteurs de montrer une meilleure dispersion des particules dans un électrolyte de pH élevé [122]. Cette observation nous semble cohérente avec une meilleure dissociation des groupements hydroxyle à la surface de l'oxyde. Le profil électrophorétique résultant est alors lisse et intense. Les particules caractérisées dans des électrolytes de pH plus faible, voisin de

leur pI, atteignent leur limite de stabilité (du point de vue des répulsions électrostatiques). Les profils électrophorétiques résultant sont relativement peu intenses et recouverts de nombreux « spikes » attribués à la formation d'agrégats. A pH 9, un mélange de populations de TiO_2 et $\gamma\text{-Al}_2\text{O}_3$, caractérisées comme stables lors de leurs injections séparées, est à l'origine d'un pic unique surmonté de nombreux « spikes » qui suggèrent une agrégation. Une augmentation du pH de l'électrolyte de 9 à 12, qui génère une augmentation de la charge de surface et donc des répulsions électrostatiques, permet d'améliorer la séparation d'un tel mélange : obtention de profils lisses avec un quasi-retour à la ligne de base entre les pics [122].

Considérons maintenant l'effet du pH sur le comportement électrophorétique des particules d'oxydes. Dans le cas de particules de silice, caractérisées dans un électrolyte de séparation à base de phosphate (2,5 à 10 mM), Vanifatova et al. [124] ont montré que la mobilité des particules augmentait en valeur absolue avec le pH (sur une gamme de 5,3 à 11,5), ce qui semble cohérent avec une plus grande dissociation des groupements silanol de surface aux pH élevés. La mobilité des cœur/coquilles de silice étudiés par Pyell [125] suit la même évolution en fonction du pH. Pour les faibles pH (compris entre 4 et 6), la présence de « spikes » sur les électrophérogrammes suggère de l'agrégation. Une augmentation du pH de 6 à 9 s'accompagne d'une augmentation de la mobilité jusqu'à atteindre une valeur plateau pour des $\text{pH} \geq 9$.

La caractérisation de ferrofluides dits anionique, cationique ou neutre en fonction de la charge de surface des particules magnétiques qui les constituent a également permis de mettre en évidence un effet du pH sur la mobilité de ces dernières [130]. Pour les particules anioniques et quasi-neutres, une légère augmentation de la mobilité, en valeur absolue, a été observée lorsque le pH augmente de 5 à 12 dans un tampon phosphate (1 ou 10 mM). Par contre, une diminution notable de la mobilité des particules cationiques est observée lorsque le pH passe de 2 à 4. Cette diminution est liée à l'origine de la charge de surface positive des particules d'oxyde de fer, attribuée, d'après les auteurs, à l'adsorption des ions H_3O^+ . Cette étude ayant été menée en capillaire en silice vierge, dans un électrolyte constitué de citrate de sodium 10 mM, nous pouvons néanmoins nous interroger quant à l'absence de remarque concernant d'éventuelles interactions paroi/particules et/ou citrate/particules.

I.4.2.1.3.b) La force ionique I

La caractérisation en CZE de particules de $\gamma\text{-Al}_2\text{O}_3$, $\alpha,\gamma\text{-Al}_2\text{O}_3$ et TiO_2 dans un électrolyte indifférent (NaNO_3) de pH constant (pH 11) et de force ionique variable (1 à 10 mM) a permis de montrer que les particules étaient en général les mieux dispersées et les mieux séparées dans un électrolyte de faible force ionique [122]. Ces observations sont cohérentes avec une moindre compression de la double couche électrique et donc une moindre propension des particules à l'agrégation aux faibles forces ioniques. En contre-partie, une diminution de la force ionique peut être à l'origine d'une augmentation de l'écoulement électroosmotique dans des capillaires en silice vierge, ce qui peut au final nuire à la résolution apparente (du point de vue du rapport $\Delta\mu_{\text{ep}}/\mu_{\text{ap}}^{\text{moyen}}$) [122].

Considérons maintenant l'influence de la concentration des espèces de l'électrolyte sur le comportement électrophorétique des particules d'oxydes.

Classiquement, la théorie prédit qu'une augmentation de la concentration en contre-ions dans un système colloïdal induit la diminution du potentiel- ζ et donc de la mobilité électrophorétique des particules en suspensions, en l'absence d'adsorption spécifique [127]. Une telle théorie a pu être vérifiée en LDV dans le cas de particules de SiO_2 , TiO_2 et Al_2O_3 analysées en milieu NaCl (1 mM à 100 mM) à différents pH (2 à 10). Ainsi en milieu acide et/ou faiblement basique, la mobilité absolue de ces particules se révèle être une fonction décroissante de la force ionique [67].

En pratique, l'effet de la concentration en contre-ions (ions sodium) de l'électrolyte sur la mobilité électrophorétique de particules de $\gamma\text{-Al}_2\text{O}_3$, $\alpha,\gamma\text{-Al}_2\text{O}_3$, TiO_2 et $\alpha\text{-Fe}_2\text{O}_3$ a été étudié en CZE, dans des tampons phosphate, carbonate et borate [127]. En vue de comparaison, la concentration en Na^+ est contrôlée et varie de 0,375 mM à 24 mM dans chacun des systèmes électrolytiques. La concentration en anion de l'électrolyte varie, elle, en fonction de la concentration en ions Na^+ , suivant la stœchiométrie du système. En tampon phosphate (Figure 19.A), la valeur absolue de la mobilité électrophorétique de chaque oxyde augmente de façon générale avec la concentration en ions Na^+ . Ces résultats sont en contradiction avec les attentes théoriques rappelées ci-dessus et suggèrent aux auteurs l'existence d'interactions significatives entre les anions phosphate de l'électrolyte et la surface des particules d'oxyde, ainsi que le rôle dominant de l'anion (par rapport aux contre-ions Na^+) sur le contrôle de la mobilité des oxydes dans cette gamme de concentration.

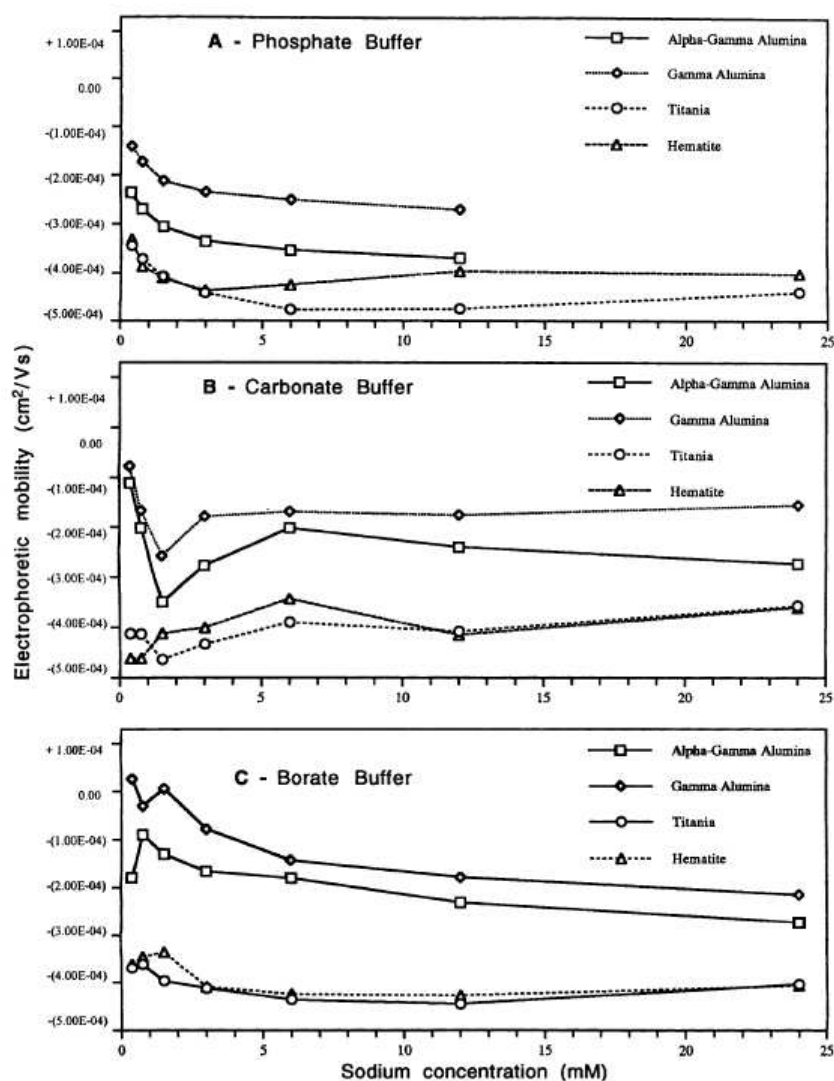


Figure 19 (Ducatte et al. [127]) : représentation de la variation de la mobilité de quatre oxydes minéraux différents ($\alpha,\gamma\text{-Al}_2\text{O}_3$, TiO_2 et $\alpha\text{-Fe}_2\text{O}_3$) en fonction de la concentration en ions sodium (0,375 à 24 mM) dans des électrolytes de séparation à base de phosphate (A), carbonate (B) et borate (C).

Il est à noter que cette tendance semble s'atténuer aux concentrations en sel les plus élevées, ce qui correspondrait à une saturation de la surface des particules d'oxyde par les anions. En tampons carbonate (Figure 19.B), une augmentation de la concentration en ions Na^+ de 0,375 à 1,5 mM est à l'origine d'une augmentation en valeur absolue de la mobilité des particules d'oxyde, à l'exception de l'hématite. Entre 1,5 et 6 mM, il suit une légère décroissance de la mobilité, ce qui suggère aux auteurs le rôle dominant des contre-ions Na^+ dans le contrôle de la mobilité pour tous les oxydes. Enfin, en tampon borate (Figure 19.C), pour une concentration en Na^+ inférieure à 1,5 mM, la mobilité des différentes populations de particules d'oxydes ne suit aucune tendance générale. Néanmoins, une augmentation de la concentration en Na^+ de 1,5 à 24 mM est à l'origine d'une augmentation générale de la mobilité de tous les oxydes, en valeur absolue, jusqu'à atteindre une valeur plateau aux

concentrations les plus élevées. Quel que soit le système électrolytique envisagé, une concentration de 3 mM en ions Na^+ offre le meilleur compromis entre résolution, allure de pic et temps d'analyse, pour la séparation d'un mélange de $\alpha,\gamma\text{-Al}_2\text{O}_3$, TiO_2 et $\alpha\text{-Fe}_2\text{O}_3$. Des concentrations plus faibles en Na^+ sont à l'origine de pics plus fins, mais d'une perte de la sélectivité entre les particules de $\alpha,\gamma\text{-Al}_2\text{O}_3$, TiO_2 , tandis que des concentrations plus élevées sont à l'origine de pics plus larges, parfois surmontés de « spikes » et présentant des temps de migration élevés, sans gain significatif de sélectivité. Dans tous les cas, un mélange de particules de TiO_2 et $\alpha\text{-Fe}_2\text{O}_3$ n'est pas résolu, tandis que le résultat d'analyses séparées laissait espérer un certain degré de résolution en tampon phosphate [127].

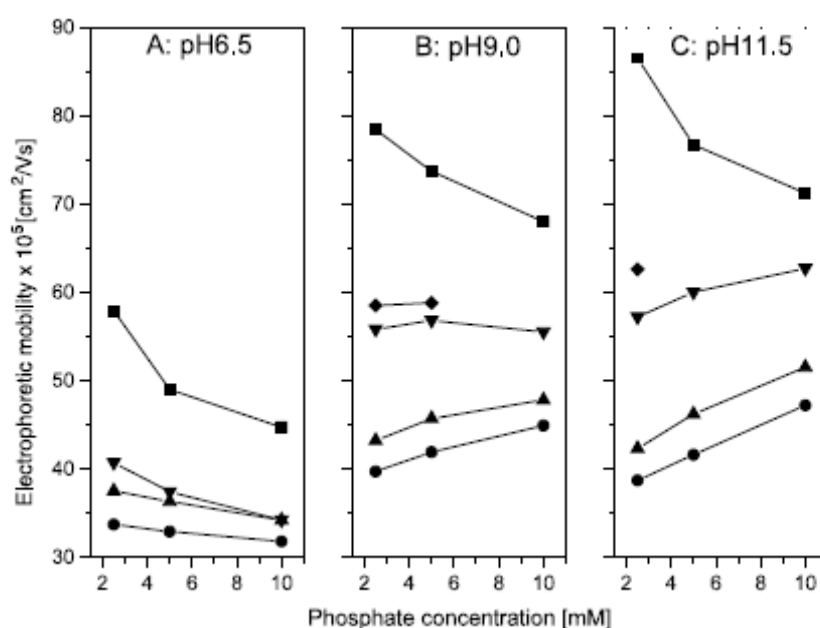


Figure 20 (Vanifatova et al. [124]) : représentation de la variation de la mobilité de populations de particules de silice en fonction de la concentration en ions phosphate dans l'électrolyte de séparation à différents pH. Identification des tracés : (●) 50 nm; (▲) 100 nm; (▼) 355 nm; (◆) 442 nm; (■) EOF.

Les effets de la concentration en co-ions (ions phosphate) de l'électrolyte de séparation ont également été étudiés sur la séparation de particules de silice (de 50 à 442 nm de diamètre) par Vanifatova et al. [124] (Figure 20). Lorsque la concentration en phosphate (de 2,5 à 10 mM) dans l'électrolyte de séparation augmente, une diminution en valeur absolue de la mobilité électrophorétique a été observée en milieu faiblement acide (pH 6,5), tandis qu'en milieux alcalins (pH 9 et 11, 5) c'est l'évolution inverse qui se produit, l'augmentation de mobilité, en valeur absolue, étant d'autant plus notable que la taille des particules est petite et le pH de l'électrolyte élevé. Les auteurs [124] tentent d'analyser ces observations à la lumière des théories d'Overbeek-Booth [48, 49] qui tiennent compte de l'effet de relaxation (effet d'autant plus notable que le potentiel- ζ de la particule est élevé, ce qui est cohérent avec

une augmentation du pH, et qui peut conduire à l'observation d'une mobilité croissante avec la force ionique). Nous pouvons remarquer que cette approche n'est valable qu'en l'absence d'interaction spécifique entre les ions phosphate de l'électrolyte et la surface des particules. Cette hypothèse est considérée comme vérifiée par les auteurs qui s'appuient sur la décroissance monotone, conjointe, de la mobilité électroosmotique observée en réponse à une augmentation de la concentration en ions phosphate, et ceci quel que soit le pH envisagé (Figure 20). Il nous apparaît néanmoins nécessaire de nuancer cette affirmation. En effet, ces observations ne permettent pas de conclure à l'absence d'interaction entre les ions phosphate de l'électrolyte et la paroi en silice vierge du capillaire, mais seulement d'envisager que ces interactions, si elles existent, ne présentent pas un effet dominant sur la mobilité des particules d'oxyde.

Pour des particules de $\gamma\text{-Fe}_2\text{O}_3$ [129], une variation de la concentration en ions citrate de l'électrolyte de séparation (entre 0,5 et 2,0 mM), de pH et force ionique constants (7,1 et 12 mM, respectivement), s'est révélée sans influence sur la mobilité électrophorétique calculée.

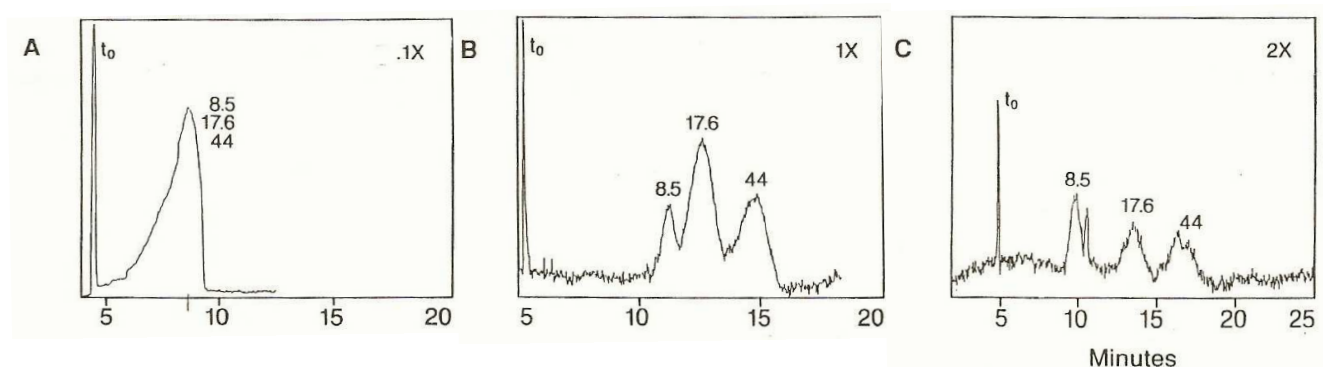


Figure 21 (McCormick [123]) : électrophérogrammes montrant la séparation en taille d'un mélange de populations de particules de SiO_2 dans un tampon $\text{NH}_4\text{OH} + \text{NH}_4\text{Cl}$, pH 9 de force ionique croissante. (A) NH_4OH 0,5 mM + NH_4Cl 0,93 mM ; (B) NH_4OH 5 mM + NH_4Cl 9,3 mM ; (C) NH_4OH 10 mM + NH_4Cl 18,6 mM.

Enfin, l'effet de la concentration de l'électrolyte sur la qualité des séparations a été envisagé par certains auteurs.

La séparation partielle de 5 populations de particules de silice de diamètre moyen compris entre 5 et 250 nm a pu être observée par McCormick [123], sur une durée de 20 min, dans un électrolyte de séparation constitué d'hydroxyde d'ammonium 2,5 mM et de chlorure d'ammonium 4,65 mM (pH 9). Des concentrations plus élevées du même électrolyte ont permis d'améliorer la résolution des plus petites particules (5 à 44 nm de diamètre), mais en contre partie, les temps de migration observés pour les plus grosses particules (94 à 500 nm de

diamètre) sont excessivement longs (Figure 21). Inversement, les plus grosses particules sont mieux résolues aux très faibles forces ioniques (NH_4OH 0,5 mM + NH_4Cl 0,93 mM, pH 9), mais dans ces conditions ce sont les plus petites particules qui comigrent.

Dans une étude par le groupe de Ballou [128], l'effet de la concentration de l'électrolyte sur la qualité de séparations a été étudié sur deux mélanges de trois particules d'oxyde en tampons carbonate et pyrophosphate. Les mobilités électrophorétiques calculées ne montrent pas de variation significative avec la concentration de l'électrolyte, ce qui est cohérent avec les premières observations réalisées par les auteurs [127] en tampons phosphate, carbonate et borate sur les mêmes particules, et suggère une interaction des anions de l'électrolyte avec la surface des particules d'oxyde. La mobilité électroosmotique, quant à elle, décroît lorsque la concentration du tampon augmente, ce qui est à l'origine de l'augmentation de sélectivité apparente observée (jusqu'à 64 % pour les deux concentrations extrêmes). En tampon pyrophosphate, pour un mélange de particules de $\gamma\text{-Al}_2\text{O}_3$, TiO_2 et $\alpha\text{-Fe}_2\text{O}_3$, l'efficacité est montrée indépendante de la concentration en électrolyte (nombre de plateaux théoriques compris entre 300 et 4000) de sorte que la meilleure résolution est obtenue à la concentration la plus élevée du tampon (pyrophosphate 4,38 mM + Na^+ 17,5 mM). En tampon carbonate, pour un mélange de particules de $\alpha,\gamma\text{-Al}_2\text{O}_3$, TiO_2 et $\alpha\text{-Fe}_2\text{O}_3$, l'efficacité décroît lorsque la concentration en électrolyte augmente dans une mesure telle qu'elle fait plus qu'annuler le gain en sélectivité : la meilleure résolution est obtenue à la concentration la plus faible du tampon (carbonate 1,09 mM + Na^+ 4,38 mM) [128].

Si aucun mélange n'a été séparé par Pyell [125], l'analyse des électrophérogrammes, obtenus à partir de chacune des trois populations de cœur/coquille de silice de diamètre compris entre 15 et 107 nm, permet de définir une résolution apparente qui augmente avec la force ionique dans un tampon Britton Robinson de pH 9 (I variable de 4,37 à 17,5 mM).

Pour conclure, nous pouvons expliquer ces observations aux vues du tracé des résolutions numériques exactes des équations de transport [43] représenté en figure 6. En effet, dans cette gamme de ka (> 5) et pour des particules de potentiel- ζ élevé (> 25 mV), une diminution de la force ionique du milieu (i.e. de κ) conduit à tomber dans un « puit de mobilité », ce qui implique une faible dispersion électrophorétique (i.e. une efficacité de pic élevée), mais également une faible sélectivité pour les plus petites particules (i.e. les plus faibles valeurs du produit ka , à κ fixé) parmi des populations de tailles différentes et de potentiel-zéta uniforme. Par analogie, une augmentation de la force ionique du milieu (i.e. de κ) conduit à « un palier de mobilité », ce qui implique une faible dispersion électrophorétique (i.e. une efficacité de pic élevée), mais également une faible sélectivité pour les plus grosses particules

(i.e. les plus grandes valeurs du produit κa , à κ fixé) parmi des populations de tailles différentes et de potentiel-zéta uniforme.

I.4.2.1.3.c) La composition

Peu d'auteurs se sont réellement intéressés à l'effet de la nature des ions de l'électrolyte, et plus particulièrement du co-ion, sur la mobilité électrophorétique de particules.

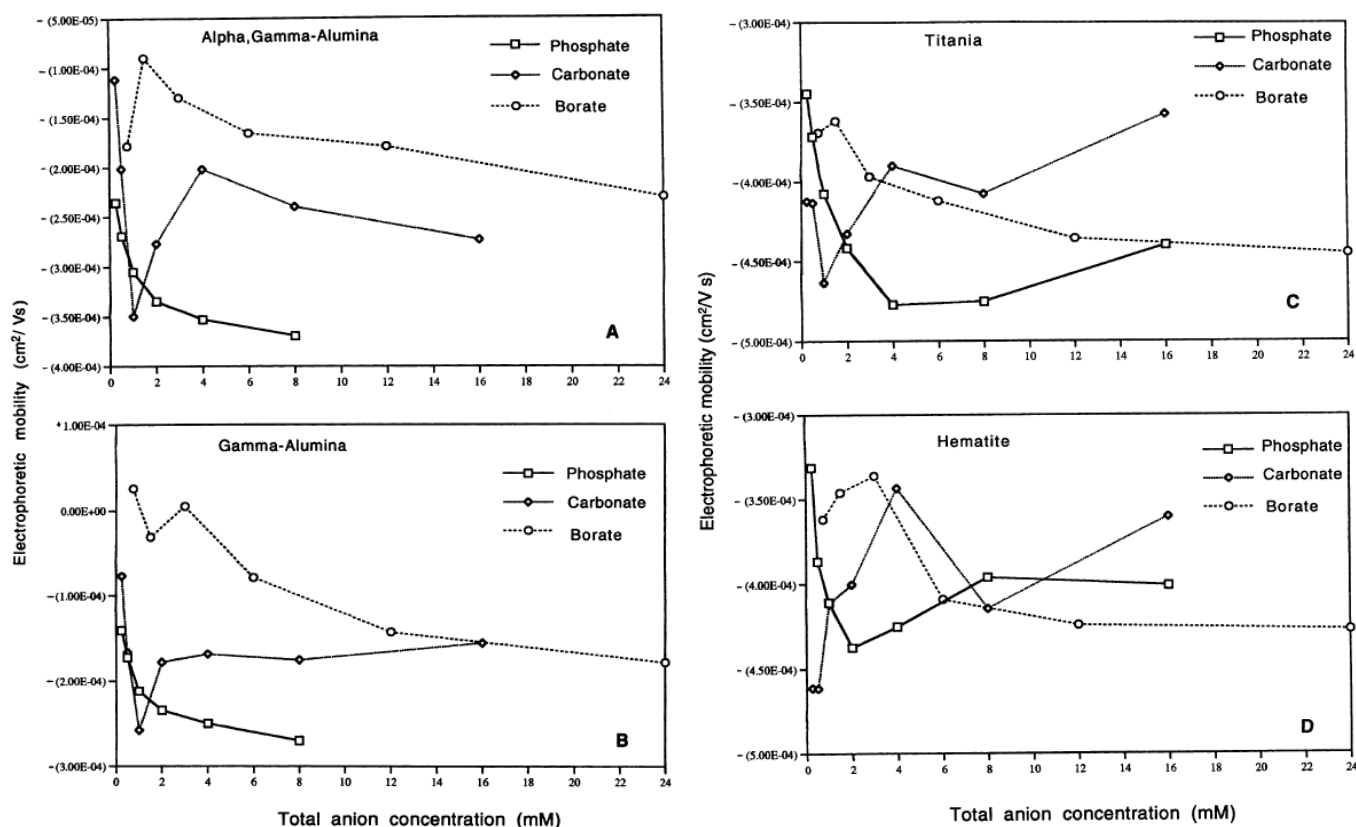


Figure 22 (Ducatte et al. [127]) : représentation de la variation de la mobilité de quatre oxydes minéraux différents ((A) $\alpha,\gamma\text{-Al}_2\text{O}_3$; (B) $\gamma\text{-Al}_2\text{O}_3$; (C) TiO_2 et (D) $\alpha\text{-Fe}_2\text{O}_3$) en fonction de la nature et de la concentration du co-ion de l'électrolyte de séparation (0,375 à 24 mM).

L'influence de la nature du co-ion (dans notre cas de l'anion) de $\gamma\text{-Al}_2\text{O}_3$, $\alpha,\gamma\text{-Al}_2\text{O}_3$, TiO_2 et $\alpha\text{-Fe}_2\text{O}_3$ a été étudiée dans des conditions de pH (entre 6 et 10) telles que la charge de surface des oxydes considérés soit négative [127]. A concentration en contre-ion égale, les auteurs [127] postulent que cette charge de surface sera d'autant plus négative, et par conséquent la mobilité des particules, que l'interaction avec l'espèce anionique sera importante. Ainsi, les anions phosphate dont l'affinité pour les surfaces d'oxyde est déjà bien connue [131], montreraient le plus grand degré d'interaction avec les oxydes d'aluminium (Figures 22.A et

22.B). Pour les particules de TiO_2 , l'interaction semble la plus forte avec les ions carbonate pour des concentrations en espèce anionique allant jusqu'à 1 mM. Pour des concentrations supérieures à 2 mM, ce sont à nouveau les ions phosphate qui semblent le plus affecter la mobilité des particules (Figure 22.C). En ce qui concerne l'hématite, aucun anion ne semble affecter la charge de l'oxyde plus qu'un autre (Figure 22.D). Néanmoins, nous pouvons remarquer que pour une concentration donnée en espèce anionique, la concentration en contre-ion Na^+ n'est pas maintenue constante: concentration identique en tampons phosphate et carbonate, mais systématiquement inférieure en tampon borate du fait de la stoechiométrie. La variation simultanée de ce dernier paramètre rend délicate la comparaison entre les trois systèmes étudiés. Des trois systèmes, le plus haut degré de sélectivité entre particules de $\alpha, \gamma\text{-Al}_2\text{O}_3$ et de TiO_2 est obtenu en tampon borate (différence de mobilité entre les deux espèces de 60 % contre 36 % en tampon carbonate et 24 % en tampon phosphate, $[\text{Na}^+] = 3 \text{ mM}$). Dans une étude ultérieure [128], le même groupe compare la sélectivité apportée par des tampons carbonate et pyrophosphate et confirme l'intérêt qu'il peut y avoir à utiliser la composition du tampon comme paramètre pour améliorer la séparation de particules d'oxydes donnés.

I.4.2.1.4. CZE vs LVD : deux techniques complémentaires ?

Une comparaison des mobilités électrophorétiques obtenues en CZE et en LDV lors de l'étude des ferrofluides anioniques (particules magnétiques dans une résine de sulfonate de polystyrène) a été menée dans une solution constituée de phosphate 10 mM et dont le pH variable entre 5,5 et 11,2. Dans tous les cas, la valeur absolue de la mobilité observée en CZE est supérieure à celle obtenue en LDV (écart relatif le plus prononcé aux pH les plus élevés où il atteint jusqu'à 71 %). Néanmoins, la raison de cet écart n'est pas discutée. Nous pouvons remarquer que, étonnement, la mobilité mesurée en LDV évolue peu en fonction du pH, tandis que la mobilité mesurée en CZE augmente fortement. Ceci explique l'importance des écarts observés aux pH les plus élevés.

I.4.2.2. Les particules métalliques

Les propriétés physico-chimiques des particules métalliques de taille nanométrique présentent un grand intérêt en vue d'applications potentielles dans le domaine de la physique,

de la chimie et de la biologie [132]. Au cours des dernières années, de nombreuses méthodes ont été mises au point pour la synthèse de nanoparticules d'or et d'argent (Au NPs et Ag NPs, respectivement), l'un des principaux objectifs étant la fabrication de NPs métalliques pour des applications en détection [133]. Par exemple, la combinaison de la diffusion Raman exaltée de surface (SERS) avec des NPs métalliques permet des mesures hautement sensibles, permettant d'envisager la détection d'une molécule unique. Bien que les Au NPs aient été largement utilisées comme marqueur biologiques, en raison de leur distribution en taille facilement contrôlable, de leur stabilité dans le temps, et de leur biocompatibilité avec des anticorps et/ou antigènes [134], et de l'ADN et/ou de l'ARN [135], leur facteur d'exaltation est inférieur à celui de Ag NPs [136, 137]. Pour cette raison, de nombreuses tentatives de préparation de cœur/coquilles Au/Ag NPs par dépôts d'argent sur des Au NPs préformées ont été menées de sorte à obtenir des NPs possédant l'homogénéité en taille des Au NPs mais présentant des facteurs d'exaltation plus élevés [138, 139]. Puisque les dimensions des NPs affectent leurs propriétés physico-chimiques [140], leur caractérisation en taille fait actuellement l'objet d'une grande attention. Récemment, quelques études ont montré l'intérêt d'utiliser la CE pour la caractérisation et la séparation de NPs métalliques. Dans les différents cas de figures qui seront présentés, la charge des particules métalliques provient de la forte adsorption d'ions à leur surface. Les Au NPs sont souvent synthétisées à partir de solutions de sel d'or en présence d'ions citrate, et sont donc négativement chargées du fait de l'adsorption de ces ions à leur surface [141]. Néanmoins, les tensioactifs sont également connus pour s'associer aux particules, et ainsi former une couche protectrice stabilisante de charge positive [142] ou négative [143] en fonction de la nature du tensioactif considéré.

Les premières caractérisations d'Au NPs ont été réalisées en CZE [144] dans un tampon acide acétique/acétate de sodium pH 5, de force ionique variable entre 0,3 et 6 mM. Une diminution de la force ionique du milieu s'est montrée à l'origine d'une décroissance de la mobilité électrophorétique des Au NPs, avec une amplitude de décroissance d'autant plus importante que la taille des particules était petite. L'explication proposée par les auteurs s'appuie sur une diminution de la fonction de Henry avec une diminution de la force ionique, mais elle ne tient pas compte de la variation simultanée du potentiel- ζ qui pourrait avoir un effet antagoniste. Bien que la nature exacte de la charge des particules ne soit pas précisée, il nous est permis de penser qu'elle provient de l'adsorption spécifique des anions présents dans le milieu de dispersion et/ou dans le milieu de séparation des particules. Dans ce cas, l'évolution de mobilité observée par les auteurs en fonction de la force ionique pourrait être

corrélée à un équilibre d'adsorption/désorption des anions à leur surface. La variation de la mobilité en fonction de la taille des Au NPs semble moins évidente pour les auteurs. Expérimentalement, aucune évolution monotone de la mobilité n'a été observée en fonction de la taille des particules : si la mobilité croît avec des valeurs croissantes du rayon particulaire (a) aux plus faibles forces ioniques ($\leq 0,6\text{mM}$), cette tendance s'inverse à des forces ioniques plus élevées ($\geq 3\text{mM}$). Dans le cadre du modèle de Henry utilisé par les auteurs, à une force ionique donnée, i.e. à valeur de κ constante, et dans l'hypothèse d'un potentiel- ζ uniforme, la mobilité électrophorétique des particules devrait augmenter avec leur rayon, puisque la fonction de Henry $f(\kappa a)$ est alors une fonction croissante de a . Pour expliquer l'écart entre les valeurs de mobilités mesurées et les attentes théoriques, les auteurs avancent deux points : (i) l'existence d'un potentiel- ζ différent en fonction de la taille des particules, (ii) l'existence de propriétés conductrices non négligeables des AuNPs. En fait, compte tenu des valeurs de mobilité présentées par les auteurs, il nous est permis de penser que le potentiel- ζ des particules est trop élevé pour pouvoir justifier du comportement électrophorétique des particules par le modèle de Henry. Ainsi, dans les domaines de κa (0,15 à 1,87) et de potentiel- ζ ($> 25\text{ mV}$) explorés au cours de cette étude, nous pouvons émettre l'hypothèse d'un effet de relaxation, non négligeable, expliquant l'évolution non monotone de la mobilité observée par les auteurs, en fonction de la taille des particules étudiées. Néanmoins, dans l'objectif de séparations, un milieu de force ionique élevée (6 mM), bien que ne satisfaisant pas aux attentes théoriques des auteurs quant à la variation de mobilité, a permis une caractérisation en taille de particules de diamètre compris entre 5,2 et 14,6 nm qui n'est pas atteinte aux plus faibles forces ioniques. En effet, quand I diminue, une superposition plus large des mobilités est observée. Dans les conditions de la séparation ($I = 6\text{ mM}$), les auteurs ont pu mettre en évidence une dépendance linéaire de la mobilité des particules en fonction de a^{-1} , néanmoins aucune résolution d'un mélange de populations de particules de tailles différentes n'a été présentée.

Peu d'études existent sur la séparation et la caractérisation d'Au NPs par CZE, la plupart ayant été menées en présence de micelles. Ainsi, une séparation en fonction de la taille est proposée par Hwang et al. [57] pour un mélange de deux populations de Au NPs de 5 et 20 nm de diamètre dans une solution de Tris 50 mM, pH 9,2. Templeton et al. [145] ont quant à eux caractérisé par CZE des nanoclusters d'or protégés par une monocouche de Tiopronine fonctionnalisée ou non par du viologène, dans un électrolyte borate de sodium 20 mM, pH 9,3. Les auteurs ont observé le changement de signe de mobilité (de négatif à positif) inhérent

à la fonctionnalisation par le viologène. Les profils électrophorétiques observés sont larges et peuvent être vus comme l'enveloppe partiellement résolues de pics qui se chevauchent. Cette dispersion est interprétée comme le reflet de l'hétérogénéité des deux populations de nanoclusters d'or : dispersion en taille des cœurs d'or combinée à la dispersion en nombre des ligands de surface.

En 1998, des Au NPs ont pour la première fois été dispersées et séparées dans un électrolyte contenant des tensioactifs cationiques à une concentration supérieure à la concentration micellaire critique [142]. Dans les conditions optimales de séparations (TTAB : bromure de tétradécyltriméthylammonium 7,5 mM, tétraborate 12,5 mM, pH 9) des particules de 29,6 et 11,9 nm de diamètre ont été séparées et la résolution en taille a pu être estimée (à partir de la largeur du pic mesurée à la base) à 4 nm de différence de diamètre moyen. Des particules d'or, stabilisées par adsorption d'un tensioactif cationique à leur surface, montrent une mobilité négative lors de leur caractérisation par MEKC dans un électrolyte SDS 70 mM + CAPS 10 mM pH 10. Les auteurs [146] postulent alors l'existence d'interactions entre les particules et le SDS bien que le mécanisme exact ne soit pas connu. Des résultats analogues ont été décrits par Liu et al. [143] dans le cas d'Au NPs stabilisées par adsorption de tensioactifs anioniques cette fois. Ainsi, des séparations en taille, impossibles en CZE, ont pu être observées en MEKC par les auteurs. Dans les conditions de séparation optimales (SDS 70 mM dans un tampon CAPS 10 mM, pH 10) un mélange de deux populations de Au NPs de 5,3 et 19 nm de diamètre a pu être séparé avec une résolution en taille estimée à 5 nm (Figure 23). A des concentrations élevées en tensioactifs, autrement dit lorsque la surface des particules est entièrement occupée par le SDS, les auteurs postulent une relation linéaire entre la mobilité et la taille des particules. Cette relation a pu être vérifiée expérimentalement pour des Au NPs de diamètre compris entre 5,3 et 38 nm, les plus grosses particules étant caractérisées par des valeurs de mobilité les plus élevées (Figure 24). Cette relation linéaire entre mobilité et rayon particulaire a par la suite permis l'utilisation de la CE pour une lecture directe de la taille d'Au NPs synthétisées par une méthode de chauffage rapide au micro-onde [126]. Une bonne corrélation a été trouvée entre les tailles déduites des valeurs de mobilité et celles obtenues par microscopie électronique. Enfin, les auteurs ont démontré l'intérêt d'une préconcentration par amplification de champ électrique après injection hydrodynamique d'un large volume d'échantillon (REPSM : reversed electrode polarity stacking mode) pour l'analyse des Au NPs [147]. Dans les mêmes conditions d'analyse que celles décrites

précédemment [143], l'utilisation de ce mode de préconcentration a permis d'améliorer la sensibilité de la détection des Au NPs d'un facteur 260.

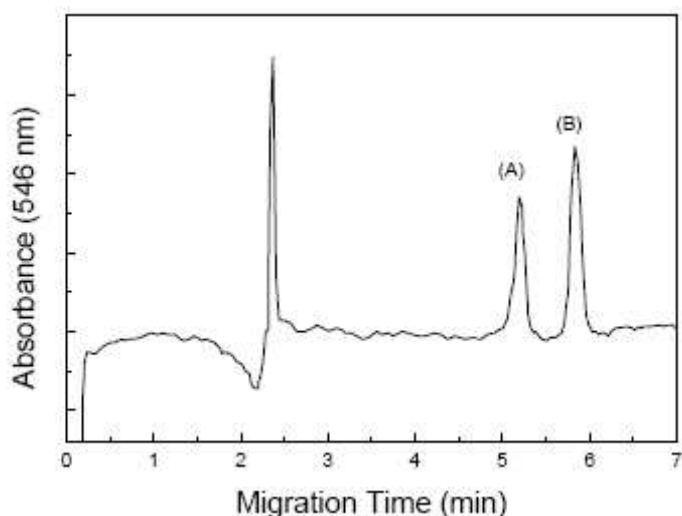


Figure 23 (Liu et al. [143]) : électrophérogramme montrant la séparation de deux populations de particules d'or ((A) 5,3 nm et (B) 19 nm de diamètre) dans un tampon CAPS 10 mM, pH 10 en présence de SDS à 70 mM.

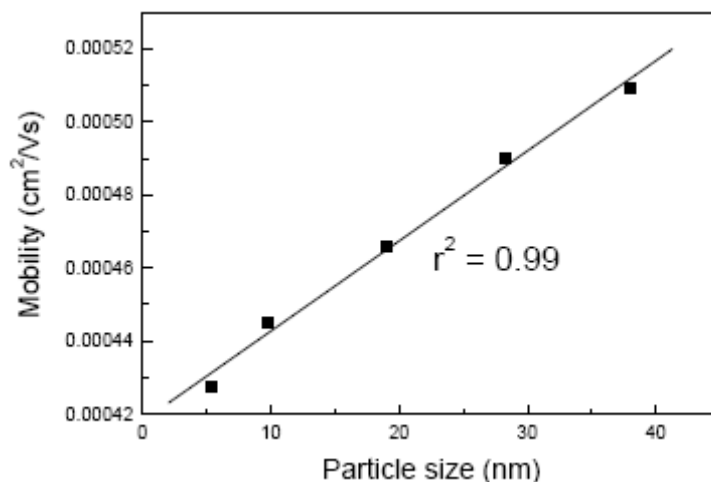


Figure 24 (Liu et al. [143]) : variation de la mobilité électrophorétique de particules d'or en fonction de leur diamètre. Conditions expérimentales : voir figure 23.

Ces études en milieu micellaire ont été étendues, par le même groupe, à la caractérisation de nanoparticules d'argent (Ag NPs) de taille et de forme différentes [148]. Un mélange de deux populations de Ag NPs sphériques de 17 et 49,7 nm de diamètre a pu être séparé ($R_s > 1,5$) dans un tampon Tris 10 mM pH 8,5 à la concentration optimale de 20 mM en SDS. Une population de particules sphériques (80,2 nm de diamètre) et une population de batonnets (55,5 nm de diamètre, 355,1 nm de longueur) n'ont pu être que partiellement séparées dans ces mêmes conditions. Néanmoins, le spectre d'absorption UV-Vis enregistré à différents temps de migration, grâce au détecteur à barrette de diodes, permet une identification des pics sur la base des bandes de résonance des plasmons de surface, caractéristiques de la morphologies de particules. Des coeur/coquilles Au/Ag ont également été caractérisés en taille dans un tampon CAPS 10 mM, pH 9, contenant du SDS 40 mM [149]. Une relation linéaire a été vérifiée entre la taille des coeur/coquilles et leur mobilité électrophorétique, pour des diamètres compris entre 24,3 et 90,2 nm. Enfin le mélange d'une population de Au NPs et d'une population de coeur/coquilles Au/Ag, résultant du milieu de synthèse des coeur/coquilles, a pu être séparé et la taille des coeur/coquilles estimée, en bon accord avec les observations en microscopie électronique, grâce à l'étalonnage établi au préalable. La caractérisation chimique des NPs étant basée sur l'allure des spectres d'absorption UV-Vis

obtenus à différents temps de migration grâce au détecteur à barrette de diodes. Dans les mêmes conditions d'analyses que celles décrites précédemment [149], l'utilisation d'une préconcentration par REPSM a permis d'améliorer la détection des Au NPs (17,2 nm) et des coeur/coquilles Au/Ag (60,1 nm) d'un mélange, leurs limites de détection étant augmentées d'un facteur 30 et 140 respectivement, par comparaison.

I.4.2.3. Les semi-conducteurs (quantum dots)

Les quantum dots (QDs) sont des cristaux de semi-conducteurs inorganiques de taille nanométrique (1-10 nm). Ces particules possèdent des propriétés de photoluminescence fortement dépendantes de leur taille en raison de l'effet de confinement quantique [150]. Sous excitation, ils réémettent des photons avec une longueur d'onde allant du bleu au rouge lorsque leur diamètre augmente [151, 152]. Les propriétés photophysiques remarquables des QDs en font d'excellents marqueurs photoluminescents susceptibles de remplacer avantageusement les colorants organiques classiques en bio-imagerie [153]. De nombreux travaux ont récemment montré l'utilité des QDs en biologie ou en bio-imagerie [154-156]. Les QDs les plus utilisés pour ce type d'applications sont les chalcogénures de cadmium et particulièrement les nanocristaux de CdSe ou de CdTe passivés par du sulfure de zinc ZnS. Les méthodes classiques ne permettent pas d'évaluer aisément l'homogénéité des QDs synthétisés [157]. En effet, la microscopie électronique à transmission (TEM) se révèle difficile à mettre en œuvre pour les QDs hydrosolubles (agrégation sur la grille de dépôt) et ne permet pas d'évaluer l'homogénéité de l'ensemble de l'échantillon. Quant à la diffusion de lumière, elle présente encore de nombreux problèmes technologiques pour les tailles inférieures à 10 nm. Récemment, l'électrophorèse capillaire (CE) a été utilisée avec succès dans la séparation en taille de QDs en milieu libre [157] ou en solutions de polymères [158]. Elle a également été employée pour la caractérisation de QDs fonctionnalisés par différents ligands de surface [159] ainsi que par des biomolécules [160] ou encore pour la collecte de fractions homogènes de QDs [158].

L'électrophorèse capillaire de zone (CZE) couplée à une détection à barrette de diodes a été utilisée avec succès pour le suivi de la croissance en taille, au cours de la synthèse de nanoparticules hydrosolubles de tellure de cadmium fonctionnalisées en périphérie par de l'acide thioglycolique (CdTe@TGA) [157]. Les échantillons sont séparés en mode de

polarité normale dans un électrolyte borate 25 mM pH 8,5. La détermination du $\lambda_{\max}$ de chaque sous-population a permis d'évaluer le diamètre des nanoparticules formées. Une relation de proportionnalité inverse entre la mobilité électrophorétique des QDs et leur diamètre (< 4 nm) a été proposée, sans l'appui d'un modèle théorique. Cette relation n'apparaît toutefois pas satisfaisante dans la mesure où, expérimentalement, des QDs de mobilités identiques peuvent présenter des $\lambda_{\max}$ différents. La méthode électrophorétique développée a permis l'optimisation de la synthèse, une évaluation simple et rapide de l'homogénéité en taille des populations de QDs synthétisés ainsi que de l'efficacité de la purification (tri en taille) par précipitations sélectives. La CZE étant limitée en résolution, aucun article à ce jour ne décrit la séparation d'un mélange de QDs présentant des diamètres particuliers voisins (différence de diamètre inférieure à 3 nm).

Une telle séparation en taille a été obtenue en solution de polymère, dans un capillaire modifié polyacrylamide, à partir d'un mélange de deux populations de particules de CdTe (diamètre moyen égal à 1,9 et 4,5 nm respectivement) fonctionnalisées en surface par de l'acide 3-mercaptopropionique [158]. Une solution de polyacrylamide (PAA, 400 kDa) à 5 % dans un électrolyte de séparation Tris 178 mM + acide borique 178 mM pH 8,8 s'est révélée constituer le meilleur tamis moléculaire, au vu des profils électrophorétiques, par comparaison à une solution d'hydroxypropylméthylcellulose (HPMC, 4000 cp) à 0,2 % ou à une solution de polyvinylpyrrolidone (PVP, 1000 kDa) à 5 % dans le même électrolyte de séparation. Une augmentation de la concentration en PAA de 0 à 6 % permet d'améliorer la séparation en taille mais s'accompagne d'un élargissement de pic, comme l'illustre la figure 25, du fait de la dispersion en taille des particules de chaque population [158].

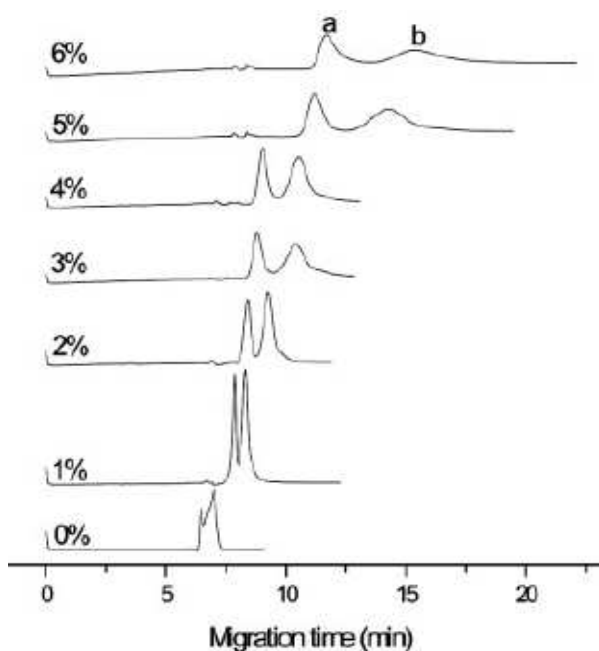


Figure 25 (Song et al. [158]) : électrophérogrammes montrant la séparation d'un mélange de deux populations de particules de CdTe (a : 1,9 nm et b : 4,5 nm de diamètre) dans un électrolyte Tris 178 mM + acide borique 178 mM pH 8,8 en présence de PAA à différentes concentrations (0-6 %).

La CZE couplée à la détection par absorbance UV ou par fluorescence induite par laser a été utilisée pour la caractérisation de différents QDs commerciaux (composition chimique, nature du ligand de surface): coeur/coquilles CdTe/CdS fonctionnalisés par du mercaptopropionate de sodium (diamètre moyen compris entre 4,5 et 5,5 nm) ou coeur/coquilles CdSe/ZnS fonctionnalisés par des groupements alkylcarboxylate (diamètre moyen de l'ordre de 6,5 nm) [159]. Des problèmes d'agrégation sont rapportés aux faibles valeurs de pH (< 6) [158, 159], en présence de cations métalliques divalents ou encore de protéines (lysozyme) de charge nette positive [159]. Sur la base des temps de migration des différents QDs, le degré d'ionisation de leurs groupements de surface a été évalué en milieu phosphate de sodium (5-25 mM, pH 7,5-11). La biofonctionnalisation de QDs de CdTe, initialement modifiés par de l'acide 3-mercaptopropionique, a également été évaluée en CZE couplée à la détection par fluorescence induite par laser [160]. Les QDs libres ou complexés, par de l'albumine de sérum bovin ou de la peroxydase de raifort, ont été séparés en tampons alcalins (borate de sodium 6,25-25 mM, pH 8-11). A partir des électrophérogrammes, le pourcentage des QDs complexés a pu être calculé permettant, dans un premier temps d'estimer le rendement de réaction et dans un second temps d'apprécier l'efficacité des purifications par ultra-filtration.

I.5. L'utilisation des NPs en électrochromatographie capillaire (CEC) et chromatographie électrocinétique capillaire (EKC) ^[161-165]

L'électrochromatographie capillaire (CEC) est une technique séparative qui allie la haute efficacité de l'électrophorèse capillaire (CE) avec la sélectivité de la chromatographie en phase liquide à haute performance (HPLC). La CEC requiert généralement l'utilisation de colonnes remplies [166], de monolithes [167] ou de colonnes ouvertes [168]. Une voie alternative, la chromatographie électrocinétique (EKC), consiste à utiliser une pseudo-phase stationnaire (PSP) dans l'électrolyte de séparation.

I.5.1. Les NPs comme pseudo-phase stationnaire dans l'électrolyte de séparation

Les PSPs qui sont à l'origine d'interactions avec les composés d'intérêt, se déplacent dans la direction de (ou dans la direction opposée à) l'électrolyte de séparation. Aucun remplissage de colonne, ni fritté, n'est nécessaire dans ce type de systèmes. Avec l'utilisation d'une PSP, la phase est continuellement renouvelée. Néanmoins, des problèmes de détection peuvent être rencontrés du fait de la présence de la PSP au niveau de la fenêtre de détection. Dans ce cas, une technique de remplissage partiel (PF) [169, 170] peut être envisagée, bien que la technique de remplissage en continu (CFF) [171, 172] soit plus facile à optimiser et permette l'obtention de séparations plus délicates. Différents types de PSPs ont été utilisées, telles que des micelles [173], des cyclodextrines (CD) [174], des protéines [169], des ionènes [175], des siloxanes linéaires [176], des liposomes [177] et des microémulsions [178]. L'utilisation des NPs comme PSP a été décrite pour la première fois par Wallingford et Ewing [179]. Par comparaison à d'autres PSPs, telles que les micelles, les NPs offrent l'avantage d'être compatibles avec une détection par spectrométrie de masse (MS) [172], ce qui ouvre des perspectives intéressantes.

Les NPs doivent remplir certains critères pour pouvoir être utilisées comme PSP en EKC [163] :

- Former des suspensions stables dans une large gamme d'électrolytes
- Fournir la sélectivité recherchée en interactions avec des électrolytes
- Être chargées, i.e. ne pas se déplacer à la vitesse de l'écoulement électroosmotique
- Montrer une homogénéité de vitesse pour éviter un élargissement de pic

- Montrer une faible résistance au transfert de masse
- Ne pas perturber la détection
- Etre de petite taille pour développer une surface spécifique importante de sorte à augmenter la capacité d'échantillon.

Un aperçu de l'étendue des PSPs à base de NPs utilisées en EKC dans l'électrolyte de séparation a été résumé de façon non exhaustive dans le tableau 1.

I.5.2. Les NPs comme phase stationnaire à la surface des capillaires

Cette partie va décrire l'utilisation des NPs comme matériel de revêtement, immobilisé à la surface des capillaires, pour leur utilisation en tant que phase stationnaire en CEC. L'obtention d'une telle couche, stable, de NPs implique une procédure de dépôt souvent fastidieuse ce qui constitue l'inconvénient majeur de cette configuration en CEC. En outre, il est important de trouver une stratégie pour augmenter la surface spécifique de la phase stationnaire de sorte à améliorer la capacité d'échantillon.

Un aperçu de l'étendue des phases stationnaires à base de NPs utilisées en CEC immobilisées à la surface des capillaires (colonnes ouvertes) a été résumé de façon non exhaustive dans le tableau 2.

I.5.3. Les NPs incorporées dans des monolithes

Seulement peu d'articles décrivent l'incorporation de particules dans des monolithes pour leur utilisation comme phase stationnaire en CEC. La plupart décrivent la préparation de monolithes incorporant des particules de silice micrométriques (3-6 μm de diamètre) par voie sol-gel [180-183]. En ce qui concerne les particules de taille nanométrique, nous pouvons néanmoins citer l'utilisation de particules de latex (65-70 nm) fonctionnalisées par des groupements ammonium quaternaire pour la préconcentration et la séparation en CEC d'anions inorganiques [184, 185] et organiques [186], fixées à la surface de monolithes de polymère [184, 186] ou de silice [185]. Une nouvelle phase stationnaire monolithique a également été réalisée par incorporation de SWNTs (0,84 nm de diamètre moyen) à un monolithe de polymère organique [187]. Les performances de cette phase stationnaire ont alors été évaluées sur un mélange de peptides en CEC.

Nature des NPs	Fonctionnalisation*	Dimensions** (Par défaut, diamètre)	Conditions opératoires en EKC	Composés d'intérêt	Réf.
Polymère hydrophobe	Sulfonate	20 nm	-	Catécholamines	[179]
Polystyrène divinylbenzène	Sulfonate	225 nm	Capillaire en silice vierge CFF CE-UV indirecte à 214 nm	Cations inorganiques (métaux alcalins, ions ammonium)	[188]
	HP-β-CD	15 nm	Capillaire en silice vierge NPs en combinaison avec HP-β-CD dans l'électrolyte de séparation CFF CE-UV à 214 nm.	Enantiomères du propranolol	[189]
Polystyrène	β-CD	np	Capillaire en silice vierge NPs en combinaison avec β-CD dans l'électrolyte de séparation CFF CE-UV à 254 nm.	Enantiomères du clenbutérol	[190]
Poly(N-isopropyl-acrylamide)	nf	547 kDa	Capillaire modifié PVP CFF CE-LIF	Polymorphisme de l'ADN	[191]
Monomères acrylates	Carboxylate	160 nm	Capillaire en silice vierge PF/CFF CE-ESI-MS	Salbutamol, nortriptyline, diphénhydramine	[172]
	Dextran	600 nm	Capillaire en silice vierge CFF CE-ESI-MS	Phtalates de dialkyles	[192]
Monomères acrylates	Empreinte moléculaire : (S)-ropivacaine / (S)-propranolol	np	Capillaire en silice vierge PF CE-UV à 195 et 214 nm	Enantiomère du propranolol et de la ropivacaine	[193]
	Empreinte moléculaire : (+) éphédrine	100-200 nm	Capillaire en silice vierge PF CE-UV à 214 nm	Enantiomères de l'éphédrine	[194]

Monomères acrylates ^[170, 193, 195-198] , + monomères tensioactifs ^[198]	Empreinte moléculaire : (S)-propranolol	200-500 nm ^[170] , 20-30 µm ^[195] , 100-400 nm ^[197] , 30-150 nm ^[198]	Capillaire modifié : (méthacryloxy)propyltriméthoxysilane ^[170] ; faible écoulement électroosmotique ^[196] Capillaire silice vierge ^[193, 195, 198] PF ^[170, 193, 196-198] CE-UV à 195 ^[193, 196] , 214 ^[193, 198] , 215 nm ^[170, 196] et 210 nm ^[195]	Enantiomères du propranolol ^[170, 193, 195-198] , de la ropivacaïne ^[193] , de l'aténolol ^[197] , du pindolol ^[197]	^[170, 193, 195-198]
Silice greffée (RP-18)	SDS	1500 nm ^[199] 500 nm ^[171]	Capillaire en silice vierge PF ^[199] ; CFF ^[171] NPs en interaction avec de l'urée et/ou des β-CD, détection LIF ^[171] CE-UV à 206 et 211 nm ^[199] ; CE-LIF ^[171]	Dérivés du phénol ^[199] ; composés aromatiques polycycliques, dérivés du naphthalène ^[171]	^[171, 199]
	carboxylate	500 nm	Capillaire en silice vierge CFF CE-UV à 220 nm et/ou CE-LIF	Composés aromatiques polycycliques, dérivés du naphthalène	^[200]
	nf	14,2 nm	Capillaire en silice vierge CFF CE-UV à 254 nm	Phtalates de dialkyles et stéroïdes	^[201]
SiO ₂	amine ou neutre	0,3-3 nm	Capillaire en silice vierge ou modifié par adsorption de NPs CFF CE-UV à 220 nm	Acides aromatiques et isomères de structure d'acides aromatiques	^[202]
	nf	60 nm	Capillaire modifié PVP/PEO CFF CE-LIF	Amines présentant une activité biologique, urine	^[203]
	nf	20 nm	Capillaire modifié PVP/PEO CFF NPs en combinaison avec du PEO dans l'électrolyte de séparation CE-UV à 20 nm	Protéines	^[204]

Al ₂ O ₃ , TiO ₂	β-CD	np	Capillaire en silice vierge NPs en combinaison avec β-CD dans l'électrolyte de séparation CFF CE-UV à 254 nm.	Enantiomères du clenbutérol	[190]
Au NPs	PEO	3,5-56 nm [205] 6 nm [209] 32 nm [206, 208] 56 nm [207]	Capillaire modifié PVP [205-208], ou par adsorption de NPs modifiées DDAB (EOF inversé) [209] CFF CE-LIF [205-208] CE-UV à 220 nm [209]	ADN double brins (8 pb-48,5 kpb) [205-208]; protéines acides et basiques [209]	[205-209]
Ag NPs	β-CD	21 nm	Capillaire en silice vierge NPs en combinaison avec β-CD dans l'électrolyte de séparation CFF CE-UV à 214 nm.	Enantiomères d'aryle-alcools	[210]
Fullerènes C ₆₀	SDS	np	Capillaire en silice vierge CFF CE-UV à 254 nm	Composés aromatiques polycycliques	[103]
SWNT	Traitement acide (groupements hydroxyle, carbonyle et carboxyle)	Diamètre : 1,2-1,4 nm Longueur : 500-600 nm	Capillaire modifié polyimide CFF CE-UV à 214 nm	Caféine, théobromine, catéchol, hydroquinone	[211]
		Diamètre : (i) 0,7-12 nm Longueur : (i) 2–20 mm	Capillaire en silice vierge PF CE-UV à 195 nm	Carbohydrates (glucose, fructose, maltose)	[212]
	SDS	Diamètre : 0,7-12 nm Longueur: 2–20 mm	Capillaire en silice vierge NPs en combinaison avec du (i)-(iii) SDS ou des (ii) β-CD dans l'électrolyte de séparation CFF CE-UV à 210 nm	(i)Chlorophénols, (ii)Anti-inflammatoires non-stéroïdiens, (iii)pénicillines	[213]

(i)SWNT/ (ii)MWNT	SDS	Diamètre : (i) 0,7-12 nm; (ii) 6-20 nm Longueur: (i) 2–20 mm; (ii) 1-5µm	Capillaire en silice vierge PF CE-UV à 200 nm	Enantiomères de l'éphédrine, de la noréphédrine et de la N- méthyléphédrine	[214]
MWNT	β-CD	Diamètre : 10-20 nm	Capillaire en silice vierge NPs en combinaison avec β-CD dans l'électrolyte de séparation CFF CE-UV à 254 nm.	Enantiomères du clenbutérol	[190]
	Traitement acide (groupements hydroxyle, carbonyle et carboxyle)	Diamètre : 8-15 nm ^[215]	Capillaire en silice vierge CFF NPs en combinaison avec du PVP dans l'électrolyte de séparation ^[216] CE-UV à 254 nm ^[215] CE-CCD ^[216]	Purine et dérivés de la pyrimidine ^[215] ; fragments d'ADN ^[216]	[215, 216]

Tableau 1 : exemples de PSPs à base de NPs utilisées en EKC dans l'électrolyte de séparation

* nf : non fonctionnalisé

** np : non précisé

Nature des NPs	Fonctionnalisation*	Dimensions** (Par défaut, diamètre)	Conditions opératoires en CEC	Composés d'intérêt	Réf.
Polystyrène	Diamines ^[217] + diol ^[217, 218]	40-140 nm	Capillaire silice vierge Revêtement total CE-UV à 215 nm ^[217] ; CE-ESI-MS ^[218]	Protéines et peptides	[217, 218]
Latex	Ammoniums quaternaires	75 nm	Capillaire silice vierge Revêtement partiel dans zone de préconcentration en entrée ^[219-221] Revêtement total ^[219, 222-224] CE-UV à 195 ^[219, 221-222] , 210 ^[224] , 214 ^[219, 223] , 226 ^[220] et 254 nm ^[222]	Anions inorganiques	[219-224]
	(i) Thiol (ii) Citrate	(i) 5 nm (ii) 18 nm	(i) Capillaire silice vierge (ii) Capillaire modifié avec du chlorure de poly(diallyldiméthylammonium) (PDADMAC) Revêtement total CE-UV à 254 nm	Acides et bases aromatiques	[225]
		1-2 nm	Capillaire modifié avec du 3-aminopropyl- triméthoxysilane (APTMS) ou du 3- mercaptopropyltriméthoxysilane (MPTMS) Revêtement total CE-UV à 200 et 270 nm		[226]
Au NPs	Dodécane-thiol	2-3 nm	Capillaire préalablement gravé avec de l'hydrogénéofluorure d'ammonium (augmentation de la surface) puis modifié avec du MPTMS Revêtement total CE-UV à 254 nm Capillaire recouvert de MPTMS en tant que précurseur sol-gel Revêtement total CE-UV à 200 et 254 nm	Thiourée ^[226-228] , benzophénone ^[226-228] , biphényle ^[226-228] , pyréthroides ^[226] , composés aromatiques polycycliques ^[227, 228]	[227] [228]

Au NPs	Citrate	18 nm	Capillaire modifié APTMS + alcanethiols pour l'assemblage d'Au NPs en monocouche et multicouche Revêtement total CE-UV à 247 nm	Stéroïdes	[229]
	Octadécylamine	5-7 nm	Capillaire en silice vierge Revêtement total CE-UV à 200 et 247 nm	Thiourée, naphtalène, biphényle, hormones stéroïdiennes	[230]
SiO ₂	Nf	np	Capillaire modifié avec de la poly(L-lysine) (PLL) également utilisé pour l'assemblage des SiO ₂ NPs en multicouche Revêtement total CE-LIF	Amines et acides biologiquement actifs	[231]
TiO ₂	PEG	10 nm	Capillaire en silice vierge Polyéthylèneglycol (PEG, 8000 Da) dans la suspension de NPs en tant que précurseur sol-gel. Revêtement total CE-UV à 214 nm	Oligopeptides ^[232] (angiotensines) et protéines ^[233] (conalbumine, apo-transferrine, ovalbumine et albumine de sérum bovin)	[232, 233]
SWNT	Traitement acide (groupements hydroxyle, carbonyle et carboxyle)	Diamètre : 0,79–1,2 nm Longueur: 100–300 nm	Capillaire modifié avec du chlorure de Poly(diallyldiméthylammonium) (PDMA) Revêtement total CE-UV à 214 nm	Dérivés de l'aniline	[234]

Tableau 2 : phases stationnaires à base de NPs utilisées en CEC immobilisées à la surface des colonnes ouvertes

* nf : non fonctionnalisé

** np : non précisé

I.6. Références bibliographiques

- [1] Disponible sur :
http://www.malverninstruments.fr/LabFre/industry/nanotechnology/nanoparticle_definition.htm
- [2] J. H. Masliyah, S. Bhattacharjee, *Electrokinetic and colloid transport phenomena*, John Wiley and Sons, Inc., New Jersey (2006)
- [31] R. J., Hunter, *Foundations of colloid Science*, 2nd ed., Oxford University Press, Oxford (2001)
- [4] D. Lootens, *Ciments et suspensions concentrées modèles. Ecoulement, encombrement et floculation*, Thèse, Université Pierre et Marie Curie (2004), Paris
- [5] I., Lucas, *Réactivité de nanoparticules aux interfaces: Phénomènes électrocinétiques à l'échelle nanométrique, Transfert électronique en milieu colloïdal*, Thèse, Université Pierre et Marie Curie (2007), Paris
- [6] G. Mériguet, *Structure et dynamique des colloïdes magnétiques : détermination expérimentale et modélisation brownienne*, Thèse, Université Pierre et Marie Curie (2005), Paris
- [7] R. Massart, *C. R. Acad. Sci. Paris*, **291**, 1, (1980)
- [8] F. Biaso, *Mécanismes de coordination du fer (III) par des ligands tripodes à sous unités 8-hydroxyquinoléine et catéchol et par l'acide citrique*, Thèse, Université J. Fourier (2002), Grenoble
- [9] E. Dubois, *Stabilité des solutions colloïdales magnétiques (ferrofluides)*, Thèse, Université Pierre et Marie Curie (1997), Paris
- [10] S. Laurent, D. Forge, M. Porc, A. Roch, C. Robic, L. V. Elst, R. N., Muller, *Chem. Rev.*, **108**, 2064, (2008)
- [11] D. K. Kim, Y. Zhang, W. Voit, K. V. Rao, M. J. Muhammed, *Magn. Magn. Mater.*, **225**, 30, (2001)
- [12] J. A. Ascencio, C. Gutierrez-Wing, M. E. Espinosa-Pesqueira, M. Marin, S. Tehuacanero, C. Zorrilla, M. Jose-Yacamán, *Surf. Sci.*, **396**, 349, (1998)
- [13] S. Santra, R. Tapeç, N. Theodoropoulou, J. Dobson, A. Hebard, W. Tan, *Langmuir*, **17**, 2900, (2001)
- [14] X. C. Sun, N. Nava, *Nano Lett.*, **2**, 765, (2002)

- [15] N. De Jaeger, H. Demeye, R. Findy, R. Sneyer, J. Vanderdeelen, P. Van der Meeren, M. Laethem, *Part. Part. Syst. Charact.*, **8**, 179, (1991)
- [16] Disponible sur: http://www.malverninstruments.fr/LabFre/technology/zeta_potential/zeta_potential_LDE.htm
- [17] S. P. Radko, A. Chrambach, *J. Chromatogr. B*, **722**, 1, (1999)
- [18] S. P. Radko, A. Chrambach, *Electrophoresis*, **23**, 1957, (2002)
- [19] M. A. Rodriguez, D. W. Armstrong, *J. Chromatogr. B*, **800**, 7, (2004)
- [20] D. H. Everett, *Basic Principles of colloid Science*, Royal Society of Chemistry, London, (1988)
- [21] R. F. Probstein, *Physicochemical Hydrodynamics, An Introduction*, 2nd ed., Wiley Interscience, New York, (2003)
- [22] R. J. Hunter, *Zeta Potential in Colloid Science*, Academic Press, London, (1981)
- [23] J. Lyklema, *Fundamentals of Colloid and Interface Science*, Vol. II, Academic Press, London, (1995)
- [24] R. J. Hunter, *Foundations of colloid Science*, 2nd ed., Oxford University Press, Oxford (2001)
- [25] H. Viallis-Therrisse, *Interaction des silicates de calcium hydratés, principaux constituants du ciment, avec les chlorures d'alcalins. Analogie avec les argiles*, Thèse, Université de Bourgogne (2000)
- [26] A. Naveau, *Etude et modélisation de la sorption d'ions à la surface de sulfures métalliques en conditions de stockage en milieu géologique profond*, Thèse, Université de Reims Champagne-Ardenne (2005), Reims
- [27] G. Gouy, *J. Phys. Radium*, **9**, 457, (1910)
- [28] D. L. Chapman, *Phil. Mag.*, **25**, 475 (1913)
- [29] O. Stern, *Z. Elektrochem.*, **30**, 508 (1924)
- [30] D. C. Grahame, *Chem. Rev.*, **41**, 441 (1947)
- [31] D. J. Shaw, *Introduction to colloid and surface chemistry*, 3rd ed., Butterworths, London, (1980)
- [32] A. L. Loeb, J. Th. G. Overbeek, P. H. Wiersema, *The electric double layer around a spherical colloid particle*, MIT Press, Boston, (1961)
- [33] L. R. White, *J. Chem. Soc. Faraday Trans. II*, **73**, 577, (1977)
- [34] H. Ohshima, T.W. Healy, L.R. White, *J. Colloid Interface Sci.*, **89**, 484, (1982)
- [35] H. Ohshima, *J. Colloid Interface Sci.*, **171**, 525, (1995)
- [36] H., Ohshima, *J. Colloid Interface Sci.*, **247**, 18, (2002)

- [37] E. Bertrand, *Interactions entre surfaces : Lifshitz et Herfrich avaient-ils déjà tout dit ?*, HDR, Université Pierre et Marie Curie (2007), Paris
- [38] L. Dusoulier, *Elaboration de dépôts d'YBa₂Cu₃O_{7-x} par électrophorèse et projection plasma*, Thèse, Université de Liège (2007)
- [39] B. V. Derjaguin, L. D. Landau, *Acta Physicochim. URSS*, **14**, 633, (1941)
- [40] E. J. W. Verwey, J. T. G. Overbeek, *Theory of the stability of lyophobic colloids*, Elsevier, Amsterdam, The Netherlands, (1948)
- [41] J. P. Jolivet, *De la solution à l'oxyde*, Savoirs Actuels, CNRS Edition, Paris, France, (1994)
- [42] J. Israelachvili, *Intermolecular and surface forces*, 2nd ed., Academic Press, London, (1991)
- [43] P. H. Wiersema, A. Loeb, J. Th. G. Overbeek, *J. Colloid Interface Sci.*, **22**, 78, (1966)
- [44] M. von Smoluchowski, *Z. Phys. Chem.*, **92**, 129, (1918)
- [45] E. Hückel, *Phys. Z.*, **25**, 204, (1924)
- [46] D. C. Henry, *Proc. Roy. Soc. Lond. Ser. A*, **133**, 106, (1931)
- [47] H. Ohshima, *J. Colloid and Interface Sci.*, **168**, 269, (1994)
- [48] J. Th. G. Overbeek, *Kolloide Beihefte*, **54**, 287, (1943)
- [49] F. Booth, *Proc. Roy. Soc. Lond. Ser. A*, **203**, 514, (1950)
- [5] R. W. O'Brien, L. R. White, *J. Chem. Soc. Faraday Trans. II*, **74**, 1607, (1978)
- [51] S. S. Dukhin, N. M. Semnikhin, *Kolloid Zh.*, **32**, 360, (1970)
- [52] R. W. O'Brien, R. J. Hunter, *Can. J. Chem.*, **59**, 1878, (1981)
- [53] H. Ohshima, T. W. Healy, L.R. White, *J. Chem. Soc. Faraday Trans.*, **2**, 1613, (1983)
- [54] H. Ohshima, *J. Colloid Interface Sci.*, **239**, 587, (2001)
- [55] H. Ohshima, *Colloids and Surfaces A: Physicochem. Eng. Aspects*, **267**, 50, (2005)
- [56] N. G. Vanifatova, B. Y. Spivakov, J. Mattusch, R., Wennrich, *J. Chromatogr. A*, **898**, 257 (2000)
- [57] W. M. Hwang, C. Y. Lee, D. W. Boo, J. G. Choi, *Bull. Korean Chem. Soc.*, **25**, 684, (2003)
- [58] J. C. Stokes, M. E. Johnson, *Microchem. J.*, **76**, 121, (2004)
- [59] Y. Xue H. Y. Yang Y. T. Yang, *Chin. Chem. Lett.*, **16**, 67, (2005)
- [60] H. Ahmadzadeh, R. Dua A. D. Presley, E. A. Arriaga, *J. Chromatogr. A*, **1064**, 107, (2005)
- [61] Y. H. Rezenom, A. D. Wellman, L. Tilstra, C. D. Medley, S. Douglass Gilmann., *The Analyst*, **132**, 1215, (2007)

- [62] D. Andreyev, E. A. Arriaga, *Anal. Chem.*, **79**, 5474, (2007)
- [63] B. B. VanOrman, G. L. McIntire, *J. Microcol. Sep.*, **1**, 289, (1989)
- [64] B. B. VanOrman Huff, G. L. McIntire, *Amer. Lab.*, **22**, 66, (1990)
- [65] H. K. Jones, N. E. Ballou, *Anal. Chem.*, **62**, 2484, (1990)
- [66] S. L. Petersen, N. E. Ballou, *Anal. Chem.*, **64**, 1676, (1992)
- [67] B. Fourest, N. Hakem, R. Guillaumont, *Radiochim. Acta*, **66/67**, 173, (1994)
- [68] B. Fourest, N. Hakem, R. Guillaumont, *J. Radioanal. Nucl. Chem.*, **208**, 309, (1996)
- [69] S. P. Radko, M. Stastna, A. Chrambach, *Electrophoresis*, **21**, 3583, (2000)
- [70] C. F. Duffy, A. A. McEathron, E. A. Arriaga, *Electrophoresis*, **23**, 2040, (2002)
- [71] B. B. VanOrman, G. L. McIntire, *J. Microcol. Sep.*, **6**, 591, (1994)
- [72] Y. Okamoto, F. Kitagawa, K. Otsuka, *Electrophoresis*, **27**, 1031, (2006)
- [73] J. Janca, S. Le Hen, M. Spirkova, J. Stejkal, *J. Microcol. Sep.*, **9**, 303, (1997)
- [74] L. Krivankova, P. Pantuckova, P. Bocek, *Electrophoresis*, **21**, 627, (2000)
- [75] G. Vanhoenacker, L. Goris, P. Sandra, *Electrophoresis*, **22**, 2490, (2001)
- [76] K. Tsukagoshi, A. Yamaguchi, N. Morihara, R. Nakajima, M. Murata, M. Maeda, *Chemistry Letters*, **9**, 926, (2001)
- [77] A. B. Hlatshwayo, C. A. Silebi, in : Provder, T. (Ed.), *Methods of Particle Size Analysis III. ACS Symposium Series 693*, Am. Chem. Soc., Washington, DC 1998, pp. 296-310
- [78] Z. Rosenzweig, E. S. Yeung, *Anal. Chem.*, **66**, 1771, (1994)
- [79] C. F. Duffy, S. Gafoor, D. Richards, H. Ahmadzadeh, R. O'Kennedy, E. A. Arriaga, *Anal. Chem.*, **73**, 1855, (2001)
- [80] N. Gunasekera, K. Musier-Forsyth, E. Arriaga, *Electrophoresis*, **23**, 2110, (2002)
- [81] A. Strack, C. F. Duffy, M. Malvey, E. A. Arriaga, *Anal. Biochem.*, **294**, 141, (2001)
- [82] K. M. Fuller, E. A. Arriaga, *Anal. Chem.*, **75**, 2123, 2003
- [83] G. Xiong, O. Aras, A. Shet, N. S. Key, E. A. Arriaga, *Analyst*, **128**, 581, (2003)
- [84] G. Mie, *Ann. Phys.*, **25**, 377, (1908)
- [85] H. W. Kroto, J. R. Heath, S. C. O'Brien, R. F. Curl, R. E. Smalley, *Nature*, **318**, 162, (1985)
- [86] H. Yokomichi, H. Sakima, N. Kishimoto, *Appl. Phys. Lett.*, **73**, 1827 (1999)
- [87] B. Cao, X. Zhou, J. Wang, *Chem. Lett.*, **8**, 735, (1998)
- [88] K. Kimata, T. Hirose, K. Moriuchi, *Anal. Chem.*, **67**, 2556, (1995)
- [89] J. Xiao, M.R. Savina, G.B. Martin, *J. Am. Chem. Soc.*, **116**, 9341, (1994)
- [90] S.A. Jenekhe, X.L. Chen, *Science*, **279**, 1903, (1998)
- [91] K. Yase, N. Ara-Kato, N. Tanigaki, *Thin Solid Films*, **331**, 131, (1998)

- [92] T. Da Ros, M. Prato, *J. Chem. Commun.*, **8**, 663, (1999)
- [93] I. C. Wang, L. A. Tai, D. D. Lee, P. P. Kanakamma, C. K.-F. Shen, T.-Y. Luh, C. H. Cheng, K. C. Hwang, *J. Med. Chem.*, **42**, 4614, (1999)
- [94] H. Hungerbuhler, D. M. Guldi, K. D. Asmus, *J. Am. Chem. Soc.*, **115**, 3386, (1993)
- [95] R. V. Bensasson, E. Bienvenue, M. Dellinger, S. Leach, P. Seta, *J. Phys.Chem.*, **98**, 3492, (1994)
- [96] N. Manolova, I. Rashkov, F. Beguin, H. Vandamme, *J. Chem. Soc., Chem. Commun.*, **23**, 1725, (1993)
- [97] Y.N. Yamakoshi, T. Yagami, K. Fukuhara, S. Sueyoshi, N. Miyata, *J. Chem. Soc., Chem. Commun.*, **4**, 517, (1994)
- [98] M. Brettreich, A. Hirsch, *Tetrahedron Lett.*, **39**, 2731, (1998)
- [99] R. Sijbesma, G. Srdanov, F.Wudl, J. A. Castoro, C. Wilkins, S. H. Friedman, D. L. Decamp, G. L. Kenyon, *J. Am. Chem. Soc.*, **115**, 6510, (1993)
- [100] I. Lamparth, A. Hirsch, *J. Chem. Soc., Chem. Commun.*, **14**, 1727 (1994)
- [101] K. W. Whitaker, M. J. Sepaniak, *Electrophoresis*, **15**, 1341, (1994)
- [102] S. Yang, J. G. Bumgarner, M. G. Khaledi, *J. High. Resolut. Chrom.*, **18**, 443, (1995)
- [103] J. M. Treubig, P. R. Brown, *J. Chromatogr. A*, **873**, 257, (2000)
- [104] S. L. Tamisier-Karolak, S. Pagliarusco, C. Herrenknecht, M. Brettreich, A. Hirsch, R. Céolin, R. V. Bensasson, H. Szwarc, F. Moussa, *Electrophoresis*, **22**, 4341, (2001)
- [105] K. C. Chan, A. K. Patri, T. D. Veenstra, S. E. McNeil, H. J. Issaq, *Electrophoresis*, **28**, 1518, (2007)
- [106] J. Cerar, M. Pompe, M. Gucek, J. Cerkovnik, J. Skerjanc, *J. Chromatogr. A*, **1169**, 86, (2007)
- [107] B. I. Ykobson, R. E. Smalley, *Am. Sci.*, **85**, 324, (1997)
- [108] J. Kong, N. R. Franklin, C. Zhou, M. G. Chapline, S. Peng, K. Cho, H. Dai, *Science*, **287**, 622, (2000)
- [109] A. C. Dillon, K. M. Jones, T. A. Bekkedahl, C. H. Kiang, D. S. Bethune, M. J. Heben, *Nature*, **386**, 377, (1997)
- [110] P. Chen, X. Wu, J. Lin, K. L. Tan, *Science*, **285**, 91, (1999)
- [111] C. Liu, Y. Y. Fan, M. Liu, H. T. Cong, H. M. Cheng, M. S. Dresselhaus, *Science*, **286**, 1127, (1999)
- [112] C. Journet, W. K. Maser, P. Bernier, A. Loiseau, M. Lamy de la Chapelle, S. Lefrant, P. Deniard, R. Lee, J. E. Fischer, *Nature*, **388**, 756, (1997)

- [113] A. Thess, R. Lee, P. Nikolaev, H. Dai, P. Petit, J. Robert, C. Xu, Y. H., Lee, S. G. Kim, A. G. Rinzler, D. T. Colbert, G. E., Scuseria, D. Tomanek, J. E. Fischer, R. E. Smalley, *Science*, **273**, 483, (1996)
- [114] P. Nikolaev, M. J. Bronokowski, R. K. Bradley, F. Rohmund, D. T. Colbert, K. A. Smith, R. E. Smalley, *Chem. Phys. Lett.*, **313**, 91, (1999)
- [115] S. K. Doorn, E. F. Robert, H. Hu, M. A. Hamon, R. C. Haddon, J. P. Selegue, V. Majidi, *J. Am. Chem. Soc.*, **124**, 3169, (2002)
- [116] S. K. Doorn, M. S. Strano, M. J. O'Connell, E. H. Haroz, K. L. Rialon, R. H. Haugue, R. E. Smalley, *J. Phys. Chem.*, **107**, 6062, (2003)
- [117] B. Vigolo, A. Penicaud, C. Coulon, C. Sauder, R. Pailler, C. Journet, P. Bernier, P. Poulin, *Science*, **290**, 1331, (2000)
- [118] B. H. Fishbine, *Fullerene Sci. Technol.*, **4**, 87, (1996)
- [119] B. Suarez, B. M. Simonet, S. Cardenas, M. Valcarcel, *J. Chromatogr. A*, **1128**, 282, (2006)
- [120] M. Lopez-Pastor, A. Dominguez-Vidal, M. J. Ayora-Canada, B. M. Simonet, B. Lendl, M. Valcarcel, *Anal. Chem.*, **80**, 2672, (2008)
- [121] H. Xiao, H. Zou, C. Pan, X. Jiang, X. C. Le, L. Yang, *Anal. Chim. Acta*, **580**, 194, (2006)
- [122] C. Quang, S. L. Petersen, G. R. Ducatte, N. E. Ballou, *J. Chromatogr. A*, **732**, 377, (1996)
- [123] R. M. McCormick, *J. Liq. Chromatogr.*, **14**, 939, (1991)
- [124] N. G. Vanifatova, B. Y. Spivakov, J. Mattusch, Wennrich, *Talanta*, **59**, 345, (2003)
- [125] U. Pyell, *Electrophoresis*, **29**, 576, (2008)
- [126] F. K. Liu, Y. Y. Lin, C. H. Wu, *Anal. Chim. Acta*, **528**, 249, (2005)
- [127] G. R. Ducatte, N. E. Ballou, C. Quang, S. L. Petersen, *J. Microcol. Sep.*, **8**, 403, (1996)
- [128] S., L. Petersen, N. E. Ballou, *J. Chromatogr. A*, **834**, 445, (1999)
- [129] N. G. Vanifatova, B. Y. Spivakov, J. Mattusch, U. Franck, R. Wennrich, *Talanta*, **66**, 605, (2005)
- [130] A. Morneau, V. Pillai, S. Nigam, F. M. Winnik, R. F. Ziolo, *Colloids Surf.*, **154**, 295, (1999)
- [131] A. Breeuwsma, J. Lyklema, *J. Colloid Interface Sci.*, **43**, 437, (1973)
- [132] G. Schmid, *Clusters and Colloids: From Theory to Applications*, VCH, Weinheim, 1994.

- [133] X. Ji, S. Xu, L. Wang, M. Liu, K. Pan, H. Yuan, L. Ma, W. Xu, J. Li, Y. Bai, T. Li, *Colloids Surf. A*, **171**, 257, (2005)
- [134] B. S. Mann, W. Shenton, M. Li, S. Connolly, D. Fitzmaurice, *Adv. Mater.*, **12**, 147, (2000)
- [135] C. J. Loweth, W. Caldwell, X. Peng, A. P. Alivisatos, P. G. Schultz, *Angew. Chem., Int. Ed. Engl.*, **38**, 1808, (1999)
- [136] K. Mallik, M. Mandal, N. Pradhan, T. Pal, *Nano Lett.*, **1**, 319, (2001)
- [137] R. G. Freeman, M. B. Hommer, K. C. Grabar, M. A. Jackson, M. J. Natan, *J. Phys. Chem.*, **100**, 718, (1996)
- [138] N. R. Jana, *Analyst*, **128**, 954, (2003)
- [139] L. Rivas, S. Sanchez-Cortes, J. V. Garcia-Ramos, G. Morcillo, *Langmuir*, **16**, 9722, (2000)
- [140] C. A. Mirkin, R. L. Letsinger, R. C. Mucic, J. J. Storhoff, *Nature*, **382**, 607, (1996)
- [141] J. Turkevich, *Gold Bull.* **18**, 125, (1985)
- [142] G. T. Wei, C. R. C. Wang, F. K. Liu, S. S. Chang, *J. Chin. Chem. Soc.*, **45**, 47, (1998)
- [143] F. K. Liu, G. T. Wei, *Anal. Chim. Acta*, **510**, 77, (2004)
- [144] U. Schnabel, C. H. Fischer, E. Kenndler, *J. Microcol. Sep.*, **9**, 529, (1997)
- [145] A. C. Templeton, D. E. Cliffel, R. W. Murray, *J. Am. Chem. Soc.*, **121**, 7081, (1999)
- [146] G. T. Wei, F. K. Liu, C. R. C. Wang, *Anal. Chem.*, **71**, 2085, (1999)
- [147] F. K. Liu, *J. Chromatogr. A*, **1167**, 231, (2007)
- [148] F. K. Liu, F. H. Ko, P. W. Huang, C. H. Wu, T. C. Chu, *J. Chromatogr. A*, **1062**, 139, (2005)
- [149] F. K. Liu, M. H. Tsai, Y. C. Hsu, T. C. Chu, *J. Chromatogr. A*, **1133**, 340, (2006)
- [150] C. B. Murray, C. R. Kagan, M. G. Bawandi, *Annu. Rev. Mater. Sci.*, **30**, 545, (2000)
- [151] M. Bruchez, M. Moronne, P. Gin, S. Weiss, A. P. Alivisatos, *Science*, **281**, 2013, (1998)
- [152] W. C. W. Chan, S. Nies, *Science*, **281**, 2016, (1998)
- [153] M. Green, *Angew. Chem. Int. ed.*, **43**, 4129, (2004)
- [154] S. P. Wang, N. Mamedova, N. A. Kotov, W. Chen, J. Struder, *Nano Lett.*, **2**, 817, (2002)
- [155] N. Mamedova, N. A. Kotov, A. Rogach, J. Struder, *Nano Lett.*, **1**, 281, (2001)
- [156] Z. B. Lin, S. X. Cui, H. Zheng, Q. Cheng, B. Yang, X. Su, J. Zhang, Q. Jin, *Anal. Biochem.*, **319**, 239, (2003)

- [157] I. Clarot, C. Wolpert, V. Morosini, R. Schneider, L. Diez, P. Leroy, *Spectra Analyse*, **262**, 21, (2008)
- [158] X. Song, L. Li, H. Qian, N. Fang, J. Ren, *Electrophoresis*, **27**, 1341, (2006)
- [159] M. Pereira, E. P. C. Lai, B. Hollebone, *Electrophoresis*, **28**, 2874, (2007)
- [160] X. Huang, J. Weng, F. Sang, X. Song, C. Cao, J. Ren, *J. Chromatogr. A*, **1113**, 251, (2006)
- [161] C. Nilsson, S. Birnbaum, S. Nilsson, *J. Chromatogr. A*, **1168**, 212, (2007)
- [162] C. Nilsson, S. Nilsson, *Electrophoresis*, **27**, 76, (2006)
- [163] B. Göttlicher, K. Bächmann, *J. Chromatogr. A*, **780**, 63, (1997)
- [164] C. P. Palmer, *Electrophoresis*, **23**, 3993, (2002)
- [165] C. P. Palmer, J. P. McCarney, *Electrophoresis*, **25**, 4086, (2004)
- [166] J. W. Jorgenson, K. D. Lukacs, *J. Chromatogr.*, **218**, 209, (1981)
- [167] F. Svec, *J. Sep. Sci.*, **28**, 729, (2005)
- [168] E. Guihen, J. D. Glennon, *J. Chromatogr. A*, **1044**, 67, (2004)
- [169] L. Valtcheva, J. Mohammed, G. Pettersson, S. Hjerteén, *J. Chromatogr. A*, **638**, 263, (1993)
- [170] L. Schweitz, P. Spégel, S. Nilsson, *Analyst*, **125**, 1899, (2000)
- [171] B. Göttlicher, K. Bächmann, *J. Chromatogr. A*, **768**, 320, (1997)
- [172] P. Viberg, M. Jornten-Karlsson, P. Petersson, P. Spégel, S. Nilsson, *Anal. Chem.*, **74**, 4595, (2002)
- [173] S. Terabe, K. Otsuka, K. Ichikawa, A. Tsuchiya, T. Ando, *Anal. Chem.*, **56**, 111, (1984)
- [174] S. Fanali, *J. Chromatogr.*, **474**, 441, (1989)
- [175] K. Kopecka, E. Tesarova, A. Pirogov, B. Gas, *J. Sep. Sci.*, **25**, 1027, (2002)
- [176] T. Chen, C. P. Palmer, *Electrophoresis*, **20**, 2412, (1999)
- [177] Y. X. Zhang, R. Zhang, S. Hjertén, P. Lundahl, *Electrophoresis*, **16**, 1519, (1995)
- [178] H. Watarai, *Chem. Lett.*, **35**, 391, (1991)
- [179] R.A. Wallingford, A. G. Ewing, *Adv. Chromatogr.*, **29**, 1, (1989)
- [180] C. Gatschelhofer, M. G. Schmid, K. Schreiner, T. R. Pieber, F. M. Sinner, G. Gübitz, *J. Biochem. Biophys. Methods*, **69**, 67, (2006)
- [181] S. Oguri, H. Tanagaki, M. Hamaya, M. Kato, T. Toyo'oka, *Anal. Chem.*, **75**, 5240, (2003)
- [182] Q. Tang, B. Xin, M. L. Lee, *J. Chromatogr. A*, **837**, 35, (1999)
- [183] D. Wistuba, L. Banspach, V. Schurig, *Electrophoresis*, **26**, 2019, (2005)

- [184] J. P. Hutchinson, P. Zakaria, A. R. Bowie, M. Macka, N. Avdalovic, P. R. Haddad, *Anal. Chem.*, **77**, 407, (2005)
- [185] J. P. Hutchinson, E. F. Hilder, M. Mackaa, N. Avdalovic, P. R. Haddad, *J Chromatogr. A*, **1109**, 10, (2006)
- [186] J. P. Hutchinson, M. Mackaa, N. Avdalovic, P. R. Haddad, *J. Chromatogr. A*, **1106**, 43, (2006)
- [187] Y. Li, Y. Chen, R. Xiang, D. Ciuparu, L. D. Pfefferle, C. Horvath, J. A. Wilkins, *Anal. Chem.*, **77**, 1398, (2005)
- [188] M. C. Breadmore, M. Macka, P. R. Haddad, *Electrophoresis*, **20**, 1987, (1999)
- [189] N. Na, Y. P. Hu, J. Ouyang, W. R. G. Baeyens, J. R. Delanghe, T. De Beer, *Anal. Chim. Acta*, **527**, 139, (2004)
- [190] N. Na, Y. P. Hu, O. Y. Jin, W. R. G. Baeyens, J. R. Delanghe, Y. E.C. Taes, M. X. Xie, H. Y. Chen, Y. P. Yang, *Talanta*, **69**, 866, (2006)
- [191] J. M. Song, A. Asthana, D. P. Kim, *Talanta*, **68**, 940, (2006)
- [192] C. Nilsson, P. Viberg, P. Spegel, M. Jornten-Karlsson, P. Petersson, S. Nilsson, *Anal. Chem.*, **78**, 6088, (2006)
- [193] P. Spegel, L. Schweitz, S. Nilsson, *Anal. Chem*, **75**, 6608, (2003)
- [194] T. de Boer, R. Mol, R. A. de Zeeuw, G. J. de Jong, D. C. Sherrington, P. A. G. Cormack, K. Ensing, *Electrophoresis*, **23**, 1296, (2002)
- [195] M. Walshe, E. Garcia, J. Horwarth, M. R. Smyth, M. T. Kelly, *Anal. Commun.*, **34**, 119, (1997)
- [196] P. Spegel, L. Schweitz, S. Nilsson, *Electrophoresis*, **22**, 3833, (2001)
- [197] P. Spegel, S. Nilsson, *Am. Lab.*, **34**, 29, (2002)
- [198] F. Priego-Capote, L. Ye, S. Shakil, S. A. Shamsi, S. Nilsson, *Anal. Chem.*, **80**, 2881, (2008)
- [199] K. Bächmann, B. Göttlicher, I. Haag, K. Y. Han, W. Hensel, A. Mainka, *J. Chromatogr. A*, **688**, 283, (1994)
- [200] B. Göttlicher, K. Bächmann, *Chromatographia*, **45**, 249, (1997)
- [201] C. Fujimoto, Y. Muranaka, *J. High Res. Chromatogr.*, **20**, 400, (1997)
- [202] B. Neiman, E. Grushka, J. Gun, O. Lev, *Anal. Chem.*, **74**, 3484, (2002)
- [203] I. T. Kuo, Y. F. Huang, H. T. Chang, *Electrophoresis*, **26**, 2643, (2005)
- [204] W. Qin, *Electrophoresis*, **28**, 3017, (2007)
- [205] M. F. Huang, C. C. Huang, H. T. Chang, *Electrophoresis*, **24**, 2896 (2003)
- [206] M. F. Huang, Y. C. Kyo, C. C. Huang, H. T. Chang, *Anal. Chem.*, **76**, 192 (2004)

- [207] S. H. Chiou, M. F. Huang, H. T. Chang, *Electrophoresis*, **25**, 2186, (2004)
- [208] W. L. Tseng, M. F. Huang, Y. F. Huang, H. T. Chang, *Electrophoresis*, **26**, 3069, (2005)
- [209] C. J. Yu, C. L. Su, W. L. Tseng, *Anal. Chem.*, **78**, 8004, (2006)
- [210] S. H. Choi, H. J. Noh, K. P. Lee, *Bull. Korean Chem. Soc.*, **26**, 1549, (2005)
- [211] Z. H. Wang, G. A., Luo, J. F. Chen, S. F. Xiao, Y. M. Wang, *Electrophoresis*, **24**, 4181, (2003)
- [212] G. Morales-Cid, B. M. Simonet, S. Cárdenas, M. Valcárcel, *Electrophoresis*, **28**, 1557, (2007)
- [213] B. Suárez, B. M. Simonet, S. Cárdenas, M. Valcárcel, *Electrophoresis*, **28**, 1714, (2007)
- [214] Y. Moliner-Martínez, S. Cárdenas, M. Valcárcel, *Electrophoresis*, **28**, 2573, (2007)
- [215] X. Xiong, J. Ouyang, W. R. G. Baeyens, J. R. Delanghe, X. M. Shen, Y. P. Yang, *Electrophoresis*, **27**, 3243, (2006)
- [216] Y. Xu, S. F. Y. Li, *Electrophoresis*, **27**, 4025, (2006)
- [217] G. Kleindienst, C. G. Hubert, D. T. Gjerde, L. Yengoyan, G. K. Bonn, *Electrophoresis*, **19**, 262, (1998)
- [218] C. G. Hubert, A. Premstaller, G. Kleindienst, *J. Chromatogr. A*, **849**, 175 (1999)
- [219] M. C. Breadmore, M. C. Boyce, M. Macka, N. Avdalovic, P. R. Haddad, *Analyst*, **125**, 799, (2000)
- [220] M. C. Breadmore, M. Macka, N. Avdalovic, P. R. Haddad, *Anal. Chem.*, **73**, 820, (2001)
- [221] M. C. Breadmore, A. S. Palmer, M. Curran, M. Macka, N. Avdalovic, P. R. Haddad, *Anal. Chem.*, **74**, 2112, (2002)
- [222] M. C. Boyce, M. Macka, N. Avdalovic, P. R. Haddad, *Electrophoresis*, **21**, 3073, (2000)
- [223] M. C. Breadmore, M. Macka, N. Avdalovic, P. R. Haddad, *Analyst*, **125**, 1235, (2000)
- [224] M. C. Breadmore, M. C. Boyce, M. Macka, N. Avdalovic, P. R., Haddad, *J. Chromatogr. A*, **892**, 303, (2000)
- [225] B. Neiman, E. Grushka, O. Lev, *Anal. Chem.*, **73**, 5220, (2001)
- [226] T. O'Mahony, V. P. Owens, J. P. Murrphy, E. Guihen, J. D., Holmes, J. D. Glennon, *J. Chromatogr. A*, **1004**, 181, (2003)
- [227] L. Yang, E. Guihen, J. D. Holmes, M. Loughran, G. P. O'Sullivan, J. D. Glennon, *Anal. Chem.*, **77**, 1840, (2005)

- [228] L. Yang, E. Guihen, J. D. Glennon, *J. Sep. Sci.*, **28**, 757, (2005)
- [229] F. K. Liu, Y. T. Hsu, C. H. Wu, *J. Chromatogr. A*, **1083**, 205, (2005)
- [230] Q. Qu, X. Zhang, M. Shen, Y. Lin, X. Hu, G. Yang, C. Wang, Y. Zhang, C. Yan, *Electrophoresis*, **29**, 901, (2008)
- [231] Y. F. Huang, C. K. Chiang, Y. W. Lin, K. Liu, C. C. Hu, M. J. Bair, H. T. Chang, *Electrophoresis*, **29**, 1942, (2008)
- [232] Y. L. Hsieh, T. H. Chen, C. P. Liu, C. Y. Liu, *Electrophoresis*, **26**, 4089, (2005)
- [233] Y. L. Hsieh, T. H. Chen, C. Y. Liu, *Electrophoresis*, **27**, 4288, (2006)
- [234] J. H. T. Luong, P. Bouvette, Y. L. Liu, D. Q. Yang, E. Sacher, *J. Chromatogr. A*, **1074**, 187, (2005)

Symboles et abréviations

Chapitre II. Comportement électrophorétique de nanoparticules anioniques et cationiques

a : demi-largeur à mi-hauteur d'un pic électrophorétique asymétrique, du côté des faibles mobilités, $\text{m}^2.\text{V}^{-1}.\text{s}^{-1}$

a/b : facteur d'asymétrie

b : demi-largeur à mi-hauteur d'un pic électrophorétique asymétrique, du côté des mobilités élevées, $\text{m}^2.\text{V}^{-1}.\text{s}^{-1}$

D: diamètre solide de la particule sphérique, m

D_{max} : diamètre solide modal, m

$\langle D_N \rangle$: diamètre solide moyen en nombre, m

DDABr: bromure de didodécyltriméthylammonium

e : charge élémentaire, C

f(κR): fonction de Henry

HPC: hydroxypropylcellulose

I : force ionique de la solution électrolytique, mol.L^{-1}

k : constante de Boltzmann, J.K^{-1}

$\ln D_0$: valeur moyenne de $\ln D$, paramètre de la loi de distribution en taille de type log-normale

P(D): loi de distribution en taille

PB: polybrène

R : distance du centre de la particule sphérique au plan de cisaillement assimilé au PEH ou plan de Stern, m

T : température absolue, K

TMAOH: hydroxide de tétraméthylammonium

Symboles grecs

ε : permittivité diélectrique du milieu, $\text{C.V}^{-1}.\text{m}^{-1}$

ζ : potentiel-zêta, V

η : viscosité du milieu, Pa.s

κ : inverse de la longueur Debye, m^{-1}

μ : mobilité électrophorétique d'une particule, $\text{m}^2.\text{V}^{-1}.\text{s}^{-1}$

$\Delta\mu$: dispersion électrophorétique, $\text{m}^2.\text{V}^{-1}.\text{s}^{-1}$

σ_0 : écart type, paramètre de la loi de distribution en taille de type log-normale

Φ : fraction volumique en particule, % (v/v)

Chapitre II. Comportement électrophorétique de nanoparticules anioniques et cationiques

II.1. Introduction

Les fluides magnétiques, encore appelés ferrofluides ont fait leur apparition vers 1966 (Papell, Rosensweig) [1, 2]. Ce sont des solutions colloïdales très stables constituées de nanoparticules solides ferromagnétiques en suspension dans un liquide porteur non magnétique, organique ou aqueux. Ces dernières années, les ferrofluides ont connus un développement technologique important du fait de leur utilisation dans de nombreux domaines tels que la micromécanique, la microélectronique [3] et, plus récemment, les biotechnologies [4-6]. Ces applications requièrent une bonne connaissance des caractéristiques physico-chimiques des nanoparticules, car leurs propriétés magnétiques dépendent principalement de paramètres tels que leur taille et leur forme, leur microstructure et la phase cristalline dans laquelle elles se trouvent.

Parmi les techniques les plus couramment utilisées, la microscopie électronique en transmission (TEM) donne des informations sur la distribution de taille et la forme des particules solides [7] tandis que la diffusion dynamique de la lumière (DLS) permet la mesure de leur rayon hydrodynamique, via la détermination de leur coefficient de diffusion [8]. Une mesure de la mobilité électrophorétique des particules peut être réalisée par microélectrophorèse [9] ou vélocimétrie laser Doppler (LDV) [8-10]. Cette donnée peut ensuite être utilisée pour le calcul du potentiel- ζ des particules, bon indicateur de la stabilité colloïdale des dispersions. Néanmoins, le choix de l'expression analytique reliant les deux grandeurs reste conditionné par les domaines de potentiel- ζ et de κR explorés, R étant assimilé au rayon solide de la particule et κ étant l'inverse de la longueur Debye.

Dans ce contexte, l'application de l'électrophorèse capillaire à la caractérisation de nanoparticules s'est développée au cours des vingt dernières années [10, 11]. La sélectivité de cette technique séparative permet la caractérisation simultanée de populations de particules différant par leur taille, charge et/ou nature chimique (organiques [12-17] ou inorganiques [18-22]) au sein de mélanges, mais également la détection d'impuretés présentes dans la solution de dispersion [23]. A ce jour, les études présentées dans la

littérature restent globalement limitées à la caractérisation de particules anioniques, probablement en raison de difficultés expérimentales, sur des critères de taille.

Dans ce premier chapitre expérimental nous nous sommes d'abord attachés à étudier le comportement électrophorétique de particules magnétiques anioniques (particules polymères submicrométriques et particules d'oxyde de fer nanométriques) en fonction des différents paramètres inhérents au choix de l'électrolyte de séparation, dont la force ionique, la nature et la concentration des co-ions et contre-ions ainsi que le pH. Dans un second temps, nous nous sommes intéressés à la caractérisation de nanoparticules cationiques, car peu décrite dans la littérature [20, 24-28]. La principale difficulté dans l'analyse de telles particules résulte de leur adsorption à la surface des capillaires en silice vierge, chargés négativement. Dans ce contexte, nous avons envisagé différentes stratégies de modifications du capillaire de sorte à supprimer ces phénomènes d'adsorption et ainsi permettre une mesure précise de la mobilité électrophorétique des particules cationiques. Enfin, dans les conditions opératoires optimisées, le comportement électrophorétique de populations de particules de maghémite, homogènes de par leur nature et leur charge de surface (cationique), mais dont les diamètres moyens (< 10 nm) diffèrent d'environ 2 nm, a été étudié en fonction de différents paramètres expérimentaux tels que l'amplitude du champ électrique, la quantité de particules injectée et la force ionique de l'électrolyte de séparation.

II.2. Caractérisation de particules anioniques

Dans cette partie, nous nous sommes intéressés à la caractérisation de particules magnétiques anioniques commerciales ou synthétisées par nos soins

II.2.1. Présentation des échantillons

Ainsi, nous disposons de 4 populations de particules polymères fonctionnalisées en surface par des groupements carboxylate. Les propriétés de ces populations de particules, fournies par le constructeur (ADEMTECH), sont résumées dans le tableau II.1. Il apparaît que les populations de particules considérées diffèrent par leur diamètre, mais également par leur densité de charge de surface (ramenée à un nombre de charges par unité de surface, tableau II.1). Sauf mention contraire, la concentration des échantillons utilisés au cours de cette étude, après dilution de la suspension commerciale dans l'eau, correspond à celle précisée dans le tableau II.1.

Données fournisseur	Diamètre solide moyen (nm)	120	210	300	500
	Nature du groupement fonctionnel	carboxylate	Carboxylate	carboxylate	carboxylate
	Teneur en solide (g / 100 mL)	5,1	3,1	3,1	5,0
	Densité du solide (g / cm ³)	-	1,78	1,8	2,21
	Densité de fonction (μmol / g)	447	360	365	300
Données calculées	Densité de groupements fonctionnels (eq./ nm ²)	-	1,35	1,98	3,35
	Concentration de la solution commerciale (particule / mL)	-	3,6 10 ¹²	1,22 10 ¹²	3,4 10 ¹¹
	Concentration de l'échantillon (particule / mL)	-	1,8 10 ¹¹	6,1 10 ¹⁰	1,1 10 ¹⁰

Tableau II.1 : Propriétés des particules polymères magnétiques commerciales.

Pour cette étude, nous disposons également de particules d'oxyde de fer (maghémite : $\gamma\text{-Fe}_2\text{O}_3$), de diamètre inférieur à 10 nm, synthétisées par nos soins suivant le protocole décrit par R. Massart [29] en 1980. Ces particules sont stabilisées en milieu basique par la charge négative apportée par les groupements hydroxyle de surface déprotonés et présentent comme contre-ions des ions tétraméthylammonium (TMA^+). On parle dans ce cas de ferrofluide basique. La surface des particules de maghémite peut également être modifiée par l'adsorption d'ions citrate. Dans la littérature, il est fait mention de complexes de coordination 1 : 1 et 1 : 2 de sorte que l'excédent de charges négatives contribue à assurer la stabilité de la suspension colloïdale [30]. On parle dans ce cas de ferrofluide citraté. A l'issue de la synthèse, la suspension colloïdale est polydisperse et la distribution en taille des particules qui la constituent est décrite par une loi de type log-normale [31] :

$$P(D) = \frac{1}{\sqrt{2\pi}\sigma_0 D} \exp\left[-\frac{1}{2\sigma_0^2} \left(\ln \frac{D}{D_0}\right)^2\right] \quad (\text{II.1})$$

où les paramètres de distribution D_0 et σ_0 , égaux à 8 nm et 0,3, respectivement, sont obtenus à partir des courbes d'aimantation, connaissant la fraction volumique en particule Φ dans la suspension. Dans le cas présent, la valeur de Φ , calculée à partir de la teneur en fer de l'échantillon déterminée par spectrométrie d'absorption de flamme, est égale à 1,58 % (v/v).

Les spectres d'absorbance UV des différentes suspensions colloïdales ont pu être enregistrés entre 190 et 450 nm grâce au détecteur à barrette de diodes de l'appareillage d'électrophorèse capillaire. Comme l'illustre la figure II.1, nous avons pu montrer que les spectres d'absorbance UV étaient affectés par la taille des particules en suspension (phénomène concomitant de diffusion de la lumière). Ainsi, si les suspensions de particules de plus faible diamètre (particules de maghémite de 8 nm (résultats non montrés) ou particules polymères de 120 nm de diamètre) présentent une large bande d'absorbance, avec un maximum dans le bas UV, aux alentours de 190 nm, les suspensions de particules polymères de diamètre supérieur à 210 nm présentent quant à elles des spectres d'absorbance UV différents, d'une taille de particule à une autre. Ces spectres montrent que la bande d'absorbance dans le bas UV s'affine et que le maximum d'absorbance perd en intensité et se déplace dans le sens des longueurs d'ondes croissantes (aux alentours de 225 nm) lorsque la taille des particules augmente. Pour les particules polymères de 500 nm de diamètre, le maximum d'absorbance dans le bas UV a complètement disparu, laissant place à un minimum d'absorbance à 240 nm.

Ainsi, les particules anioniques étudiées seront caractérisées en mode de détection UV direct à 200 nm, excepté les particules polymères de 500 nm de diamètre qui seront, elles, caractérisées en mode de détection UV indirect à 240 nm.

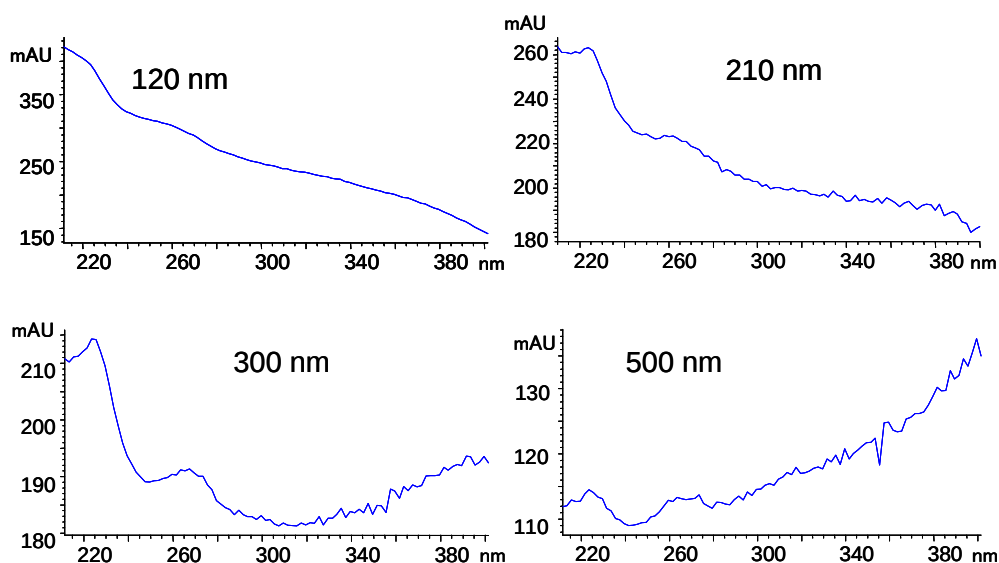


Figure II.1 : spectres d'absorbance UV des suspensions de particules polymères de diamètre compris entre 120 et 500 nm

Conditions expérimentales : capillaire en silice vierge, 50 μm d.i. x 35 cm (longueur utile : 26,5 cm), initialement rempli d'eau. Volume d'eau déplacé par application d'une surpression de 50 mbars sur le vial d'entrée contenant la suspension de particules. Concentration en particules de l'échantillon, voir Tableau II.1.

II.2.2. Influence de l'amplitude du champ électrique appliqué

L'influence de l'intensité du champ électrique appliqué sur la mobilité et la dispersion (estimée par la largeur du pic à mi-hauteur) électrophorétiques du ferrofluide basique a été étudiée dans un électrolyte de séparation acide borique 17,8 mM / TMAOH 7 mM ($I = 7$ mM), pH 9,0, sur un intervalle compris entre 140 et 850 V / cm. A titre de comparaison, la même étude a été menée sur un composé anionique classique, i.e. soluble dans l'électrolyte de séparation: l'acide benzoïque. La figure II.2A montre que la mobilité des deux analytes considérés augmente en valeur absolue d'environ 5 % lorsque l'intensité du champ imposé augmente de 300 à 850 V / cm. Cette variation de mobilité peut être imputée à l'effet Joule. Pour ce qui est de la dispersion électrophorétique, représentée en Figure II.2B, les deux analytes présentent des comportements différents : la largeur du pic des particules augmente d'environ 27 %, tandis que celle du pic de l'acide benzoïque ne semble quasiment pas affectée par une augmentation du champ électrique sur l'intervalle considéré (de 140 à 850

$V.cm^{-1}$). Cette observation suggère l'existence de phénomènes dispersifs intrinsèques à la nature colloïdale de l'échantillon.

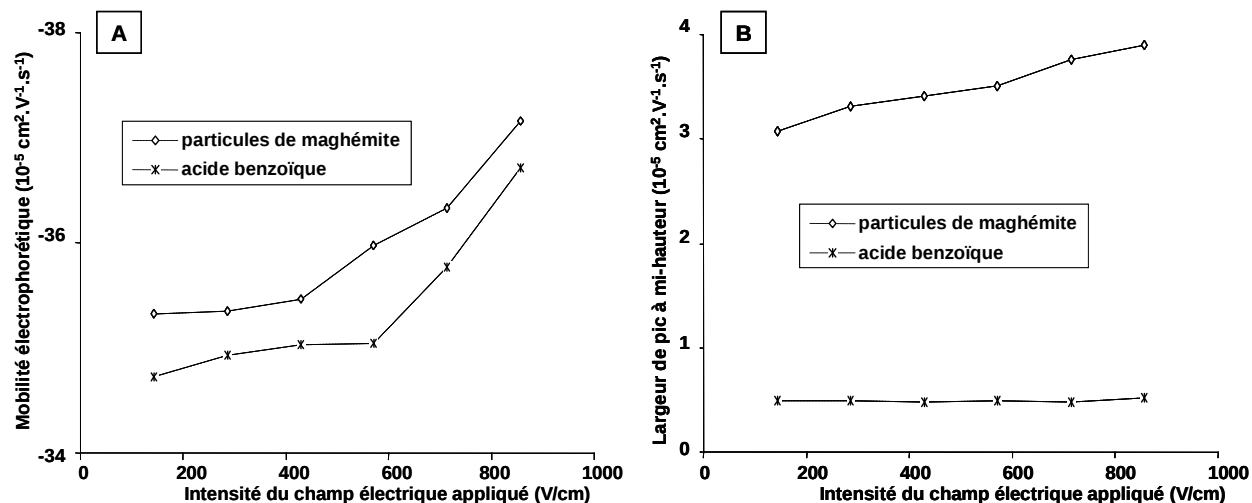


Figure II.2 : Influence de l'intensité du champ électrique appliqué sur (A) la mobilité électrophorétique, (B) la dispersion électrophorétique de particules d'oxyde de fer (maghémite, 8 nm)
 Capillaire en silice vierge, 50 μm d.i. x 35 cm (longueur utile : 26,5 cm). Electrolyte de séparation : acide borique 17,8 mM / TMAOH 7 mM, pH 9,0 ($I = 7$ mM). Tension appliquée : de + 5 kV à + 30 kV. Injection hydrodynamique : 30 mbars, 3 s. Détection UV : 200 nm. Température 25 °C. Chaque point est la moyenne de 3 répétitions

II.2.3. Fraction volumique en particules dans l'échantillon

L'influence de la fraction volumique en particules sur la mobilité et la dispersion (estimée par la largeur du pic à mi-hauteur) électrophorétiques du ferrofluide basique (contre-ions TMA^+) a été étudiée par dilutions successives de l'échantillon de synthèse dans un électrolyte de séparation acide borique 17,8 mM / TMAOH 7 mM ($I = 7$ mM), pH 9,0, sur une gamme de fractions volumiques comprise entre 0,0016 et 0,079 % (v/v). Ainsi, comme le montre la figure II.3A, la mobilité reste à peu près constante lorsque la fraction volumique en particules dans l'échantillon diminue de 0,079 à 0,016 %, puis diminue en valeur absolue de près de 4 % entre 0,016 et 0,0016 %. Ces observations nous permettent de penser que les propriétés de surface des oxydes peuvent être modifiées par la dilution, suggérant l'existence d'un effet collectif au sein du système colloïdal. Le même type de comportement a été observé par Fourest et al. [32], en DLS, sur des particules d'oxyde anioniques (SiO_2). En outre, les résultats rapportés par les mêmes auteurs lors d'une diminution du pH de la solution de dispersion des particules de SiO_2 rappellent le comportement du système dilué et laissent supposer que le point isoélectrique de la surface des particules d'oxyde dépend de la

concentration en particules dans la suspension. La figure II.3B, quant à elle, nous permet de visualiser l'influence de la fraction volumique en particules sur la dispersion du profil électrophorétique des particules de maghémite. Ainsi, nous avons pu mettre en évidence une augmentation de la dispersion du profil de 50 % lorsque la fraction volumique en particules dans l'échantillon augmente de 0,0016 à 0,079 %. A volume d'injection constant et égal à 4,5 nL ($< 1\%$ du volume total du capillaire), cette observation ne peut pas être attribuée à des phénomènes dispersifs, mais suggère une nouvelle fois l'existence d'un effet collectif au sein du système colloïdal. Entre autres, comme nous le démontrerons dans le chapitre IV, le coefficient de diffusion collectif des particules est sensible à la fraction volumique et se révèle être une fonction croissante de la teneur en particules dans l'échantillon (cas des interactions répulsives).

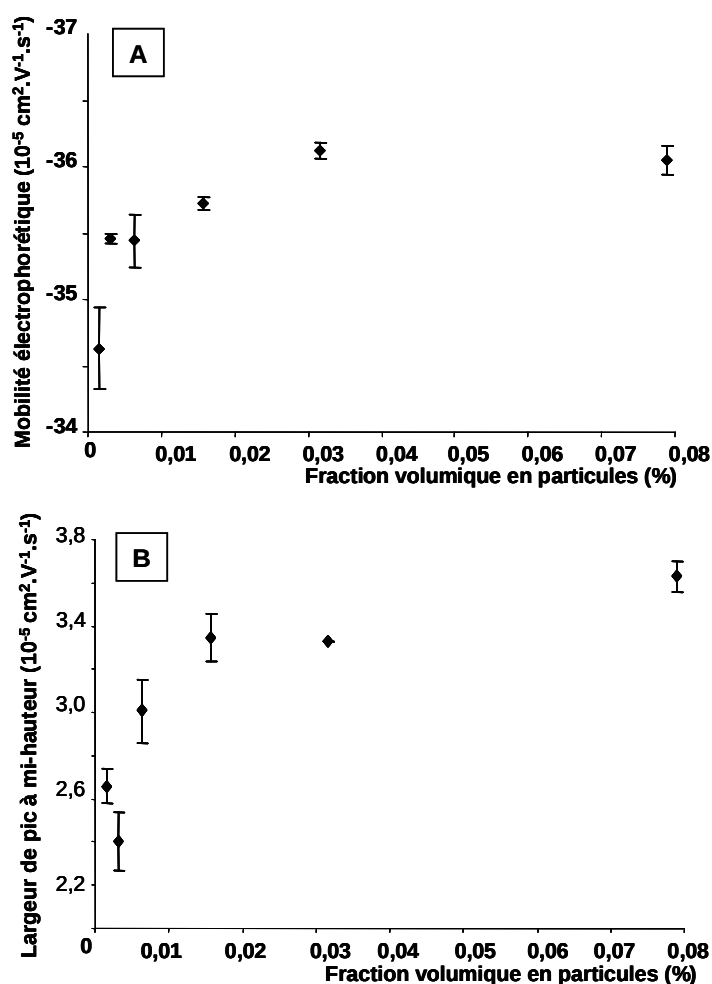
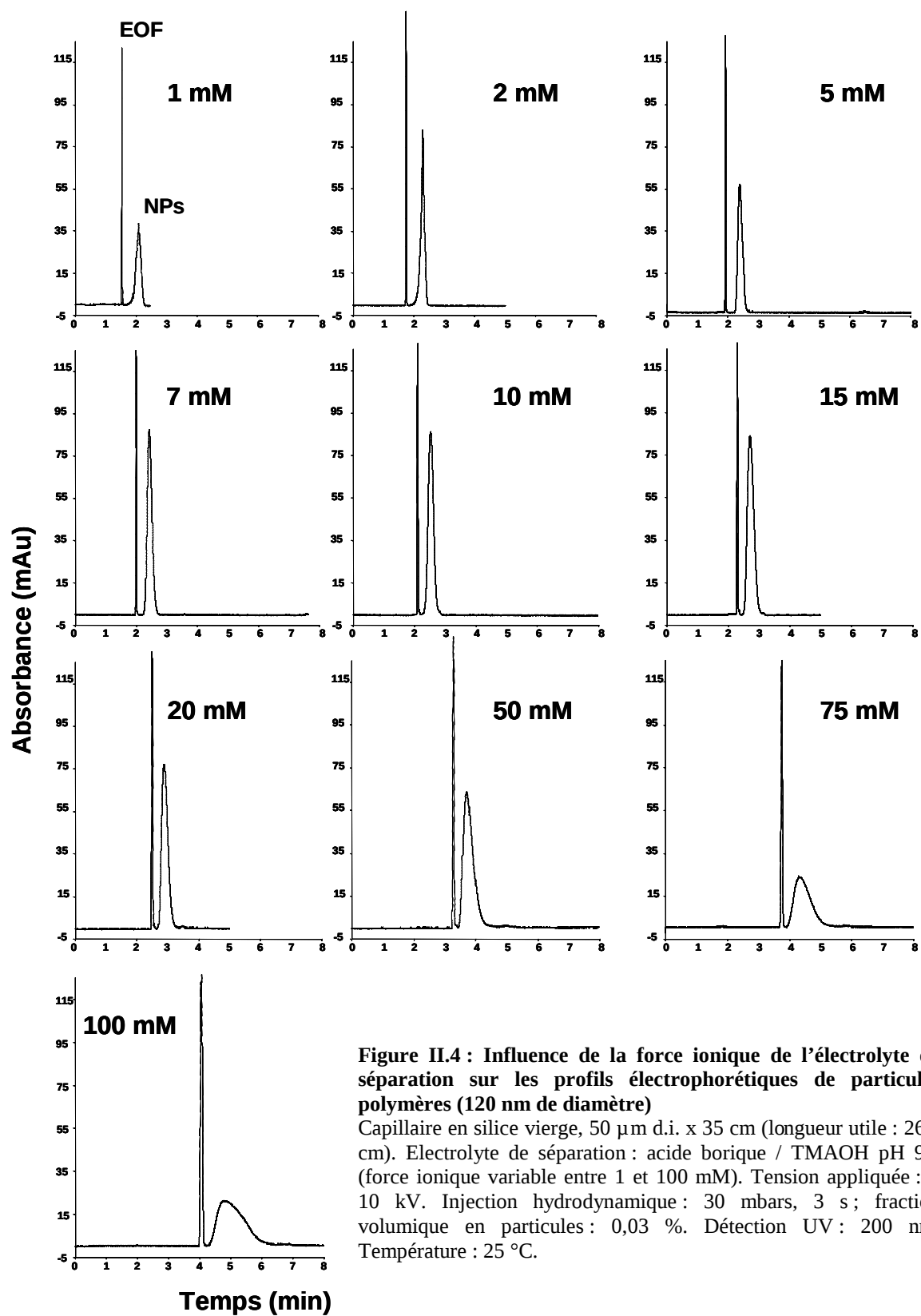


Figure II.3 : Influence de la fraction volumique en particules dans l'échantillon sur (A) la mobilité électrophorétique, (B) la dispersion électrophorétique de particules d'oxyde de fer (maghémite, 8 nm)
 Capillaire en silice vierge, 50 μm d.i. x 35 cm (longueur utile : 26,5 cm). Electrolyte de séparation : acide borique 17,8 mM / TMAOH 7 mM pH 9,0 ($I = 7$ mM). Tension appliquée : + 10 kV. Injection hydrodynamique : 30 mbars, 3 s. Détection UV : 200 nm. Température 25 °C. Chaque point est la moyenne de 3 répétitions et les barres d'erreur représentent $\pm$ une fois l'écart type.

II.2.4. Influence de l'électrolyte de séparation

II.2.4.1 La force ionique

Les populations de particules polymères de taille de 120 à 500 nm de diamètre (taille sans corrélation avec la densité de charge de surface) ainsi que le ferrofluide basique constitué de particules de 8 nm de diamètre ont été caractérisés dans un électrolyte composé d'acide borique et d'hydroxyde de tétraméthylammonium (TMAOH) pH 9, de force ionique variable entre 1 et 100 mM. L'influence de la force ionique sur l'allure des profils électrophorétiques est illustrée en Figure II.4 dans le cas de la population de particules de 120 nm de diamètre. Ainsi, nous avons pu montrer que la mobilité effective des particules polymères anioniques, fonctionnalisées en surface par des groupements carboxylate, diminue en valeur absolue, de 65 à 86 % en fonction de la population considérée, lorsque la force ionique de l'électrolyte de séparation augmente de 1 à 100 mM (Figure II.5). En l'absence d'adsorption spécifique, et pour des valeurs de potentiel- ζ modérées (< 100 mV), une telle diminution de mobilité effective est bien cohérente avec la diminution de densité de charge de surface au plan de cisaillement induite par une augmentation de la force ionique de l'électrolyte de séparation. En outre, pour des forces ioniques supérieures à 50 mM, la mobilité des particules semble atteindre une valeur palier. Ce phénomène pourrait s'expliquer par une interaction électrostatique forte entre la surface des particules anionique et les cations TMA^+ , analogue à un appariement d'ions, et favorisée par la petite taille de ces derniers (rayon ionique calculé de l'ordre de 0,24 nm, à partir de la mobilité électrophorétique), inférieure à la longueur de Bjerrum (0,7 nm dans l'eau à 25 °C) et/ou par l'obtention d'une compacité maximale des cations TMA^+ dans la couche compacte. Par comparaison, la mobilité des particules de maghémite semble moins affectée par une augmentation de la force ionique de l'électrolyte de séparation, dans la gamme de 1 à 100 mM considérée, et reste quasi constante autour d'une valeur moyenne de $-36 \cdot 10^{-5} \text{ cm}^2 \cdot \text{V}^{-1} \cdot \text{s}^{-1}$. Cette observation suggère l'existence d'interactions spécifiques entre l'anion de l'électrolyte et la surface d'oxyde que nous allons tenter de mettre en évidence par la suite.



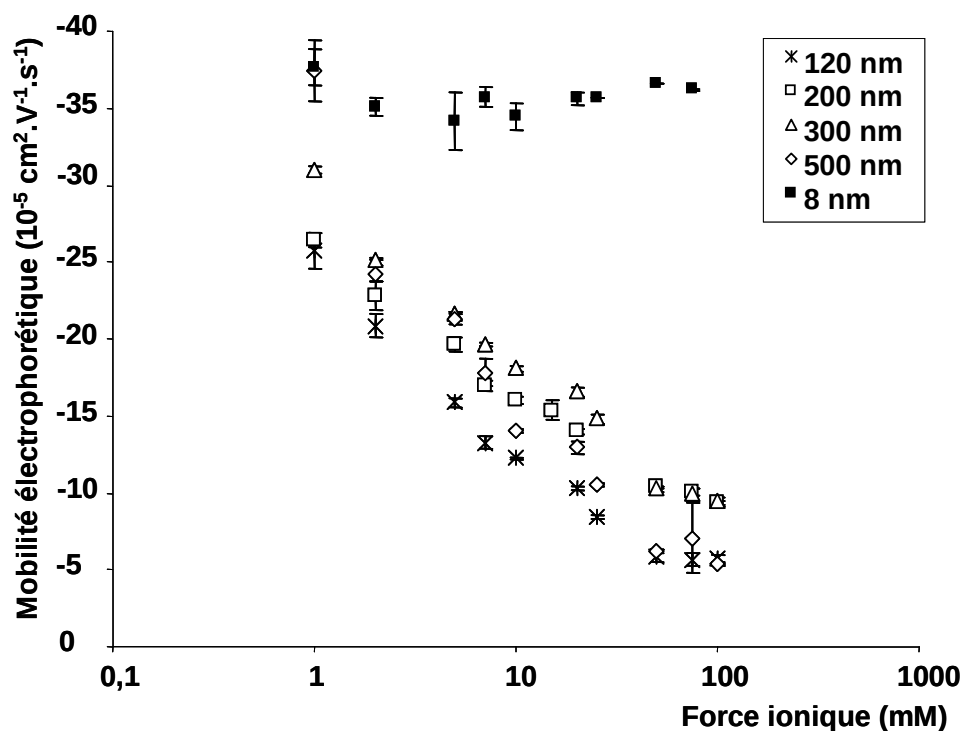


Figure II.5 : Influence de la force ionique de l'électrolyte de séparation sur la mobilité électrophorétique de particules polymères (120 à 500 nm de diamètre) et d'oxyde de fer (maghémite, 8 nm).

Conditions expérimentales : voir figure II.4

Chaque point est la moyenne de 3 répétitions et les barres d'erreur représentent $\pm$ une fois l'écart type.

II.2.4.2. La composition

En complément de l'étude expérimentale précédente, nous avons tenté de dissocier les effets inhérents à chaque espèce de l'électrolyte, masqué par l'effet global de la force ionique.

II.2.4.2.1. Concentration et nature du contre-ion

L'influence de la concentration et de la nature du contre-ion de l'électrolyte de séparation sur la mobilité électrophorétique d'une population de particules polymères (210 nm de diamètre) fonctionnalisées en surface par des groupements carboxylate, a été étudiée en tampons borate pH 9,0. Dans ces conditions, nous avons utilisé de l'hydroxyde de sodium ou de l'hydroxyde de tétraméthylammonium pour neutraliser l'acide borique et ainsi apporter des contre-ions de nature différente, à concentration et valence égales, dans l'électrolyte de séparation. Ainsi, nous avons pu montrer Figure II.6 qu'une augmentation de la concentration en contre-ion de 2 à 20 mM est à l'origine d'une diminution du potentiel- ζ et donc de la mobilité électrophorétique des particules polymères. La mobilité dépend

également de la nature du contre-ion de l'électrolyte. En effet, dans la gamme de concentration explorée la mobilité électrophorétique des particules mesurée en présence de Na^+ est systématiquement inférieure, en valeur absolue, à celle mesurée en présence de TMA^+ (jusqu'à 20 %). Compte tenu de la nature des contre-ions choisis, nous pouvons prédire une association plus forte des particules avec les ions sodium, de rayon hydrodynamique de l'ordre de 0,16 nm, par comparaison avec les ions TMA^+ , de rayon hydrodynamique plus élevé, de l'ordre de 0,24 nm (rayons estimés à partir des mobilités électrophorétiques). Ainsi, la mobilité des particules sera d'autant plus réduite que l'interaction avec le cation est forte, effet d'autant plus notable que la concentration en contre-ion dans l'électrolyte de séparation est élevée.

Cette même étude, réalisée sur un ferrofluide basique, a permis d'aboutir à une conclusion analogue concernant le plus fort pouvoir polarisant des ions Na^+ (Figure II.6). En outre, le caractère déstabilisant de cette association a pu être mis en évidence lors d'une augmentation de la concentration en ions Na^+ par l'apparition de « spikes » sur les profils électrophorétiques dès une concentration en Na^+ égale à 7 mM, suggérant un début d'agrégation (Figure II.7). A 20 mM, on n'observe plus que la présence de ces spikes qui sont détectés à des temps de migration aléatoires.

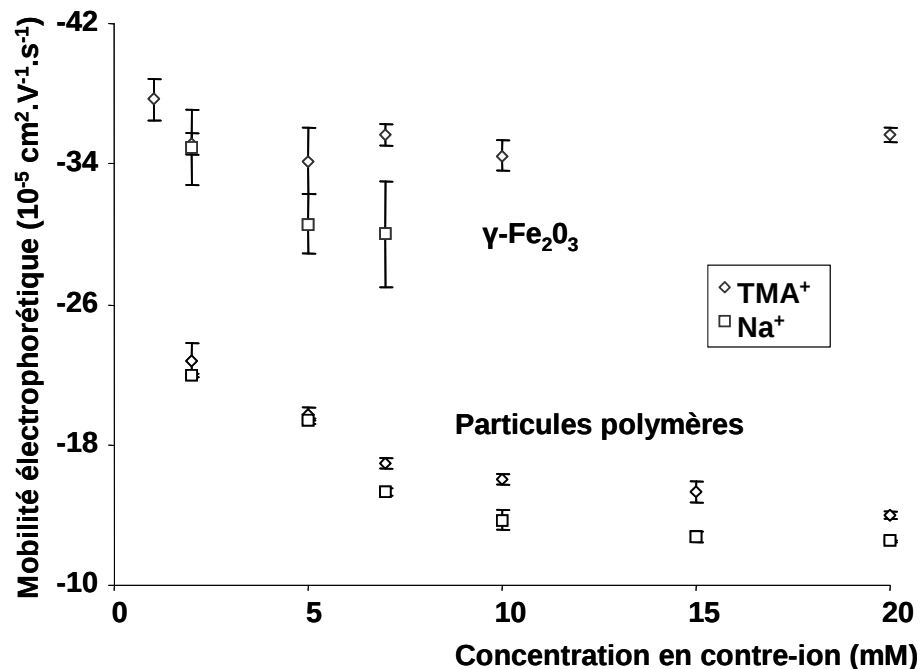


Figure II.6 : Influence de la nature du contre-ion de l'électrolyte de séparation sur la mobilité électrophorétique de particules polymères (210 nm de diamètre) et d'oxyde de fer (maghémite, 8 nm).

Capillaire en silice vierge 50 μm d.i. x 35 cm (longueur utile : 26,5 cm). Electrolyte de séparation : acide borique / TMAOH ou NaOH, pH 9,0 (force ionique variable en fonction de la concentration en contre-ion, comprise entre 1 et 20 mM). Tension appliquée : + 10 kV. Injection hydrodynamique : 30 mbars, 3 s ; fraction volumique en particules de maghémite : 0,03 %. Détection UV : 200 nm. Température : 25 °C.

Chaque point est la moyenne de 3 répétitions et les barres d'erreur représentent $\pm$ une fois l'écart type.

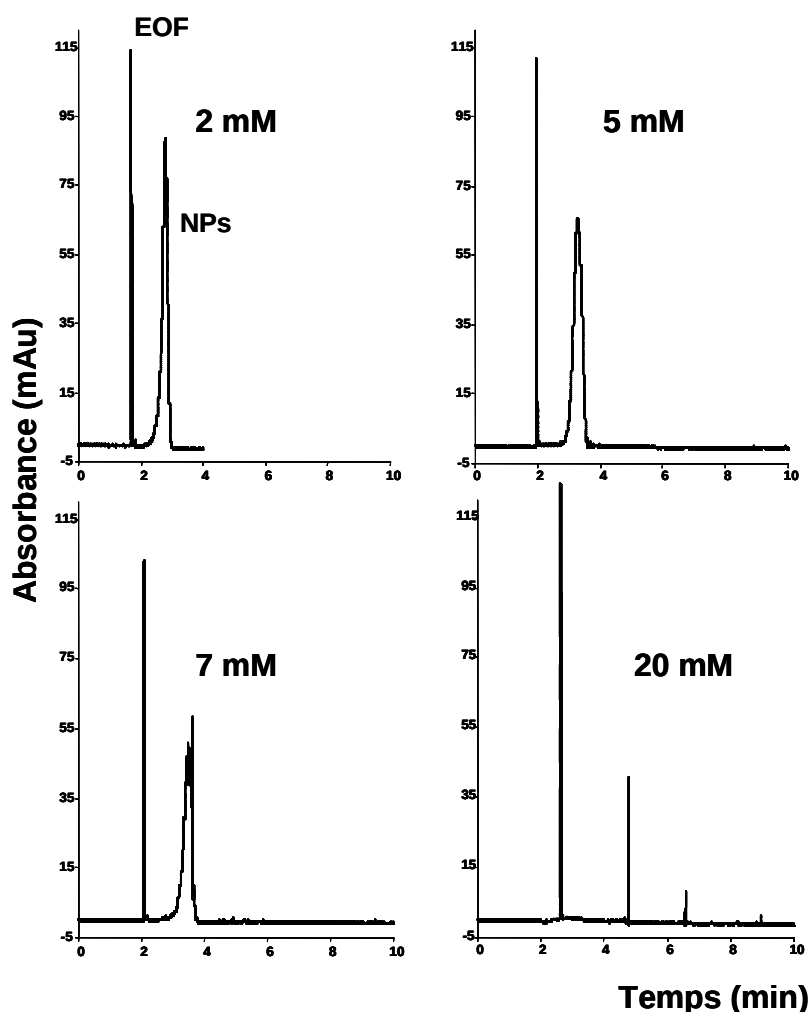


Figure II.7: Influence de la concentration en contre-ion Na^+ dans l'électrolyte de séparation sur la mobilité électrophorétique de particules d'oxyde de fer (maghémite, 8 nm)
Conditions opératoires : voir Figure II.6

II.2.4.2.2. Concentration et nature du co-ion

Sans avoir la prétention de comprendre les mécanismes exacts, nous avons tenté de mettre en évidence l'existence d'interactions entre les espèces anioniques de l'électrolyte et la surface d'oxyde des particules de maghémite. Trois systèmes électrolytiques de force ionique variable ont ainsi été envisagés : un tampon citrate pH 6,6, un tampon phosphate pH 7,0 et un tampon borate pH 9,0. La concentration en contre-ion Na^+ est contrôlée dans cette étude, entre 0,45 et 15,2 mM, dans chacun des systèmes électrolytiques considérés. La concentration de l'anion dans chaque solution tampon varie alors avec la concentration en Na^+ en fonction de la stoechiométrie du système. En fonction des milieux de séparation envisagés (nature et force ionique), les profils caractéristiques des suspensions colloïdales étudiées peuvent montrer des distorsions. Dans ces conditions, une mobilité moyenne a été calculée à partir du moment temporel d'ordre 1, lui-même déterminé par intégration des

profils électrophorétiques sous Excel.

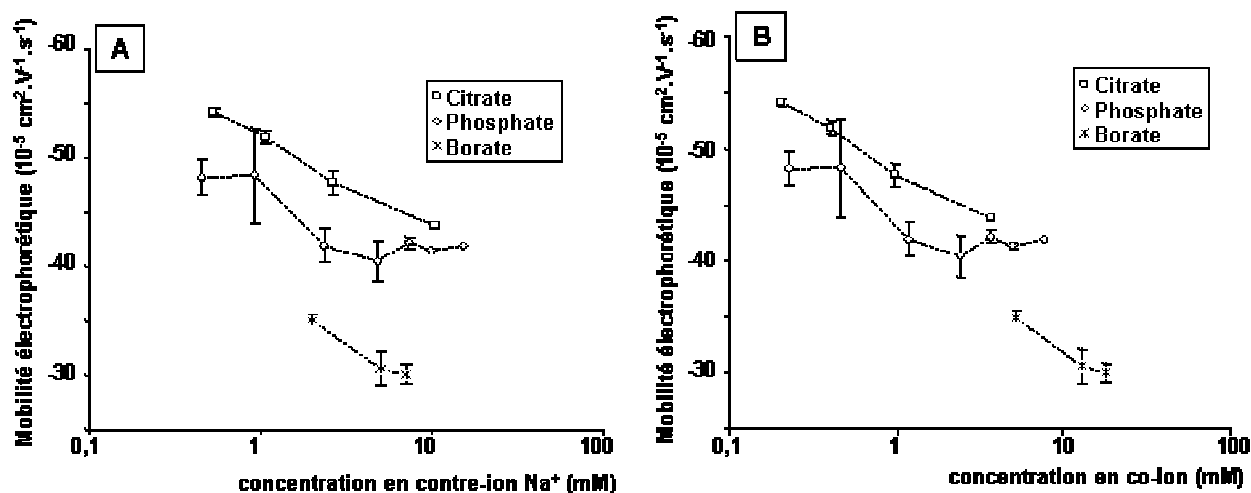


Figure II.8 : Influence de (A) la nature et (B) la concentration en co-ion dans l'électrolyte de séparation sur la mobilité électrophorétique de particules d'oxyde de fer (maghémite, 8 nm)

Capillaire en silice vierge, 50 μm d.i. x 35 cm (longueur utile : 26,5 cm). Electrolyte de séparation : acide borique / NaOH pH 9,0, NaH_2PO_4 / Na_2HPO_4 pH 7,0 ou acide citrique / NaOH pH 6,6 (force ionique variable en fonction de la concentration en contre-ion, comprise entre 1 et 20 mM). Tension appliquée : + 20 kV. Injection hydrodynamique : 30 mbars, 3 s ; fraction volumique en particules de maghémite 0,03 %. Détection UV : 200 nm. Température : 25 °C.

Chaque point est la moyenne de 3 répétitions et les barres d'erreur représentent $\pm$ une fois l'écart type.

La figure II.8A montre l'influence de la concentration en ions sodium sur la mobilité électrophorétique de particules de maghémite dans chacun des trois systèmes électrolytiques considérés. Il peut être remarqué que la mobilité électrophorétique des particules d'oxyde diminue en valeur absolue lorsque la concentration en ions Na^+ augmente, ceci quelle que soit la nature de l'anion, suggérant le rôle dominant du contre ion sur le contrôle de la mobilité électrophorétique des particules d'oxyde dans cette gamme de concentration. Si on considère maintenant une concentration en Na^+ donnée, on s'attendrait à ce que la mobilité des particules soit la plus élevée en valeur absolue dans le tampon de pH le plus élevé, du fait d'une plus grande dissociation des groupements hydroxyle de surface aux pH les plus éloignés du point isoélectrique [20]. Toutefois, l'expérience montre l'évolution contraire, à savoir que la mobilité électrophorétique des particules est d'autant plus faible, en valeur absolue, que le pH du système électrolytique est élevé. Cette contradiction suggère l'existence d'interactions spécifiques entre les anions de l'électrolyte ($\text{B}(\text{OH})_4^-$, HPO_4^{2-} , H_2PO_4^- , HCit^{2-} , Cit^{3-}) et la surface des particules d'oxyde. Si l'on représente maintenant la mobilité des particules de maghémite en fonction de la concentration en anion (Figure II.8B), nous pouvons en déduire un degré d'interaction relatif des différents anions avec la surface

des particules d'oxyde. En effet, si on suppose que la charge de surface des particules au plan de cisaillement sera d'autant plus négative que l'interaction avec l'anion est forte, la mobilité électrophorétique résultante devrait en être d'autant plus élevée, en valeur absolue. Ainsi, les anions citrate dont l'affinité pour la surface des particules d'oxyde est déjà bien connue [30] montreraient le plus grand degré d'interaction avec les particules de maghémite (Figures II.8.A et II.8.A). Le degré d'affinité spécifique des ions phosphate, carbonate et borate pour différents types de particules d'oxyde (γ -Al₂O₃, α,γ -Al₂O₃, TiO₂ et α -Fe₂O₃) avait déjà été mentionné dans la littérature [33], mais l'étude proposée reste descriptive et n'apporte pas plus d'éclaircissement concernant les mécanismes d'interactions en eux-mêmes.

II.2.4.3 Le pH

L'influence du pH sur la mobilité électrophorétique d'une population de particules polymères (210 nm de diamètre), fonctionnalisées en surface par des groupements carboxylate, a été étudiée dans des électrolytes de compositions différentes (citrate, phosphate et borate), mais de force ionique fixée et égale à 2 mM (faible force ionique favorable à la stabilité du système colloïdal). Ainsi, nous avons pu montrer que la variation de mobilité associée à une augmentation du pH, sur un intervalle de 3,0 à 9,0, ne suit pas une évolution monotone, comme l'illustre la figure II.9. En effet, la mobilité effective des particules anioniques augmente en valeur absolue de 13,4 à 31,2 $10^{-5} \text{ cm}^2 \cdot \text{V}^{-1} \cdot \text{s}^{-1}$, lorsque le pH de l'électrolyte de séparation augmente de 3,0 à 6,0. La valeur de pH 6,0 correspond à un maximum de mobilité, de sorte qu'une nouvelle augmentation du pH est à l'origine d'une diminution de la mobilité effective des particules carboxylées qui atteint la valeur de 20,9 $10^{-5} \text{ cm}^2 \cdot \text{V}^{-1} \cdot \text{s}^{-1}$ à pH 9,0. En première approche, nous nous serions attendus à ce que la mobilité effective de telles particules augmente de façon monotone lorsque le pH de l'électrolyte de séparation augmente. En effet, une augmentation du pH devrait être à l'origine d'une plus grande dissociation des groupements carboxylate à la surface des particules polymères et donc d'une augmentation de leur charge de surface [13]. Cette hypothèse semble vérifiée aux plus faibles valeurs de pH où la mobilité électrophorétique des particules, liée à leur densité de charge au plan de cisaillement, serait alors contrôlée par le degré d'ionisation des groupements carboxylate présents à leur surface. Pour des valeurs de pH plus élevées, en l'absence d'adsorption spécifique, la diminution de pH observée pourrait suggérer un effet

désormais dominant des contre-ions de l'électrolyte sur le contrôle de la densité de charge au plan de cisaillement. En effet, nous pouvons remarquer que, bien que travaillant à force ionique fixée, la concentration en cation de l'électrolyte (ions Na^+) varie en fonction de la composition du système électrolytique, conformément à la stœchiométrie. Par conséquent, sur l'intervalle de pH 6,0-9,0, la concentration en contre-ions Na^+ dans l'électrolyte de séparation augmente de 1,17 à 2 mM, ce qui peut expliquer la diminution de mobilité observée sur cet intervalle.

En ce qui concerne l'allure des profils électrophorétiques, elle peut être interprétée en termes de stabilité colloïdale. En effet, pour les milieux acides dans lesquels la dissociation des fonctions carboxylate n'est pas totale, les profils enregistrés sont peu intenses et surmontés de « spikes » ce qui suggère la présence d'agrégats. Lorsque le pH de la solution électrolytique augmente, les profils électrophorétiques caractéristiques des suspensions de particules étudiées deviennent lisses et intenses, ce qui suggère une meilleure dispersion des particules et peut être corrélé à une augmentation de leur charge de surface, autrement dit des répulsions électrostatiques entre particules portant le même signe de charge.

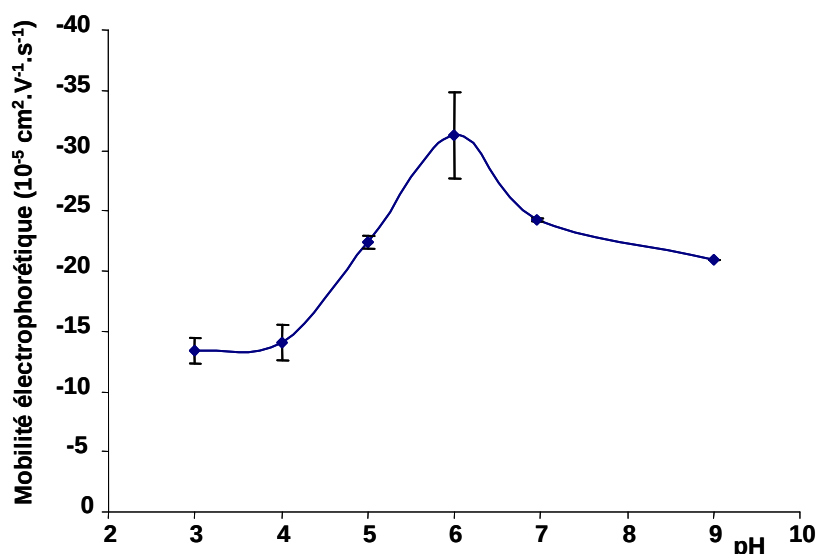


Figure II.9 : Influence du pH de l'électrolyte de séparation sur la mobilité électrophorétique de particules polymères fonctionnalisées en surface par des groupements carboxylate (210 nm de diamètre)

Capillaire en silice vierge, 50 μm d.i. x 35 cm (longueur utile : 26,5 cm). Electrolyte de séparation : citrate de sodium pH 3,0-6,0 ; phosphate de sodium pH 7,0 ; borate de sodium pH 9,0 (tous à la même force ionique de 2 mM). Tension appliquée : + 30 kV. Injection hydrodynamique : 30 mbars, 3 s. Détection UV : 200 nm. Température : 25 °C.

Chaque point est la moyenne de 3 répétitions et les barres d'erreur représentent $\pm$ une fois l'écart type.

II.3. Article 1: Size-based characterization of nanometric cationic maghemite particles using capillary zone electrophoresis

Fanny d'Orlyé, Anne Varenne, Pierre Gareil

Electrophoresis **29** (2008) 3768-3778

Laboratory of Electrochemistry and Analytical Chemistry (LECA), UMR 7575 CNRS-ENSCP-Paris6

Abbreviations:

HPC: hydroxypropylcellulose; **PB**: polybrene; **DDABr**: didodecyldimethylammonium bromide; **TMAOH**: tetramethylammonium hydroxide

Keywords:

ferrofluids; electrophoretic mobility; capillary wall modification; zeta-potential; ionic strength

Abstract

Size-sorted maghemite ($\gamma\text{-Fe}_2\text{O}_3$) particle populations of number mean solid diameters ranging from 6 to 10 nm were suspended and directly characterized in their stabilizing acidic, citrated or basic aqueous media using CZE coupled with UV detection. Analytical conditions were optimized in order to ensure reliable mobility measurements of these ferrofluids in their anionic and cationic forms. A particular interest has been paid to the investigation of the positively charged ferrofluids, since cationic colloids have received little attention so far. A strategy for capillary wall modification was chosen in order to prevent particle adsorption while preserving high analytical performances. The influence of experimental conditions such as particle volume fraction, injection volume, electric field strength and electrolyte nature on electrophoretic profiles and measured electrophoretic mobilities was evaluated. A size-dependent electrophoretic mobility was demonstrated and discussed in terms of the ratio of the particle radius to Debye length with reference to existing models (Henry, ...). Although these nanometric particle distributions laid in a very narrow size range, partial separation was obtained with selectivity varying as a function of electrolyte ionic strength.

1. Introduction

Ferrofluids are magnetic fluids which are stable suspensions of iron oxide nanoscaled magnetic particles (either maghemite: $\gamma\text{-Fe}_2\text{O}_3$ or magnetite: Fe_3O_4) in appropriate non-magnetic carrier liquids. Such ferrofluids were first described by Papell [1] in 1965 and further developed with a view to the large extent of their applications in various fields (sealing, lubrication, damping, heat transfer, sensing/detection, micromechanics ...) [2] and especially in biotechnology and biomedicine [3-5]. Currently, magnetic nanoparticles are attracting attention because of their potential use as contrast agents for magnetic resonance imaging (MRI) [6], heating mediators for cancer thermotherapy (hyperthermia) [7] and drug-carriers for site-specific delivery [8]. A novel tissue engineering methodology using magnetic force and magnetic nanoparticles [9] is also being developed. Furthermore their use as magnetic carriers in separation processes including purification [10] and immunoassays [11] is already well-known.

These applications in the domain of biotechnology impose strict requirements on particle physico-chemical properties, in terms of size and surface characteristics. Among currently used techniques, electron microscopy provides information on particles shape and solid diameter [12], whereas dynamic light scattering (DLS) gives access to hydrodynamic diameter via the Stokes-Einstein relationship [13]. Micro-electrophoresis [14] and Laser Doppler Velocimetry (LDV) [13-15] are applied for measuring electrophoretic mobilities which can be converted into Zeta (ζ) potentials using proper models (Henry, Hückel, Smoluchowski...) with respect to ζ potential and κR values [14], where R is the particle radius and κ the reciprocal Debye length. Over the last two decades, there has been an effort to extend CE applications to nanoparticle characterization [15-16] as it provides information on both size and surface charge density. The selectivity of this separation method also allows simultaneous characterization of particle populations differing in size, charge or chemical composition (organic [17-22] and inorganic [23-27]), as well as detection of impurities present in the suspensions [28].

The first attempts using CE for the separation of inorganic colloidal nanoparticles according to size was reported by Mc Cormick [23], who successfully separated a series of silica particle populations ranging in size from 5 to 500 nm. The ionic strength of the separation buffer was found to have a significant effect on resolution and electrophoretic

mobilities. Optimum separation of the smallest populations (8.5, 17.6 and 44 nm) was achieved at the highest ionic strengths. More recently, size-dependent separations of inorganic nanometric particles were also obtained for gold (5-41 nm) [29-31], silver (17-50 nm) [32] and gold/silver core/shell (25-90 nm) [33] nanoparticles in running buffer containing surfactant additives. Indeed, Schnabel et al. [34] first reported a size-dependent electrophoretic migration for negatively charged gold particles (5-15 nm), but no separation could be observed in surfactant free electrolyte. Besides, a size-separation of CdTe quantum dots (2-5 nm), based on CGE, could be optimized using polyacrylamide solutions as sieving media [35].

Among CE separations of particles, interest was paid to metal oxide mixtures including iron oxides. In this context, particles of submicrometric scale (0.1-1 μm in diameter) were only considered. Ballou et al. [24-26] investigated the effect of specific coion binding as well as buffer type, concentration and pH on particle electrophoretic mobility. Thus, the isoelectric point of different metal oxide populations were estimated and separation conditions optimized. Experience also showed that particles were not fully dispersed as singles and that aggregates co-migrated with single particles resulting in spiky peaks [26, 36]. The only attempt for the CE characterization of ferrofluids (magnetic iron oxide particles ranging in diameter from 30 to 200 nm) was carried out by Morneau et al. [28] and concerned particles with stabilizing surface groups that differed in nature and charge, mainly anionic. Broad electrophoretic profiles, typical of colloidal particles, were reported and the effect of pH, ionic strength and applied voltage on particle electrophoretic mobility was studied. To the best of our knowledge, the size-based characterization of ferrofluids using CE has not been reported so far.

The purpose of this study was to characterize populations of maghemite particles of a scale far smaller than those previously reported (from 6 to 10 nm in diameter) and having very close number mean solid diameters (mean size difference about 2 nm). With a view to ongoing studies on functionalized magnetic particles, series of ferrofluids were characterized in different basic and acidic media involving negative or positive surface charges as well as different stabilizing groups. A particular interest has been paid to the investigation of ferrofluids in their positively charged form, since cationic colloids have received little attention so far [25, 29, 37-40], likely due to more experimental difficulties. Thus, different strategies for capillary wall modification aiming at preventing wall adsorption were

compared. The influence of experimental conditions (particle volume fraction, injection volume, electric field strength and electrolyte type) on particle mobility was evaluated. The obtained results were eventually discussed in terms of the ratio of the particle radius to Debye length in order to better understand the particle electrophoretic behavior.

2. Theoretical background

For a non conducting surface-charged spherical particle, dependencies of reduced electrophoretic mobility on product κR of particle radius by reciprocal Debye length are displayed in Figure 1 [19], in accordance with Overbeek-Booth theory [41], for the case of a monovalent symmetrical electrolyte, for “low” ($\zeta \leq 25$ mV) and “high” ($\zeta > 25$ mV) values of ζ potential [42]. Strictly speaking, R is the distance from particle centre to the shear surface. However, the particle radius may be substituted in most cases in which it is assumed that the distance between solid and shear surfaces does not exceed approx. 1 nm [42].

For the case of small ζ potential values ($\zeta \leq 25$ mV at 25 ° C) and a rigid, nonconducting, spherical particle of radius R , migrating in a medium of viscosity η and permittivity ϵ , the electrophoretic mobility, μ , is given by [42]:

$$\mu = \frac{2\epsilon\zeta}{3\eta} f(\kappa R) \quad (1)$$

where $f(\kappa R)$ is the so-called Henry’s function. Oshima [43] proposed a single equation giving a very good approximation of this function over the whole range of κR values:

$$f(\kappa R) \approx 1 + \frac{1}{2(1 + \frac{\delta}{\kappa R})^3} \quad (2)$$

$$\text{with } \delta = \frac{2.5}{1 + e^{-\kappa R}} \quad (3)$$

Henry’s function ranges from 1 at $\kappa R \ll 1$ (Hückel limit) to 1.5 at $\kappa R \gg 1$ (Smoluchowski limit). As for reciprocal Debye length κ , it is directly related to electrolyte ionic strength I by:

$$\kappa(\text{nm}^{-1}) \approx 3.288\sqrt{I(\text{mol.L}^{-1})}, \text{ at } 25^\circ \text{C in water} \quad (4)$$

Accordingly, the electrophoretic mobility of particles is a monotonous function of their size at a given ionic strength (or κ), assuming a uniform ζ potential, with larger particles migrating faster [19].

If the particle possesses a high ζ potential value, the mobility dependence on κR can be altered due to the so-called “relaxation effect” arising from the distortion of the ionic

atmosphere surrounding the particle migrating in the electric field. While contributing negligibly to mobility at small ζ potentials, the relaxation effect is expected to give rise to a minimum in the dependence of μ on κR for κR values between 1 and 5 when the ζ potential starts to exceed 25 mV [19], as can be seen in Figure 1.

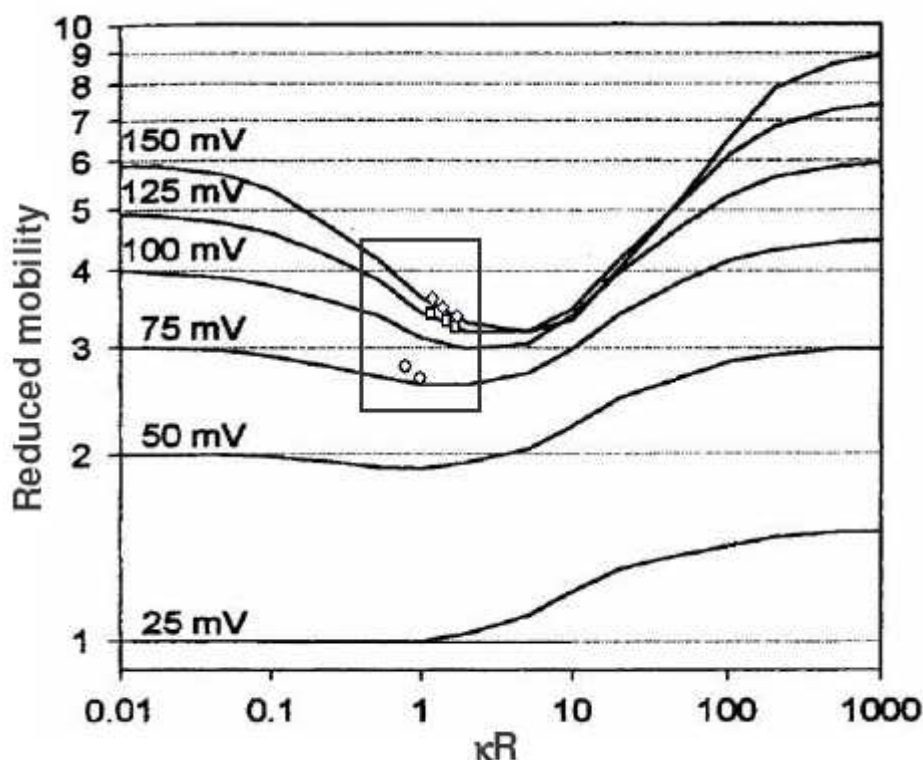


Figure 1. Theoretical variations of reduced mobility $\bar{\mu} = \frac{3\eta e}{2\epsilon kT} \mu_{ep}$ vs κR product for “low” ($\zeta \leq 25$ mV) and “high” ($\zeta > 25$ mV) values of ζ potential [19], in accordance with Overbeek-Booth theory [41], and superimposed experimental points from analysis of HNO_3^- (open diamonds), citrate- (open squares) and TMAOH-stabilized (open circles) size-sorted maghemite particle populations. Experimental conditions: see Figure 2 C for HNO_3 -stabilized ferrofluids and Figure 5 C to E for citrate- and TMAOH-stabilized ferrofluids. Each experimental point is the mean from 3 replicates (% RSD < 0.3 %), 5 replicates (% RSD < 0.4 %) and 5 replicates (% RSD < 3 %) respectively.

3. Materials and methods

3.1. Chemicals and reagents

Iron (II) chloride tetrahydrate, iron (III) chloride solution (27 % (w/w) in aqueous solution), iron (III) nitrate, hydrochloric acid, ammonia, nitric acid, sodium chloride, acetone,

diethyl ether and standard 1 M and 0.1 M NaOH and HCl solution Normadoses were purchased from VWR (Strasbourg, France). β -alanine, hydroxypropylcellulose (HPC, Mr = 100 000), hexadimethrine bromide (polybrene (PB), Mr = 15 000) and didodecyldimethylammonium bromide (DDABr) were provided by Aldrich (Saint-Quentin Fallavier, France). N,N-dimethylformamide was from Fluka (Saint-Quentin Fallavier, France), citric acid was from Sigma (Saint-Quentin Fallavier, France) and 1 M tetramethylammonium hydroxide (TMAOH) solution in water from Riedel-de Haën (Saint-Quentin Fallavier, France). Water used throughout was produced by a Direct-Q 3 system (Millipore, Molsheim, France). TMAOH solutions of various concentrations (0.1 to 20 mM) were obtained by successive dilutions of the commercial 1M solution. 10 mM citrate buffers were obtained from a 0.1 M citric acid solution and either a 0.1 M NaOH solution (pH 5.9) or a 1 M TMAOH solution (pH 6.1). 10 mM β -alanine buffer pH 3 was prepared from a 0.1 M β -alanine solution and a 0.1 M HCl solution. N,N-dimethylformamide was used as EOF marker at 0.05 % v/v in buffer solution.

3.2. Ferrofluid synthesis

A cationic ferrofluid consisting of maghemite particles (γ -Fe₂O₃) dispersed in an aqueous solution of nitric acid (pH $\leq$ 2) was first synthesized according to the procedure described by Massart [44]. The resulting suspension is polydisperse and size distribution (P(D), D being the particle solid diameter) is usually assumed to be well described by a log-normal law [45]:

$$P(D) = \frac{1}{\sqrt{2\pi}\sigma_0 D} \exp\left[-\frac{1}{2\sigma_0^2} \left(\ln \frac{D}{D_0}\right)^2\right] \quad (5)$$

Ln D₀ being the mean value of ln D and σ_0 the standard deviation. A size sorting procedure [45] allowed isolation of three particle sub-populations with different size characteristics and reduced polydispersity. After magnetic settling, particles were successively washed under stirring with deionized water, acetone and diethyl ether and then resuspended in the desired medium. Thus, we eventually disposed of series of acidic, basic and citrated ferrofluids (particles respectively stabilized in HNO₃, TMAOH or sodium citrate solutions). Magnetic measurements were performed using a home-made vibrating magnetometer as described in [46]. Analysis of the magnetization curves led to the parameters ln D₀ and σ_0 of the different size distributions from known volume fraction Φ of magnetic particles, and provided

information on the stability of the suspensions [47]. Φ was previously deduced from sample iron content determined by flame atomic absorption spectrometry. Respective data are given in Table 1. According to the needs for the subsequently reported experiments, the volume fraction of magnetic particles was adjusted by dilution in separation electrolyte.

A- HNO₃-stabilized ferrofluids

Particle sample	D ₀ (nm)	σ ₀	Particle volume fraction Φ (%)	Modal diameter* D _{max} (nm)	Number mean diameter** <D _N > (nm)	Size distribution standard deviation*** σ (<D _N >) (nm)
Coarse sample	7.8	0.34	1.8	6.9	8.3	2.9
Subpopulation 1	6.6	0.25	0.7	6.2	6.8	1.7
Subpopulation 2	8.6	0.25	3.4	8.1	8.9	2.3
Subpopulation 3	9.9	0.37	4.0	8.6	10.6	4.1

B- Citrate-stabilized ferrofluids

Particle sample	D ₀ (nm)	σ ₀	Particle volume fraction Φ (%)	Modal diameter* D _{max} (nm)	Number mean diameter** <D _N > (nm)	Size distribution standard deviation*** σ (<D _N >) (nm)
Coarse sample	7.7	0.35	2.1	6.8	8.2	2.9
Subpopulation 1	6.9	0.17	0.3	6.7	7.0	1.2
Subpopulation 2	8.7	0.21	1.2	8.3	8.9	1.9
Subpopulation 3	9.7	0.35	2.9	8.6	10.3	3.7

C- TMAOH-stabilized ferrofluids

Particle sample	D ₀ (nm)	σ ₀	Particle volume fraction Φ (%)	Modal diameter* D _{max} (nm)	Number mean diameter** <D _N > (nm)	Size distribution standard deviation*** σ (<D _N >) (nm)
Subpopulation 1	6.7	0.2	0.3	6.4	6.8	1.4
Subpopulation 2	8.5	0.26	1.3	7.9	8.8	2.3

Table 1. Characteristics of maghemite particles synthesized for the study

* $D_0 e^{-\sigma_0^2}$ [48]

** $D_0 e^{\frac{\sigma_0^2}{2}}$ [48]

*** $D_0 \sqrt{e^{\sigma_0^2} (e^{\sigma_0^2} - 1)}$ [48]

3.3. CE apparatus and measurements

Electrophoretic measurements were performed with a HP^{3D}CE capillary electrophoresis system (Agilent Technologies, Waldbronn, Germany). 50 μm id x 35 cm fused-silica capillaries (detection length, 26.5 cm) from Polymicro Technologies (Phoenix, AZ, USA) were used. Injections were performed hydrodynamically by applying 30 mbar at

the capillary inlet for 3 s (approx. 4.5 nL) unless otherwise specified. Successive injection zones were performed in the following order: neutral marker, particle sample and separation electrolyte. The applied voltage was 10 kV unless otherwise specified, with negative polarity applied at the capillary inlet for PB- or DDABr-coated capillaries and positive polarity for bare fused-silica capillaries and HPC coated capillaries. The temperature of the capillary cartridge was set at 25 °C. The detection wavelengths for EOF marker and particles were 200 and 254 nm.

3.4. Capillary activation and modifications

Prior to first use, bare fused-silica capillaries were activated by successive flushes with 1 M NaOH and 0.1 M NaOH for 15 min each and water for 5 min under 925 mbar. For HPC modification [49], the fused-silica capillary was filled with the polymer solution (5 g / 100 mL water) using a syringe pump (KD Scientific, Holliston, USA). 10 µL were thus percolated at a flow rate of 0.5 µL.min⁻¹. The filled capillary was purged with nitrogen (applied pressure 4 bar) and then heated from 60 °C to 140 °C at 5 °C.min⁻¹, held at 140 °C for 20 min and then cooled to 25 °C at 5 °C.min⁻¹ in the oven of a ST 200 Stang Instruments gas chromatograph (Perichrom, Saulx-les-Chartreux, France), still under nitrogen flow. Residual EOF was measured according to the method by Williams and Vigh [50]. EOF measurements were performed prior and after each repetition series (n = 3 to 4) in order to perform mobility corrections if necessary. Capillaries showing EOF mobility values greater than 1 to 2x10⁻⁵ cm².V⁻¹.s⁻¹ were discarded.

For PB modification [51], the capillary column was first activated as described previously for a bare fused-silica capillary. The PB solution (3 g / 100 mL water) was then flushed for 15 min. Excess polymer was flushed out with water for 5 min and equilibration of the modified capillary was performed by flushing with the separation electrolyte for 5 min. The PB modification procedure was iterated daily.

For DDABr modification [52], the capillary column was first activated as reported before. The initial capillary modification procedure consisted in a 5 min flush with a 0.1 mM DDABr solution in 10 mM HCl, followed by a 3 min flush with the separation electrolyte to move out the excess surfactant and equilibrate the capillary. Between each run, the capillary was rinsed with the DDABr solution for 2 min and with the separation electrolyte for 1 min, always under the aforementioned pressure.

4. Results and discussion

Characteristics of maghemite particles synthesized for the study are summarized in Table 1. The surface charge of the particles stabilized in TMAOH solution is ensured by the deprotonated surface hydroxyl groups and is therefore negative. Symmetrically, the positive charge of the maghemite particles stabilized in HNO₃ solution is related to the protonation of these same groups. Maghemite nanoparticles could also be stabilized under anionic form in a sodium citrate solution, due to the strong adsorption of citrate ions onto the particle surface. As mentioned above, aqueous ferrofluids were characterized either positively or negatively charged, for there is interest in both ionic forms in the prospect of further functionalization stages. Because of the paucity of literature available likely due to more experimental difficulties, emphasis was placed on the influence of experimental conditions for the characterization of ferrofluids in their positively charged form.

4.1. Influence of capillary coating

Referring to results reported by Morneau et al. [28], the CE characterization of cationic ferrofluids was first attempted in fused silica capillary, but no signal was detected in both polarities. Therefore, three different strategies (HPC, PB and DDABr) for capillary wall modification were implemented and compared, in order to prevent particle adsorption while preserving high analytical performances.

HPC is a hydrophilic neutral polymer which induces permanent capillary coating after thermal treatment and acts as EOF suppressor [49]. Low anodic EOF could be measured after the first particle analysis, which kept on increasing in absolute value run after run, suggesting particle adsorption to the wall. This EOF drift made precise particle electrophoretic mobility determination difficult for comparison purposes because EOF could not be determined in the same run as particle mobility. With the aim of performing simultaneous detection of EOF marker and particles, reversed cathodic EOF was considered. Adsorption of a polycationic polymer PB onto the negatively charged inner surface of the fused-silica capillary produced initial anodic EOF [51] with a mobility amounting to $-52 \times 10^{-5} \text{ cm}^2 \cdot \text{V}^{-1} \cdot \text{s}^{-1}$ in a 10 mM HCl electrolyte. But this flow appeared dependent on the capillary lot (RSD $\sim 5\%$, $n = 3$) and a continuous drop in EOF reaching about 4 % every ten runs resulted in a considerable increase in particle migration time and finally in their detection under normal polarity. Eventually, DDABr coating offered adequate alternative by generating a high-magnitude

anodic EOF of up to $-92 \times 10^{-5} \text{ cm}^2 \cdot \text{V}^{-1} \cdot \text{s}^{-1}$ in a 10 mM HCl electrolyte. This double-chained cationic surfactant forms an adsorbed stable flat bilayer [52] as confirmed by quasi constant electroosmotic mobilities measured at pH 2 over a hundred runs ($\text{RSD} \leq 3 \%$). This modification required only short equilibration time (3 min) before each run. Its semi-permanent feature allowed to perform analyses in a surfactant-free electrolyte, preventing any possible interaction with particles of interest. Simultaneously with the EOF marker and anionic species present in the suspension, cationic particles with high electrophoretic mobility could be detected within a small migration time window under a wide range of ionic strength (10 to 80 mM),

Figure 2 shows the electropherograms corresponding to each maghemite particle subpopulation ($\langle D_N \rangle = 6.8$ (1), 8.9 (2) and 10.6 (3) nm) obtained under the three modified capillary conditions previously described. Asymmetric electrophoretic profiles were observed with HPC- (Figure 2A) and PB-coated (Figure 2B) capillaries, displaying peak tailing on the side of the smallest mobility values, whereas more symmetrical peaks were produced with DDABr-coated (Figure 2C) capillaries, even at longer residence time. For the case of HPC-coated capillaries, peak tailing should be due to particle adsorption to capillary wall, as already inferred from steadily increasing anodic EOF drift and as confirmed by reduced measured mobility values. For the case of PB-coated ones, the more peculiar peak shapes obtained suggested a possible interaction between the polymer and the particles which may result in PB being scavenged from the wall. Peak asymmetry made calculation of mean particle electrophoretic mobility unwieldy. Thus, we decided to characterize the electrophoretic profile of a particle distribution by its mobility dispersion at 10 % height ($\Delta\mu_{(10\%)}$) and by both calculations of mobilities from measured migration time at peak apex (μ_{max}) and from temporal first order moment (μ_{mean}), as reported in Table 2. Run-to-run reproducibility (Table 2) of particle electrophoretic mobilities expressed as RSD ($n = 3$ to 4) was less than 0.3 %, whatever the wall modification. Peak area reproducibility ranged from 1 to 8 % RSD ($n = 3$ to 4). Peak area variations among particle subpopulations can be due to a slight uncertainty on particle volume fractions. As for the simultaneous analysis of nitrate species from the initial dispersion medium, a markedly reduced electrophoretic mobility (below $-50 \times 10^{-5} \text{ cm}^2 \cdot \text{V}^{-1} \cdot \text{s}^{-1}$ in a 10 mM HCl electrolyte) was noticed for this anion in DDABr-coated capillaries, as compared to the ionic strength-corrected value ($-72.5 \times 10^{-5} \text{ cm}^2 \cdot \text{V}^{-1} \cdot \text{s}^{-1}$) expected from literature absolute mobility data [53], and the measured value was increasing in electrolytes of increasing ionic strength. This result was consistent with

previous studies [54] and evidenced interactions between nitrate anions and the positively charged DDABr-coated capillary surface.

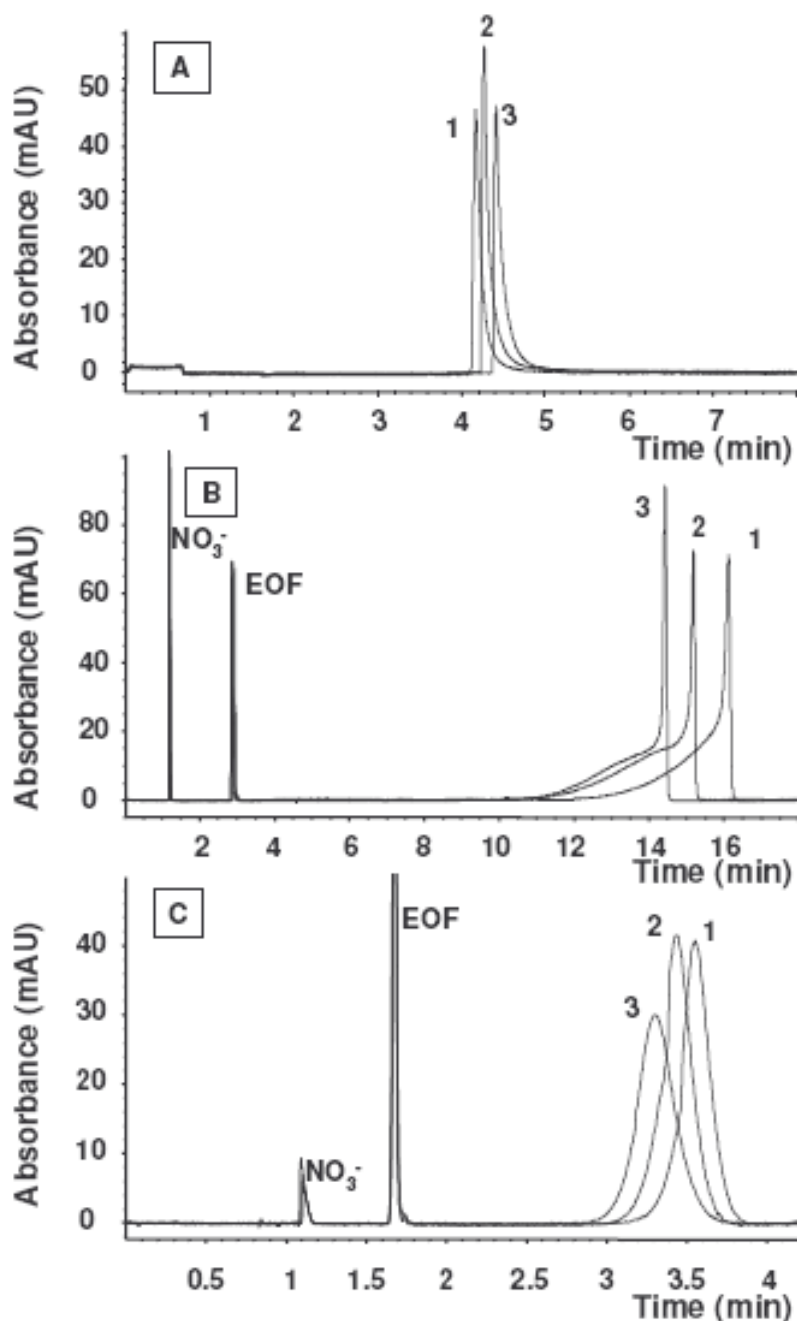


Figure 2. Electropherograms of HNO_3 -stabilized maghemite particle subpopulations obtained with (A) HPC-coated capillary, (B) PB-coated capillary and (C) DDABr-coated capillary. 50 μm id x 35 cm fused-silica capillaries (detection length, 26.5 cm). BGE: (A) 10.5 mM β -alanine + 10 mM HCl, pH 2.9; (B and C) 10 mM HCl, pH 2.0. Temperature: 25 $^\circ\text{C}$. Applied voltage: (A) 10 kV; (B and C) - 10 kV. Absorbance detection at 200 nm. Hydrodynamic injection (30 mbar, 3 s). Particle volume fraction Φ adjusted to $1.8 \times 10^{-2} \%$, with (A and B) 10 mM HNO_3 and (C) 10 mM HCl. Particle identification: number mean diameter $\langle D_N \rangle = 6.8$ (1), 8.9 (2) and 10.6 (3) nm.

A- HPC-coated capillary (n = 3)

Particle sample	μ_{eo} ($10^{-5} \text{ cm}^2 \cdot \text{V}^{-1} \cdot \text{s}^{-1}$)	μ_{max}^* ($10^{-5} \text{ cm}^2 \cdot \text{V}^{-1} \cdot \text{s}^{-1}$)	μ_{mean}^{**} ($10^{-5} \text{ cm}^2 \cdot \text{V}^{-1} \cdot \text{s}^{-1}$)	$\Delta\mu_{(10\%)}^{\Delta}$ ($10^{-5} \text{ cm}^2 \cdot \text{V}^{-1} \cdot \text{s}^{-1}$)	Corrected Area (mAU) ^{***}
Coarse sample		38.0 (0.1)	37.5 (0.1)	3.1 (4.9)	116 (3)
Subpopulation 1	[- 1.6 ; - 1.7]	38.7 (0.1)	38.4 (0)	2.0 (1)	79 (4)
Subpopulation 2		37.8 (0)	37.4 (0.1)	2.0 (3.6)	94 (1)
Subpopulation 3		36.7 (0.2)	36.3 (0.2)	2.0 (4)	84 (1)

B- PB-coated capillary (n = 4)

Particle sample	μ_{eo} ($10^{-5} \text{ cm}^2 \cdot \text{V}^{-1} \cdot \text{s}^{-1}$)	μ_{max}^* ($10^{-5} \text{ cm}^2 \cdot \text{V}^{-1} \cdot \text{s}^{-1}$)	μ_{mean}^{**} ($10^{-5} \text{ cm}^2 \cdot \text{V}^{-1} \cdot \text{s}^{-1}$)	$\Delta\mu_{(10\%)}^{\Delta}$ ($10^{-5} \text{ cm}^2 \cdot \text{V}^{-1} \cdot \text{s}^{-1}$)	Corrected Area (mAU) ^{***}
Coarse sample	- 52.4 (0.2)	42.9 (0.1)	42.3 (0)	2.9 (9.2)	163 (3)
Subpopulation 1	- 54.1 (0.3)	44.5 (0.2)	44.1 (0.1)	1.3 (6.8)	161 (1)
Subpopulation 2	- 53.5 (0.2)	43.4 (0.1)	42.8 (0.1)	1.8 (3.7)	185 (6)
Subpopulation 3	- 52.7 (0.1)	42.0 (0.1)	41.4 (0.1)	1.4 (3.5)	159 (3)

C- DDABr-coated capillary (n = 3)

Particle sample	μ_{eo} ($10^{-5} \text{ cm}^2 \cdot \text{V}^{-1} \cdot \text{s}^{-1}$)	$\mu_{max}^* \sim \mu_{mean}^{**}$ ($10^{-5} \text{ cm}^2 \cdot \text{V}^{-1} \cdot \text{s}^{-1}$)	$\Delta\mu_{(10\%)}^{\Delta}$ ($10^{-5} \text{ cm}^2 \cdot \text{V}^{-1} \cdot \text{s}^{-1}$)	Corrected Area (mAU) ^{***}
Coarse sample	- 91.1 (0.2)	46.5 (0.3)	7.6 (3.5)	130 (1)
Subpopulation 1	- 92.0 (0)	48.5 (0.2)	5.5 (3.9)	144 (5)
Subpopulation 2	- 92.3 (0)	47.3 (0.2)	6.1 (3.9)	163 (4)
Subpopulation 3	- 92.4 (0)	45.7 (0.3)	7.4 (1.1)	165 (8)

Table 2. Characteristics of the electrophoretic profiles of the HNO₃-stabilized particle populations, according to capillary coating. Experimental conditions: see figure 2

* from measured migration time at the peak apex

** from calculated first-order moment (t_{mean})

*** measured peak area to t_{mean} ratio

Figures in parenthesis are RSD in %

In conclusion, good reproducibility was achieved with the three capillary coatings tested. However DDABr-coated capillaries appeared to be the most suitable for characterization of cationic particles in terms of modification time, stability, magnitude of generated anodic EOF, migration time window and peak symmetry. Thus, DDABr-coated capillaries were selected for subsequent experiments.

4.2. Influence of injected particle number

Figure 3A shows the mobility-scaled electrophoretic profiles of the coarse particle sample obtained for a large range (factor of 500) of particle volume fractions Φ at fixed injected volume (ca 4.5 nL). These profiles became distorted with spikes on their high-mobility side when Φ exceeded 1.8×10^{-2} %. Actually, the presence of spikes was previously reported [26, 36] to occur when aggregates of varying and undetermined size co-migrate with

single suspended particles. Despite this distortion, total peak area remained a linear function of the volume fraction (data not shown). The variation of electrophoretic mobilities calculated from both measured migration time at peak apex and temporal first-order moment, as a function of Φ is represented in Figure 3B. Both calculations yielded the same trend, demonstrating that peak asymmetry or distortion did not induce an important error in mobility estimation: particle absolute mobility value increased with volume fraction up to 3×10^{-2} % and then levelled off.

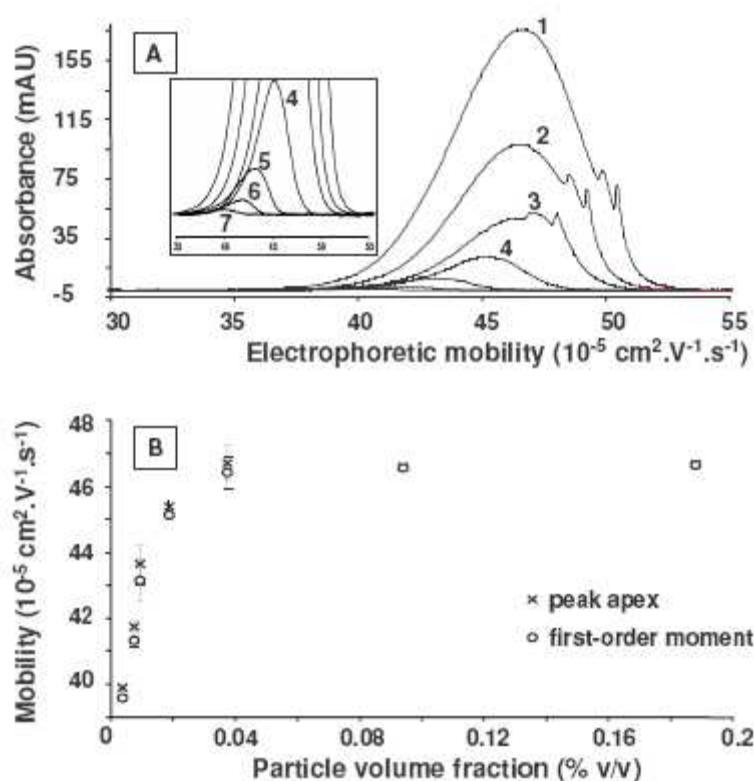


Figure 3. Influence of particle volume fraction Φ on particle electrophoretic mobility.

A/ Mobility-scaled electropherograms. Φ : 0.2 % (1), 9.0×10^{-2} % (2), 3.6×10^{-2} % (3), 1.8×10^{-2} % (4), 9.0×10^{-3} % (5), 7.2×10^{-3} % (6), 3.6×10^{-3} % (7). Zoom window on the profiles obtained for the smallest Φ values (1.8×10^{-2} % (4) to 3.6×10^{-3} % (7)). B/ Electrophoretic mobility in terms of particle volume fraction, calculated from migration time at peak apex (cross) and temporal first-order moment (open circle). DDABr-coated capillary. BGE: 10 mM HCl. Coarse particle sample ($\langle D_N \rangle = 8.3 \text{ nm}$). Particle volume fraction Φ adjusted by dilution in 10 mM HCl between 0.2 and 1.6×10^{-3} % (v/v). Other experimental conditions: see Figure 2.

Each experimental point is the mean from 4 replicates and error bars stand for $\pm$ one standard deviation.

A similar variation of the mobility of latex particles measured by LDV was observed by Fourest et al. [55] with dilution in distilled water. Under comparable conditions Dunstan et al. [56] also showed that this mobility dependence tended to disappear when dilutions were performed in saline solutions. However, no general conclusion could be drawn in connection

with these works. In the present study, the surface charge density of the maghemite particles is governed by an acido-basic equilibrium. We did ignore the exact pH of synthesized ferrofluids, but it is generally nearing 1.5 [57]. As dilutions were prepared with a 10 mM HCl solution (pH 2.0), dilution would favor a decrease in positive particle surface charge density, which would explain measured decreasing mobility values. Consistent results were obtained by varying the injection volume (from 0.5 to 12.5 nL) at fixed particle volume fraction ($1.8 \times 10^{-2} \%$), with peak distortion/spikes appearing over 4.5 nL injected (results not shown), suggesting that no pronounced peak broadening was due to injection volume in this range and that observed phenomena were directly linked to local particle concentration. For subsequent studies, optimum retained parameters in terms of peak shape and peak intensity were 4.5 nL injection volume for a ferrofluid diluted at $1.8 \times 10^{-2} \%$.

4.3. Influence of applied electric field strength

The influence of electric field strength on particle mobility was studied in the range 57 to 571 V.cm^{-1} . It can be seen from Figure 4 that particle electrophoretic mobility as well as peak dispersion at 10 % height increased with increasing applied electric field strength.

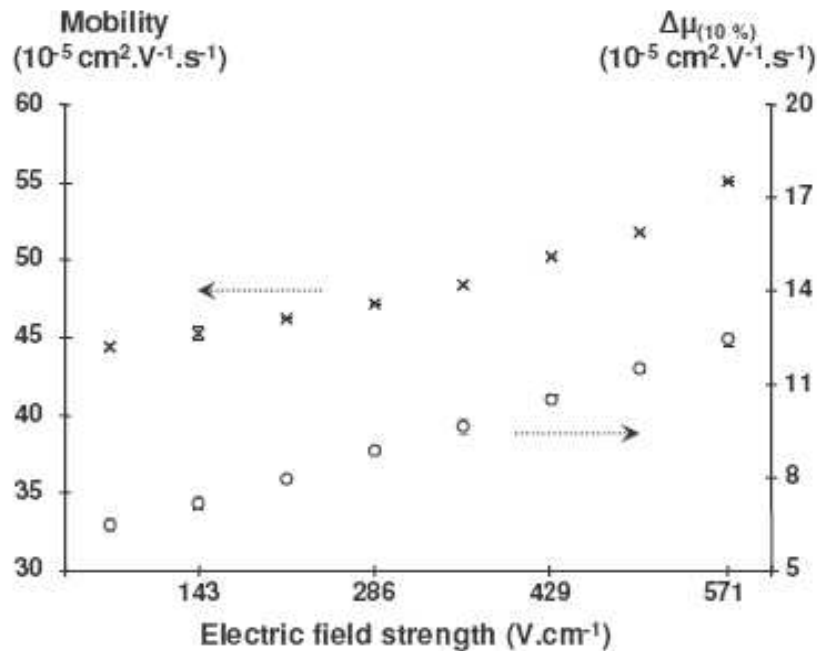


Figure 4. Influence of applied electric field strength on particle electrophoretic mobility (cross) and peak dispersion at 10% height (open circle)

Experimental conditions: see Figure 3, except for particle volume fraction Φ : adjusted to $1.8 \times 10^{-2} \%$ by dilution in 10 mM HCl and applied voltage varying between - 2 and - 20 kV.

Each experimental point is the mean from 3 replicates and error bars stand for $\pm$ one standard deviation.

The plot of electrolyte conductivity in terms of dissipated electric power (details not shown) allowed estimation of a 5 ° C temperature increase between extreme applied electric field strength values, according to Kok's method [58]. In order to estimate corresponding particle mobility variation, measurements at variable temperature (from 20 °C to 35 °C by 5 °C steps) were carried out. As a result, a 1 °C temperature increase over this range involved an average increase of $1 \times 10^{-5} \text{ cm}^2 \cdot \text{V}^{-1} \cdot \text{s}^{-1}$ in mobility and of $0.2 \times 10^{-5} \text{ cm}^2 \cdot \text{V}^{-1} \cdot \text{s}^{-1}$ in peak dispersion at 10 % height. Thus Joule heating effect was estimated to contribute for 50 % to the overall particle electrophoretic mobility increase and for 20 % to the overall peak broadening. In the following study we decided to work with applied electric field strength of $286 \text{ V} \cdot \text{cm}^{-1}$ in order to minimize Joule heating contribution while retaining reasonable analysis time.

4.4. *Effect of particle size*

The characterization of the three size-sorted particle subpopulations stabilized in acidic medium was carried out in a 10 mM HCl electrolyte. Electropherograms corresponding to individual runs of each subpopulation differing by about 2 nm in their number mean diameter ($\langle D_N \rangle = 6.8, 8.9 \text{ and } 10.6 \text{ nm}$) are represented in mobility scale in Figure 5A. Electrophoretic profiles present mobility dispersions at 10 % peak height (Table 2) in agreement with their standard deviation on size distribution provided by analysis of magnetic curves (Table 1). Under these conditions, we experienced the population of the smallest size migrated the fastest. Similar electrophoretic behavior was observed in 5.7 mM TMAOH, 2.4 mM citric acid (10 mM ionic strength, pH 6.1) and 5 mM TMAOH separation electrolytes when analyzing citrate- (Figure 5C) and TMAOH-stabilized (Figure 5E) ferrofluids respectively. κR values were calculated from the number mean diameter ($\langle D_N \rangle$) of each particle subpopulation, ranging from 0.8 to 1.8. In this range no simple theoretical model describes the dependence of the particle electrophoretic mobility on ionic strength without restriction of ζ potential. Nevertheless, superimposition of our experimental data points on the theoretical plots of reduced mobility vs κR product (Figure 1) confirmed their consistency with theoretical expectations of mobility being a decreasing function of κR , for high ζ potential values.

By using equations (1-3) (Henry's Model), calculated ζ potential values were in the range of 81-90, 78-85 and 65-70 mV for particles characterized in acidic, citrated or basic separation electrolytes, respectively. These values laid in fact out of the domain of validity of

Henry's model ($\zeta < 25$ mV) and represent relative deviations of up to 46 % with reference to values deduced from theoretical plots (Figure 1).

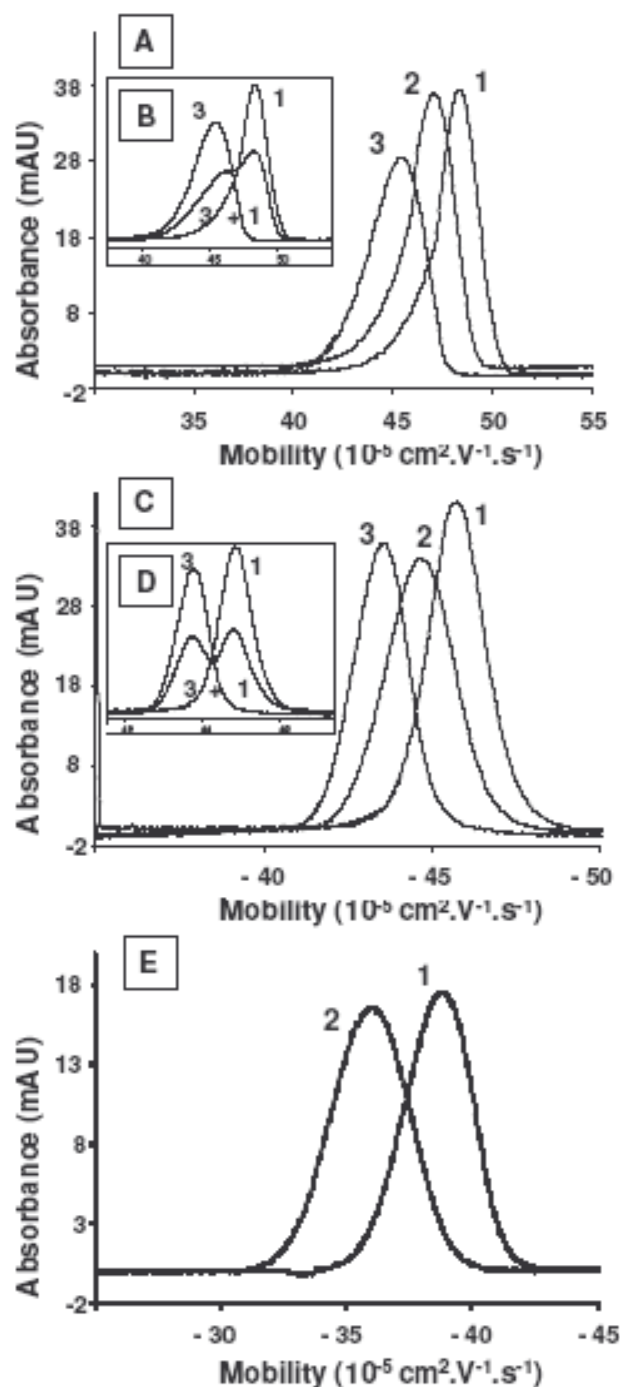


Figure 5. Mobility-scaled electropherograms of (A, B) HNO_3 -, (C,D) citrate- and (E) TMAOH-stabilized maghemite particle subpopulations, (A, C, E) injected separately or (B, D) as mixtures of subpopulations having extreme number mean diameter size.

50 μm id x 35 cm DDABr-modified (A, B) or unmodified (C, D, E) fused-silica capillary (detection length, 26.5 cm). BGE: (A, B) 10 mM HCl; (C, D) 5.7 mM TMAOH + 2.4 mM citric acid, pH 6.1. (E): 5 mM TMAOH. Temperature: 25 ° C. Applied voltage: (A, B) – 10 kV; (C, D, E) 10 kV. Absorbance detection at 200 nm. Particle volume fraction adjusted to 1.0×10^{-2} % by dilution in BGE. Hydrodynamic injection: (A, B, E) 30 mbar, 3 s; (C, D) particle sample (-30 mbar, 3 s), BGE (-20 mbar, 6 s), EOF marker (20 mbar, 2 s), BGE (20 mbar, 2 s). Particle identification: number mean diameter (A,B) $\langle D_N \rangle = 6.8$ (1), 8.9 (2) and 10.6 (3) nm; (C, D) 7.0 (1), 8.9 (2) and 10.3 (3) nm; (E) 6.8 (1) and 8.8 (2) nm.

As particle subpopulations were expected to be chemically homogeneous and hence present the same structural surface charge density (1.6 equivalent per nm² [57]), uniform ζ potential could be assumed, so that electrophoretic migration should be only governed by particle size at a given electrolyte ionic strength ($I = 10$ mM or $\kappa = 0.33$ nm⁻¹ in the present case). In effect, partial separations were obtained in acidic and citrated medium for mixtures of the two particle subpopulations having the extreme number mean diameters (differing by less than 4 nm). Corresponding electrophoretic profiles were homothetic of the superimposed profiles of the individual size-sorted populations (Figure 5B and D). Resolution was of course limited by the residual intrinsic size dispersion of each subpopulation. Thus, for a given electrolyte type, optimal resolution between the two subpopulations was obtained for the ionic strength (i.e. κR value) providing the best compromise between mean mobility difference and peak dispersion, as detailed below.

4.5 Effect of electrolyte ionic strength and composition

The influence of electrolyte ionic strength on particle mobility and peak dispersion was studied in acidic medium by varying NaCl concentration (10 to 70 mM) added to the initial 10 mM HCl electrolyte, resulting in κ variations between 0.33 and 0.93 nm⁻¹. Figure 6 represents the measured particle reduced mobility in terms of κR for the two subpopulations having mean diameters of 6.8 and 10.6 nm. For a given subpopulation, particle mobility decreased with increasing ionic strength to an extent depending on particle size: the smaller the particles, the greater the mobility dropped. Still assuming uniform zeta potential for both particle populations, experimental points obtained at a given ionic strength were connected by dotted lines, so as to visualize isopotential curves. Thus, for electrolyte ionic strength higher than 40 mM (corresponding to $\kappa R = 2.2$ and 3.5 for $\langle D_N \rangle = 6.8$ and 10.6 nm, respectively), inversion in order of measured particle electrophoretic mobility could be highlighted, which means that the larger particles started migrating faster. This inversion is consistent with theoretical expectations, since the minimum of the reduced mobility vs κR product at related ζ potential value of about 100 mV is located at a value of ca 2.2. However, no separation of the preceding particle subpopulations could be achieved upon increasing electrolyte ionic strength. Actually, within the limit of ionic strength values compatible with CE experiments, selectivity did not rise enough to offset peak dispersion due to intrinsic size heterogeneity of each particle subpopulation.

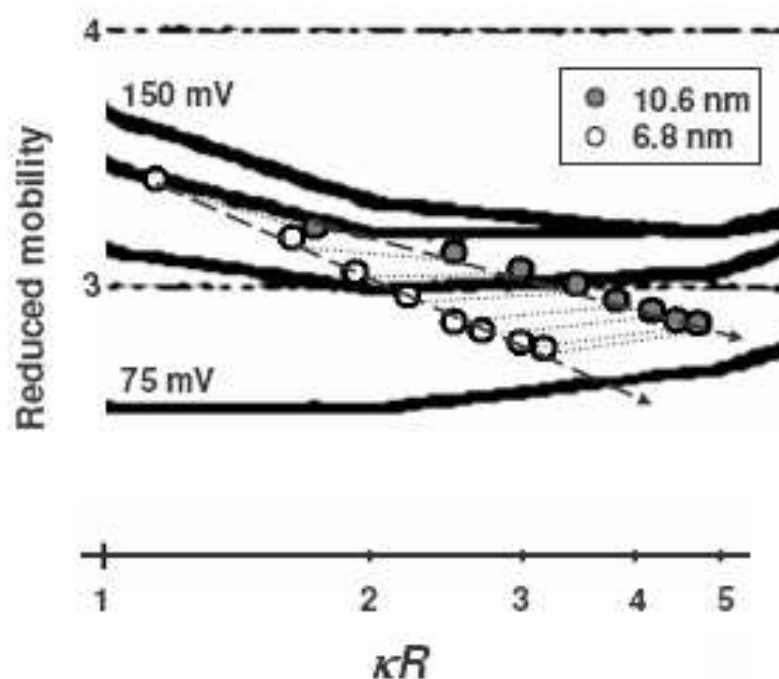


Figure 6. Theoretical variations of reduced mobility $\bar{\mu} = \frac{3\eta e}{2\epsilon kT} \mu_{ep}$ vs κR products in accordance with Overbeek-Booth theory [41], and superimposed experimental points from analyses of size-sorted subpopulations having number mean diameter size: $\langle D_N \rangle = 10.6$ nm (filled circle) and 6.8 nm (open circle)

Experimental conditions: see Figure 2 C except for background electrolyte varying in ionic strength between 10 and 80 mM (10 mM HCl + 0 to 70 mM NaCl, pH 2.0), particle volume fraction Φ adjusted to 1.8×10^{-2} % by dilution in respective BGE, and applied voltage: - 7 kV.

Each experimental point is the mean from 4 replicates (% RSD < 1 %).

Figure 7A shows the shift and shape alteration of the mobility-scaled electrophoretic profile for the particle subpopulation of number mean diameter 6.8 nm in electrolytes of various ionic strengths. The variation of peak width at half height as a function of κR (Figure 7B) presents a slight minimum for κR values between 2.2 and 2.5 (ionic strength values of 40 to 50 mM, respectively), which corresponds to the domain for which particle mobility is the least sensitive to particle size (minimum in the plot of reduced mobility vs κR product at related ζ potential value of ca 100 mV). Figure 7B also represents the variation of asymmetry factor a/b , as defined in Figure 7A. For $\kappa R < 2.2$, a would represent the contribution of the largest particles of the population (which migrate slower) to the peak dispersion and b would represent the contribution of the smallest ones (which migrate faster). Upon increasing ionic strength up to a κR value of 2.2, a greater decrease in b is expected, involving an increase in the asymmetry factor, as observed in Figure 7B. For $\kappa R > 2.5$, symmetrical interpretation can be set forth with this time the largest particles of the population migrating faster, which

would correspond to a greater increase in b and so lead to a decrease in the asymmetry factor after going past a maximum, as observed.

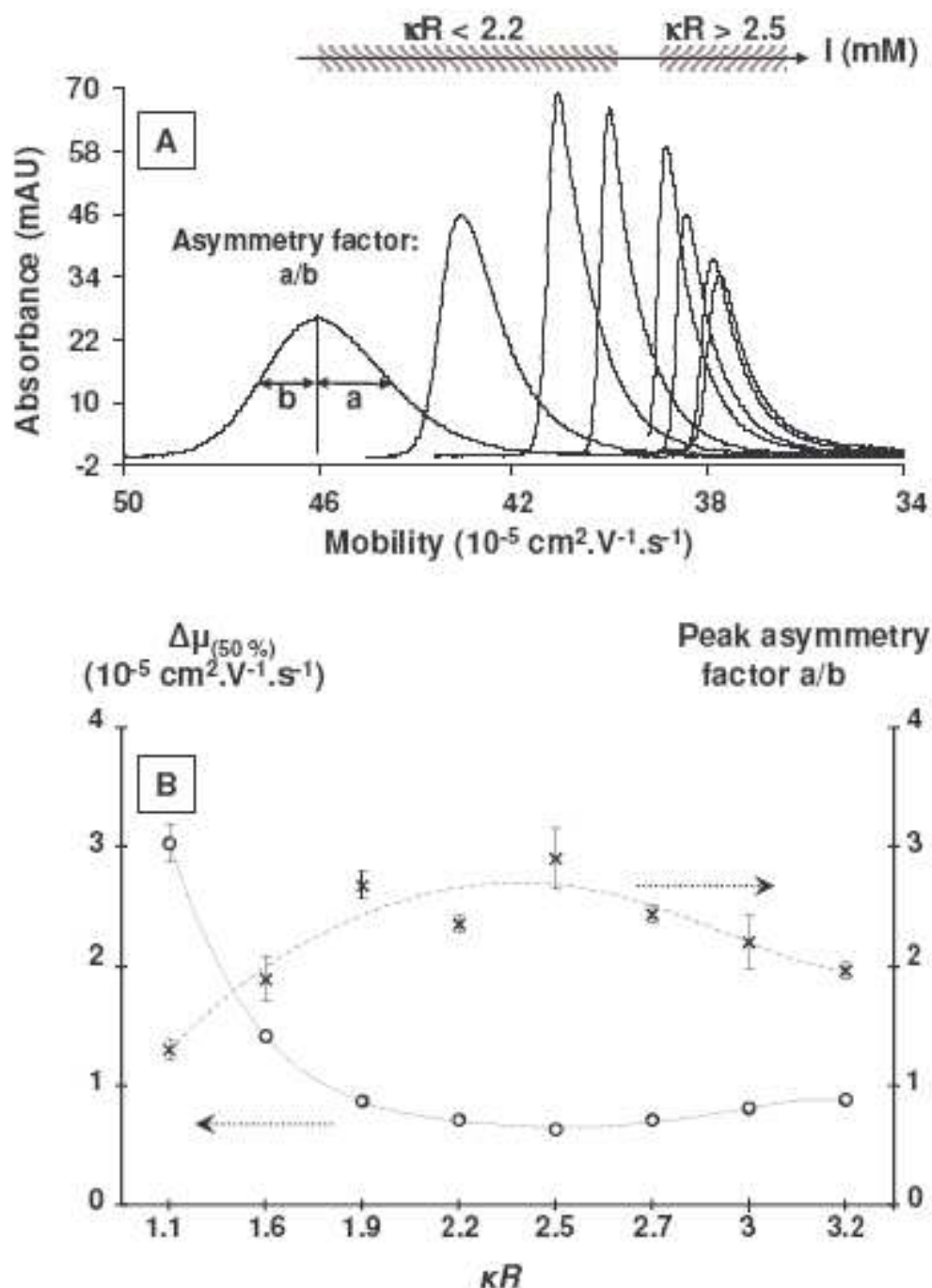


Figure 7. Influence of electrolyte ionic strength on electrophoretic profile of sorted maghemite particle fraction of number mean diameter $\langle D_N \rangle = 6.8 \text{ nm}$

A/ Mobility scaled electrophoretic profiles. B/ Variation of peak width at 50 % height expressed in mobility unit (open circle) and of asymmetry factor a/b (cross) as a function of κR product. a and b are defined as the half peak widths at 50 % height on the low- and high-mobility side, respectively, as outlined in Figure 7 A.

Experimental conditions: see figure 6.

Each experimental point is the mean from 4 replicates and error bars stand for $\pm$ one standard deviation.

5. Concluding remarks

CE conditions suitable to properly characterize anionic and cationic ferromagnetic nanoparticles of less than 10 nm solid diameter were set up in this work in the prospect of featuring further functionalization stages. Special attention was paid to cationic ferrofluids and DDABr-coated capillaries have turned out to be the best to prevent wall adsorption, thus ensuring more reliable mobility measurements. The impact of particle concentration on determined electrophoretic mobility was recognized for these particles. Experiments conducted under variable ionic strengths allowed to better understand the electrophoretic behavior of these particles, according to the resulting product κR of reciprocal Debye length by particle diameter and existing models. In agreement with these, size dependency of electrophoretic mobility was observed and tuned by varying ionic strength. For particles in the low nm range as the considered ones, the electrophoretic mobility is mainly a decreasing function of size and the reversed dependency can hardly be observed because the high ionic strengths it requires become out of the range consistent with CE.

Acknowledgments:

The authors gratefully acknowledge Prof. Valérie Cabuil and the members of her group (Laboratory of Ionic Liquids and Charged Interfaces, UMR CNRS 7612, University of Paris6, France), especially Delphine Talbot, for help in the synthesis of ferrofluids and fruitful discussions.

6. References

- [1] Papell, S. S., US Patent 3 215 572, 1965.
- [2] Berkovsky, B., Bashtovoy, V., *Magnetic Fluids and Applications Handbook*, Begell House Inc., New York 1996.
- [3] Tartaj, P., Morales, M. P., Gonzáles-Carreño, T., Veintemillas-Verdaguer, S., et al., *J. Magn. Magn. Mater.* 2005, 290/291, 28-34.
- [4] Ito, A., Shinkai, M., Honda, H., Kobayashi, T., *J. Biosci. Bioeng.* 2005, 100, 1-11.
- [5] Gupta, A. K., Gupta, M., *Biomaterials* 2005, 26, 3995-4021.
- [6] Zhao, M., Beauregard, D. A., Loizou, L., Davletov, B., et al., *Nat. Med.* 2001, 7, 1241-1244.
- [7] Wada, S., Tazawa, K., Furuta, I., Nagae, H. *Oral. Dis.* 2003, 9, 218-223.
- [8] Gallo, J. M., Varkonyi, P., Hassan, E. E., Groothuis, D. R. *J. Pharmacokinet. Biopharm.* 1993, 21, 575-592.
- [9] Ito, A., Hayashida, M., Honda, H., Hata, K., et al., *Tissue Eng.* 2004, 10, 873-880.
- [10] Safarik, I., Safarikova, M., *Biomagn. Res. Technol.*, 2004, 2, 7-34.
- [11] Shinkai, M., Wang, J., Kamihira, M., Iwata, M., et al., *J. Ferment. Bioeng.* 1992, 73, 166-168.
- [12] Woodward, R. C., Heeris, J., St. Pierre, T. G., Saunders, M., et al., *J. Appl. Cryst.* 2007, 40, 495-500.
- [13] Holoubek, J., *Journal of quantitative spectroscopy & radiative transfer* 2007, 106, 104-121.
- [14] Hunter, R. J., *Foundations of Colloid Science 2nd Edition*, Oxford University Press, New York 2001.
- [15] Radko, S. P., Chrambach, A., *Electrophoresis* 2002, 23, 1957-1972.
- [16] Rodriguez, M. A., Armstrong, D. W., *J. Chromatogr. B* 2004, 800, 7-25.
- [17] Fourest, B., Hakem, N., Perrone, J., Guillaumont, R., *J. Radioanal. Nucl. Chem.* 1996, 208, 309-318.
- [18] Jones, H.K., Ballou, N.E., *Anal. Chem.* 1990, 62, 2484-2490.
- [19] Radko, S. P., Stastna, M., Chrambach, A., *Electrophoresis* 2000, 21, 3583-3592.
- [20] Vanifatova, N. G., Spivakov, B. Y., Mattusch, J., Wennrich, R., *J. Chromatogr. A* 2000, 898, 257-263.
- [21] Vanhoenacker, G., Goris, L., Sandra, P., *Electrophoresis* 2001, 22, 2490-2494.
- [22] Stokes, J. C., Johnson, M. E., *Microchemical Journal*, 2004, 76, 121-129.

- [23] McCormick, R.M., *J. Liq. Chromatogr.* 1991, 14, 939-952.
- [24] Ducatte, G.R., Ballou, N.E., Quang, C., Petersen, S.L., *J. Microcol. Sep.* 1996, 8, 403-412.
- [25] Quang, C., Petersen, S.L., Ducatte, G.R., Ballou, N.E., *J. Chromatogr. A* 1996, 732, 377-384.
- [26] Petersen, S.L., Ballou, N.E., *J. Chromatogr. A* 1999, 834, 445-452.
- [27] Vanifatova, N. G., Spivakov, B. Y., Mattusch, J., Wennrich, R., *Talanta* 2003, 59, 345-353.
- [28] Morneau, A., Pillai, V., Nigam, S., Winnik, F. M., et al., *Colloids Surf. A: Physicochem. Eng. Aspects* 1999, 154, 295-301.
- [29] Wei, G.T., Wang, C.R.C., Liu, F.K., Chang, S.S., *J. Chinese Chem Society* 1998, 45, 47-52.
- [30] Liu, F.K., Wei, G.T., *Anal. Chim. Acta* 2004, 510, 77-83.
- [31] Liu, F.K., Lin, Y.Y., Wu, C.H., *Anal. Chim. Acta* 2005, 528, 249-254.
- [32] Liu, F.K., Ko, F.H., Huang, P.W., Wu, C.H., Chu, T.C., *J. Chromatogr. A* 2005, 1062, 139-145.
- [33] Liu, F.K., Tsai, M.H., Hsu, Y.C., Chu, T.C., *J. Chromatogr. A* 2006, 1133, 340-346.
- [34] Schnabel, U., Fischer, C.H., Kenndler, E., *J. Microcol. Sep* 1997, 9, 529-534.
- [35] Song, X., Li, L., Qian, H., Fang, N., Ren, J., *Electrophoresis* 2006, 27, 1341-1346.
- [36] Vanifatova, N. G., Spivakov, B. Y., Mattusch, J., Franck, U., Wennrich, R., *Talanta* 2005, 66, 605-610.
- [37] Okamoto, Y., Kitagawa, F., Otsuka, K., *Electrophoresis* 2006, 27, 1031-1040.
- [38] Okamoto, Y., Kitagawa, F., Otsuka, K., *Anal. Chem.* 2007, 79, 3041-3047.
- [39] Templeton, A.C., Cliffl, D.E., Murray, R.W., *J. Am. Chem. Soc.* 1999, 121, 7081-7089.
- [40] VanOrman Huff, B., McIntire, G. L., *J. Microcol. Sep.* 1994, 6, 591-594.
- [41] Overbeek, J. T. G., Wiersema, P. H., in: Bier, M. (Ed.), *Electrophoresis: Theory, Methods, and Applications*, Vol. II, Academic Press, New York 1967, pp.1-52.
- [42] Hunter, R. J., *Zeta Potential in Colloid Science: Principles and Applications*, Academic Press, London 1981, pp. 11-58, 98-123.
- [43] Ohshima, H., *J. Colloid Interface Sci.* 1994, 168, 269-71.
- [44] Massart, R., *IEEE Trans. Magn.* 1981, 17, 1247-1248
- [45] Massart, R., Dubois, E., Cabuil, V., Hasmonay, E., *J. Magn. Magn. Mater.* 1995, 149, 1-5.

- [46] Foner, S., *Rev. Sci. Instr.* 1959, 30, 548-557.
- [47] Bacri, J. C., Perzynski, R., Salin, D., Cabuil, V., Massart, R., *J. Magn. Magn. Mater* 1986, 62, 36-46.
- [48] Aitchison, J., Brown, J.A.C., *The lognormal distribution*, Cambridge University Press, Cambridge, 1957, pp. 7-19.
- [49] Shen, Y., Smith, R. D., *J. Microcol. Sep.* 1999, 12, 135-141.
- [50] Williams, B. A., Vigh, G., *Anal. Chem.* 1996, 68, 1174-1180.
- [51] Córdova, E., Gao, J., Whitesides, G. M., *Anal. Chem.* 1997, 69, 1370-1379.
- [52] Melanson, J. E., Baryla, N. E., Lucy, C. A., *Anal. Chem.* 2000, 72, 4110-4114.
- [53] Marcus, Y., *in ion properties*, Marcel Dekker, New York 1997, p. 170.
- [54] Johns, C., Yang, W., Macka, M., Haddad, P. R., *J. Chromatogr. A* 2004, 1050, 217-222.
- [55] Fourest, B., Hakem, N., Guillaumont, R., *Radiochim. Acta* 1994, 66/67, 173-179.
- [56] Dunstan, D. E., Rosen, L. A., Saville, D. A., *J. Colloid Interface Sci.* 1992, 153, 581-583.
- [57] Dubois, E., *Stability of magnetic colloïdal solutions (ferrofluids)* 1997, PhD thesis, University Pierre & Marie Curie, Paris, France.
- [58] Kok, W. T., *Chromatographia* 2000, 51, S24-S27.

II.4. Conclusion

L'électrophorèse capillaire est apparue comme une méthode performante pour la caractérisation de particules anioniques et cationiques de nature (polymère ou oxyde) et de taille (submicrométrique ou nanométrique) différentes. Dans le cadre de l'analyse de particules cationiques, différentes stratégies de modification du capillaire ont été envisagées de sorte à supprimer les phénomènes d'adsorption et ainsi permettre une mesure précise de la mobilité électrophorétique de ces particules. Les meilleures performances analytiques ont été obtenues dans des capillaires modifiés par adsorption d'un tensioactif cationique : le DDABr. Il a été montré l'influence de différents paramètres inhérents au choix de l'électrolyte de séparation, dont la force ionique, la nature et la concentration des co-ions et contre-ions ainsi que le pH, sur la mobilité et la dispersion électrophorétique des particules. Une séparation en taille a été obtenue pour des populations de particules de maghémite dont les diamètres moyens (< 10 nm) diffèrent de seulement 2 nm et expliquée à la lumière des théories d'Overbeek-Booth qui tiennent compte de l'effet de relaxation. Dans les domaines de potentiel- ζ (> 100 mV) et de κR (entre 1 et 10) que nous avons explorés, aucune expression analytique satisfaisante reliant le potentiel- ζ à la mobilité électrophorétique n'a encore été établie. Néanmoins, la représentation de nos valeurs expérimentales par des points de coordonnées (κR , mobilité réduite) a permis de retracer un réseau de courbes équipotentielles, en bon accord avec les résolutions numériques exactes des équations de transport proposées par Wiersema [34].

II.5. Références bibliographiques

- [1] Papell, S. S., US Patent 3 215 572, 1965.
- [2] Rosensweig, R. E., *Ferrohydrodynamics*, Cambridge University Press, Cambridge, England, 1985
- [3] Berkovsky, B., Bashtovoy, V., *Magnetic Fluids and Applications Handbook*, Begell House Inc., New York 1996.
- [4] Tartaj, P., Morales, M. P., González-Carreño, T., Veintemillas-Verdaguer, S., et al., *J. Magn. Magn. Mater.* 2005, **290/291**, 28-34.
- [5] Ito, A., Shinkai, M., Honda, H., Kobayashi, T., *J. Biosci. Bioeng.* 2005, **100**, 1-11.
- [6] Gupta, A. K., Gupta, M., *Biomaterials* 2005, **26**, 3995-4021.
- [7] Woodward, R. C., Heeris, J., St. Pierre, T. G., Saunders, M., et al., *J. Appl. Cryst.* 2007, **40**, 495-500.
- [8] Holoubek, J., *Journal of quantitative spectroscopy & radiative transfer* 2007, **106**, 104-121.
- [9] Hunter, R. J., *Foundations of Colloid Science*, 2nd Edition, Oxford University Press, New York 2001.
- [10] Radko, S. P., Chrambach, A., *Electrophoresis* 2002, **23**, 1957-1972.
- [11] Rodriguez, M. A., Armstrong, D. W., *J. Chromatogr. B* 2004, **800**, 7-25.
- [12] Fourest, B., Hakem, N., Perrone, J., Guillaumont, R., *J. Radioanal. Nucl. Chem.* 1996, **208**, 309-318.
- [13] Jones, H.K., Ballou, N.E., *Anal. Chem.* 1990, **62**, 2484-2490.
- [14] Radko, S. P., Stastna, M., Chrambach, A., *Electrophoresis* 2000, **21**, 3583-3592.
- [15] Vanifatova, N. G., Spivakov, B. Y., Mattusch, J., Wennrich, R., *J. Chromatogr. A* 2000, **898**, 257-263.
- [16] Vanhoenacker, G., Goris, L., Sandra, P., *Electrophoresis* 2001, **22**, 2490-2494
- [17] Stokes, J. C., Johnson, M. E., *Microchemical Journal*, 2004, **76**, 121-129
- [18] McCormick, R.M., *J. Liq. Chromatogr.* 1991, **14**, 939-952.
- [19] Ducatte, G.R., Ballou, N.E., Quang, C., Petersen, S.L., *J. Microcol. Sep.* 1996, **8**, 403-412.
- [20] Quang, C., Petersen, S.L., Ducatte, G.R., Ballou, N.E., *J. Chromatogr. A* 1996, **732**, 377-384.
- [21] Petersen, S.L., Ballou, N.E., *J. Chromatogr. A* 1999, **834**, 445-452.

- [22] Vanifatova, N. G., Spivakov, B. Y., Mattusch, J., Wennrich, R., *Talanta* 2003, **59**, 345-353.
- [23] Morneau, A., Pillai, V., Nigam, S., Winnik, F. M., et al., *Colloids Surf. A: Physicochem. Eng. Aspects* 1999, **154**, 295-301.
- [24] Wei, G.T., Wang, C.R.C., Liu, F.K., Chang, S.S., *J. Chinese Chem Society* 1998, **45**, 47-52.
- [25] Okamoto, Y., Kitagawa, F., Otsuka, K., *Electrophoresis* 2006, **27**, 1031-1040.
- [26] Okamoto, Y., Kitagawa, F., Otsuka, K., *Anal. Chem.* 2007, **79**, 3041-3047.
- [27] Templeton, A.C., Cliffl, D.E., Murray, R.W., *J. Am. Chem. Soc.* 1999, **121**, 7081-7089.
- [28] VanOrman Huff, B., McIntire, G. L., *J. Microcol. Sep.* 1994, **6**, 591-594.
- [29] Massart, R., *C. R. Acad. Sci. Paris* 1980, **291**, 1-2
- [30] Biaso, F., *Mécanismes de coordination du fer (III) par des ligands tripodes à sous unités 8-hydroxyquinoléine et catéchol et par l'acide citrique*, Thèse, Université J. Fourier, Grenoble 2002
- [31] Massart, R., Dubois, E., Cabuil, V., Hasmonay, E., *J. Magn. Magn. Mater.* 1995, **149**, 1-5
- [32] B. Fourest, N. Hakem, R. Guillaumont, *Radiochim. Acta* 1994, **66/67**, 173-179
- [33] A. Breeuwsma, J. Lyklema, *J. Colloid Interface Sci.* 1973, **43**, 437-448
- [34] Wiersema, P.H., Loeb, A., Overbeek, J.Th.G., *J. Colloid Interface Sci.* 1966, **22**, 78-99

Symboles et abréviations

Chapitre III. Caractérisation en charge de nanoparticules cœur/coquille bifonctionnalisées de taille homogène

a : rayon d'une particule sphérique, m

APTES: 3-(aminopropyl)triéthoxysilane

BGE: électrolyte de séparation

$\langle D_N \rangle$: diamètre solide moyen en nombre, m

DDABr: bromure de didodécyltriméthylammonium

DLS: diffusion dynamique de la lumière

I : force ionique de la solution électrolytique, mol.L⁻¹

k_B : constante de Boltzmann, J.K⁻¹

LDV: vélocymétrie laser Doppler

m_- : coefficient de friction ionique adimensionnel de l'anion

m_+ : coefficient de friction ionique adimensionnel du cation

MOPS: 3-(N-morpholine)propanesulfonate

$n(-NH_3^+)$: quantité de groupements amine ionisés, mole

$n(-O^-)$: quantité de groupements silanol ionisés, mole

n_{amino} : quantité totale de groupements fonctionnels aminés greffés

n_{silanol} : quantité totale de groupements silanol résiduels après greffage

n_T : nombre total de groupements fonctionnels ionisables

NPs: nanoparticules

pK_a^{amine} : pKa des groupements fonctionnels aminés greffés

pK_a^{silica} : pKa des groupements silanol résiduels

PEG: polyéthylène glycol

PEOS: 2-[méthoxy(polyéthylèneoxy)propyl]triméthoxysilane

T : température absolue, K

TEM: microscopie électronique en transmission

TEOS: tétraéthoxysilane

TRIS: tris(hydroxyméthyl)aminométhane

Symboles grecs

α : taux de fonctionnalisation des groupements silanol

ϵ_0 : permittivité du vide, $C.V^{-1}.m^{-1}$

ϵ_r : constante diélectrique du milieu

ζ : potentiel-zêta, V

κ : inverse de la longueur Debye, m^{-1}

μ_{ep} : mobilité électrophorétique d'une particule, $m^2.V^{-1}.s^{-1}$

$\bar{\mu}$: mobilité réduite

$\Delta\mu_{ep}$: dispersion électrophorétique, $m^2.V^{-1}.s^{-1}$

$\mu_{(-NH_3^+)}$: mobilité électrophorétique limite pour une particule présentant uniquement en surface des groupements fonctionnels aminés ionisés, $m^2.V^{-1}.s^{-1}$

$\mu_{(-O^-)}$: mobilité électrophorétique limite pour une particule présentant uniquement en surface des groupements silanol ionisés, $m^2.V^{-1}.s^{-1}$

Chapitre III. Caractérisation en charge de nanoparticules cœur/coquille bifonctionnalisées de taille homogène

III.1. Introduction

Les nanoparticules (NPs) magnétiques d'oxyde de fer fonctionnalisées en surface sont couramment employées dans le domaine biomédical pour l'imagerie [1], l'ingénierie de tissus [2], les immunodosages [3], les traitements par hyperthermie [4], la vectorisation de médicaments [5] ou encore la purification de cellules et de protéines [6, 7]. Ces applications nécessitent une fonctionnalisation de surface appropriée qui doit être à la fois non toxique et biocompatible, mais également permettre un transport ciblé pour la localisation de ces particules dans des zones spécifiques [8]. En outre, ces applications requièrent des populations de NPs monodisperses, de taille inférieure à 100 nm et de capacité d'aimantation élevée, pour un meilleur contrôle des leurs propriétés physico-chimiques. En effet, les propriétés magnétiques des particules dépendent principalement de paramètres physiques tels que leur taille et leur forme, leur microstructure et la phase cristalline dans laquelle elles se trouvent. Le comportement biologique des particules est lui plus intimement lié à la nature et à la charge de leurs groupements fonctionnels de surface.

Une estimation de la charge de surface des particules est couramment réalisée par microélectrophorèse ou vélocimétrie laser Doppler (LDV), via la mesure de leur mobilité électrophorétique. Dans ce contexte, l'application de l'électrophorèse capillaire à la caractérisation de nanoparticules s'est développée au cours des vingt dernières années [9, 10], mais reste globalement limitée à la caractérisation de particules anioniques sur des critères de taille, probablement en raison de difficultés expérimentales. Dans le Chapitre II, nous avons surmonté ces difficultés et proposé un mode opératoire, impliquant une modification du capillaire par un tensioactif cationique (DDABr), permettant la caractérisation précise de particules cationiques par électrophorèse capillaire et leur séparation en taille. Dans un second temps, nous nous proposons d'utiliser cette même stratégie de modification de surface du capillaire pour la caractérisation en charge de populations de particules cationiques de taille homogène.

Dans l'optique d'utiliser des particules magnétiques fonctionnalisées dans le contexte d'un immunodiagnostic, il nous est apparu important de pouvoir contrôler la densité de greffage et donc l'évolution de la charge de surface de ces particules. Les populations de particules considérées sont des cœur/coquilles maghémite/silice de taille homogène, mais de densité de charge *a priori* variable en fonction du rapport molaire entre les deux alkylsilanes utilisés pour leur fonctionnalisation de surface : le 3-(aminopropyl)triéthoxysilane (APTES) et le 2-[méthoxy(polyéthylèneoxy)propyl]triméthoxysilane (PEOS). Cette bifonctionnalisation de surface présente un intérêt, autant du point de vue de la stabilité colloïdale que de l'application biologique. La présence de chaînes alkyles aminées assure la stabilité colloïdale de la suspension, par les répulsions électrostatiques entre particules de même signe de charge, mais sert également de point d'ancrage pour les étapes de fonctionnalisation à venir. Quant aux chaînes PEG (polyéthylène glycol), elles contribuent à la stabilité colloïdale, par les répulsions stériques, mais présentent également l'intérêt, d'un point de vue biologique, de minimiser les interactions non spécifiques de nature hydrophobe.

Dans un premier temps, l'influence des conditions expérimentales, telles que l'amplitude du champ électrique, la quantité de particules injectée, la force ionique et le pH de l'électrolyte de séparation, sur la mobilité électrophorétique et les performances séparatives a été évaluée. Dans un second temps, la relation entre la mobilité électrophorétique des particules et la densité de greffage par les groupements amines a été étudiée. Dans ce contexte un modèle à deux pK_a tenant compte de l'ionisation des groupements aminés greffés, mais également des groupements silanol résiduels, a été évalué, afin de modéliser l'évolution de la mobilité des particules en fonction du pH. A titre de comparaison, une détermination indépendante du nombre de groupements amines, greffés à la surface des particules, a été réalisée par un dosage colorimétrique avec la ninhydrine. Enfin, la corrélation entre les résultats de ce dosage et les mobilités des particules a été étudiée.

III.2. Article 2: Charged-based characterization of nanometric cationic bifunctional maghemite/silica core/shell particles by capillary zone electrophoresis

Fanny d'Orlyé¹, Anne Varenne¹, Thomas Georgelin², Jean-Michel Siaugue², Bruno Teste³, Stéphanie Descroix³, Pierre Gareil¹

(1) Laboratory of Electrochemistry and Analytical Chemistry (LECA), UMR 7575 CNRS-ENSCP-Paris6,

(2) Laboratoire des Liquides Ioniques et Interfaces Chargés (LI2C), UMR 7612 CNRS-Paris6- ESPCI,

(3) Laboratoire Environnement et Chimie Analytique (LECA), UMR 7121 CNRS-ESPCI,

Abbreviations:

NPs: nanoparticles; **APTES:** 3-(aminopropyl)triethoxysilane; **PEOS:** 2-[methoxy(polyethyleneoxy)propyl]trimethoxysilane; **TEOS:** tetraethoxysilane; **TRIS:** tris(hydroxymethyl)aminomethane; **MOPS:** 3-(N-morpholine)propanesulfonate; **DDABr:** didodecyldimethylammonium bromide

Keywords :

ferrofluids; cationic nanoparticles; electrophoretic mobility; charge density; ionic strength; pH

Abstract

In view of employing functionalized nanoparticles (NPs) in the context of an immunodiagnostic, aminated maghemite silica core/shell particles were synthesized so as to be further coated with an antibody or an antigen via the amino groups at their surface. Different functionalization rates were obtained by coating these maghemite/silica core/shell particles with 3-(aminopropyl)triethoxysilane (APTES) and 2-[methoxy(polyethyleneoxy)propyl]-trimethoxysilane (PEOS) at different molar ratios. Adequate analytical performances with capillary electrophoresis coupled with UV-visible detection were obtained through semi-permanent capillary coating with didodecyldimethylammonium bromide (DDABr), thus preventing particle adsorption. First, the influence of experimental conditions such as electric field strength, injected particle amount as well as electrolyte ionic strength and pH, was evaluated. A charge-dependent electrophoretic mobility was evidenced and the separation selectivity was tuned according to electrolyte ionic strength and pH. The best resolutions were obtained at pH 8.0, high ionic strength (ca 100 mM) and low total particle volume fraction (c.a. 0.055%), this eliminating interference effects between different particle populations in mixtures. A protocol derived from Kaiser's original description was performed for quantitation of the primary amino groups attached onto the nanoparticle surface. Thereafter a correlation between particle electrophoretic mobility and the density of amino groups at their surface was established. Eventually, capillary electrophoresis proved to be an easy, fast and reliable method for the determination of nanoparticle effective surface charge density.

1. Introduction

Superparamagnetic iron oxide nanoparticles (NPs) with appropriate surface chemistry are widely used for numerous applications such as MRI contrast enhancement [1], tissue engineering [2], immunoassay [3], hyperthermia [4], drug delivery [5], and protein or cell separation [6, 7]. All of these biomedical applications require that these NPs have high magnetization values and a size smaller than 100 nm with narrow particle size distribution, so that particles have uniform physicochemical properties. Moreover, these applications also need tailored surface coating of the magnetic particles, which has to be not only non-toxic and biocompatible but also to allow a targetable delivery with particle localization in a specific area [8]. The magnetic properties of these NPs depend upon their physical structure: their size and shape, their microstructure, and the chemical phases in which they are present. As for their biological behavior, it depends, in addition to the preceding parameters, on their polydispersity, their charge and the nature of their coating. Several techniques are commonly used to determine these physicochemical parameters [9]. The size of the particle core can be determined by transmission electron microscopy (TEM) [10]. This technique gives access to a number mean value and provides details on particle size distribution and shape. It, however, requires an analysis by image treatment and it has to be performed on a statistically significant number of particles. In the case of magnetic particles, magnetization measurements can be used not only to determine the magnetic properties of particles, but also to get information on their size distribution. Thus, by fitting the experimental magnetization curve to Langevin function, particle number mean core radius and polydispersity can be estimated [10, 11]. Dynamic light scattering (DLS) allows determination of the diffusion coefficient of colloidal particles which in turn gives access to particle z-average hydrodynamic radius and polydispersity [12, 13]. Micro-electrophoresis and laser Doppler velocimetry (LDV) are applied for measuring electrophoretic mobilities which can be converted into Zeta (ζ) potentials applying the appropriate model (Henry, Hückel, Smoluchowski, ...) with respect to ζ -potential and ka values, where a can be assimilated to the particle core radius and κ is the reciprocal Debye length [14, 15].

Over the last two decades, there has been an effort to extend CE applications to nanoparticle characterization [16, 17] as it can provide information on both particle size distribution and surface charge density. Moreover, the selectivity of this separation method allows characterization of different particle populations (organic [18-25] and inorganic [26-

30]) in a mixture, as well as detection of impurities present in the dispersant medium [31]. To date, most studies focused on the characterization of particles bearing negative electrical charge, mainly on the basis of their size. Concerning ferrofluids, the work by Morneau et al. [31] has to be mentioned, that examined the electrophoretic behavior of one neutral dextran-iron oxide colloid, one cationic oxide colloid and four negatively charged ferrofluids according to the nature of the stabilizing group attached to the particle surface (lignin sulfonate, polystyrene sulfonate and alginate). Broad electrophoretic profiles, typical of colloidal particles, were reported and the effect of pH, ionic strength and applied voltage on particle electrophoretic mobility was studied. If few authors measured cationic mobilities in fused-silica capillaries for positively charged particles (either functionalized [32, 33] or not [31]) some others reported more experimental difficulties or unexpected phenomena [27, 34, 35]. The first attempt for the CE characterization of cationic colloids (amine-modified latex particles) was described by VanOrman and MacIntire [Erreur ! Signet non défini.] in 1994. Regardless to particle size, the positive particles all exhibited exactly the same, apparently negative mobility, which seems to indicate that particles adsorbed onto the inner wall of the fused-silica capillaries. These observations may explain why polyaniline particles were characterized as slightly negatively charged by Křivánková et al. [35] (-1 to $-2.5 \cdot 10^{-5} \text{ cm}^2 \cdot \text{V}^{-1} \cdot \text{s}^{-1}$) in contradiction to the expectations that these particles would bear a positive surface charge. In another study, Quang et al. [27] highlighted the unexpectedly large RSD values (larger than 100 %) on model parameters (limiting mobility μ_+ and dissociation constant K_+) characterizing positively charged metal iron particles that were estimated by fitting experimental mobility data (as a function of pH) to a two-site dissociation model. These experimental difficulties were overcome by a few authors [36-38], who proposed different capillary modification strategies in order to ensure reliable mobility measurements for these cationic particles. In these studies, size-dependent electrophoretic migrations were shown. To the best of our knowledge, the CE characterization and separation of cationic particle populations, homogeneous in size, but differing by the controlled density of ionizable surface functional groups have not been reported so far.

In this context, the charge-based separation of nanometric cationic bifunctional maghemite/silica core shell particles was studied. The inner wall of a silica capillary was modified so as to obtain a positive surface charge and thus allow the CE characterization of cationic particle populations. Eight amino/PEG-functionalized core/shell particle populations were synthesized, homogeneous in size, but differing by their surface charge density

according to the molar ratio between the two silane derivatization agents. The influence of experimental conditions, such as electric field strength, injected particle amount as well as electrolyte ionic strength and pH, on particle electrophoretic mobility and separation performances were evaluated. Eventually, the relationship between the particle electrophoretic mobility and the density of attached amino groups was investigated.

2. Materials and Methods

2.1. Chemicals and reagents

Iron (II) chloride tetrahydrate, iron (III) chloride (in aqueous solution, 27 % (w/w)), iron (III) nitrate, sodium chloride, orthophosphoric acid (85 % (w/w)), hydrochloric acid, nitric acid, ammonia, acetone, diethyl ether and standard 1 M and 0.1 M NaOH and HCl solution Normadoses were purchased from VWR (Strasbourg, France). Tetraethoxysilane (TEOS), 3-(aminopropyl)triethoxysilane (APTES), tris(hydroxymethyl)aminomethane (TRIS), 3-(N-morpholine)propanesulfonate (MOPS), didodecyldimethylammonium bromide (DDABr), citric acid, N,N-dimethylformamide, propylamine, and a Kaiser test kit composed of solutions of (i) phenol (~ 80 % in ethanol), (ii) KCN (in H₂O/pyridine) and (iii) ninhydrin (6 % in ethanol) were provided by Sigma-Aldrich (Saint-Quentin Fallavier, France). 2-[methoxy(polyethyleneoxy)propyl]-trimethoxysilane (PEOS), containing 3-6 ethylene oxide groups, was purchased from Gelest (Morrisville, PA, USA). Water used throughout was produced by a Direct-Q 3 system (Millipore, Molsheim, France).

Phosphate buffer was composed of 5.1 mM H₃PO₄ / 7.6 mM NaOH (I = 10 mM), pH 7.0. TRIS buffers of various ionic strength (1 to 100 mM) and pH values (7.0 to 8.2) were prepared by mixing with HCl. MOPS buffer was composed of 149.5 mM MOPS / 100 mM NaOH (I = 100 mM), pH 7.4. N,N-dimethylformamide was used as EOF marker at 0.05 % v/v in buffer solution.

2.2. Ferrofluid synthesis

Maghemite nanoparticles were prepared by co-precipitation of Fe²⁺ and Fe³⁺ ions under alkaline conditions as described by Massart [39]. Nanoparticles were then coated by

citrate anions and dispersed in water [40]. Small clusters of these maghemite NPs were encapsulated in silica shells. The silica shell was formed by condensation of TEOS and further functionalized by addition of a neutral and a cationic amino-based silane coupling agent (PEOS and APTES, respectively). By varying the APTES to PEOS molar ratios (from 0.25 to 1.75), particle surface charge density could be tuned [41]. The amount of PEOS was kept constant ($3.4 \cdot 10^{-4}$ mol), while the amount of APTES was varied (between $8.5 \cdot 10^{-5}$ and $6.0 \cdot 10^{-4}$ mol). After magnetic settling, particles were washed under stirring with a mixture of diethyl ether and ethanol (15:1) and then redispersed in the desired separation electrolyte for CE measurements. For the ninhydrine colorimetric test, the particle samples were ultrafiltered three times in a 100 mM MOPS buffer at pH 7.4 in order to eliminate all traces of ammonia (synthesis medium). Transmission electron microscopy (TEM) showed that core-shell particles had a number mean solid diameter $\langle D_N \rangle$ of 40 nm and contained an average of 4 maghemite NPs ($\langle D_N \rangle = 7$ nm, determined by magnetization measurements) per core. On this basis, the core-shell particle volume fraction in each sample could be derived from determination of sample iron content by flame atomic absorption spectrometry.

2.3. CE apparatus and measurements

Electrophoretic measurements were performed with a HP^{3D}CE capillary electrophoresis system (Agilent Technologies, Waldbronn, Germany). 50 μ m id x 35 cm fused-silica capillaries (detection length, 26.5 cm) from Polymicro Technologies (Phoenix, AZ, USA) were used. Hydrodynamic injections were performed at the capillary inlet. Successive injection zones were performed in the following order: neutral marker (20 mbar, 2 s), particle sample (50 mbar, 2 s, otherwise specified) and electrophoretic buffer (20 mbar, 2 s). The applied voltage was -10 kV unless otherwise specified. The temperature of the capillary cartridge was set at 25 °C. The detection wavelengths for EOF marker and particles were 200 and 254 nm, respectively. Prior to first use, bare fused-silica capillaries were activated by successive flushes with 1 M NaOH and 0.1 M NaOH for 15 min each and water for 5 min under 925 mbar. For DDABr modification [42], the capillary column was first activated as reported before. The initial capillary modification procedure consisted in a 5 min flush with a 0.1 mM DDABr solution in 10 mM HCl, followed by a 3 min flush with the electrophoretic buffer to move out the excess surfactant and equilibrate the capillary. Between each run, the capillary was rinsed with the DDABr solution for 2 min and with electrophoretic buffer for 1 min, always under the aforementioned pressure.

2.4. Ninhydrine colorimetric test protocol

This test is based on the reaction of ninhydrine with primary amino groups leading to the formation of a chromophore (Ruhemanns Blue) that is detached from the particle surface so that an intense blue color develops in the particle dispersion solution [43, 44]. Direct spectrophotometric quantitation of this chromophore allows determination of the total number of amino groups originating from particle surface, using propylamine as a standard for the determination of the extinction coefficient. The amino group density (equivalent/nm²) on derivatized core/shell particles can then be derived from known core/shell particle diameter and volume fraction in the titrated sample, determined as previously described. Typically, 100 μL of a dispersion of amino/PEG-functionalized core/shell particles ($[\text{Fe}] = 3 \times 10^{-3} \text{ mol.L}^{-1}$, sample iron content determined by flame atomic absorption spectrometry) were added to a mixture of 500 μL KCN (in H_2O /pyridine), 500 μL pyridine ($\sim 80\%$ in ethanol) and 200 μL EtOH (60 % v/v in water). The mixture was placed at 100°C for 3 min. 200 μL of a ninhydrine solution (6 % in ethanol) were then added and the mixture was placed at 100°C for 5 min. To avoid any light scattering effects due to particles in suspension, a final centrifugation (10 min) was added to the classical protocol so as to force the particles into settling down and to easily sample the supernatant. The spectroscopic titration of the released chromophore was performed on supernatant samples with a UVIKON XL UV-Visible spectrophotometer (SECOMAM, Alès, France) at 578 nm, using Suprasil quartz cuvettes (700 μL working volume, 10 mm pathlength). The blank sample consisted in PEG-functionalized core/shell particles dispersed in identical medium, at the same volume fraction.

2.5. Complementary particle characterizations: TEM, DLS, LDV

Transmission electron microscopy (TEM) was used for size and morphology characterization. TEM images were obtained using a JEOL 100CX2 microscope (JEOL Europe, Croissy sur Seine, France) operating at 65 keV. DLS and LDV measurements were performed with a Nano ZS Zetasizer (Malvern Instrument, Worcestershire, UK) to independently determine the particle size distributions and electrophoretic mobilities for comparison purposes (electrolyte and temperature conditions identical to those used for CE measurements).

3. Results and discussion

To date, cationic colloids have received only little attention, likely due to more experimental difficulties in CE separation. The main difficulty relies on particle adsorption to the inner wall of the bare fused-silica capillary. To prevent this adsorption and ensure reliable mobility measurements of these cationic magnetic particles, a dynamic modification protocol of the capillary was optimized in a previous study by our group [38]. This capillary treatment involved the double-chained cationic surfactant didodecyldimethylammonium bromide (DDABr), which is known to form a stable flat bilayer electrostatically adsorbed to the capillary wall [42]. This modification only requires short equilibration time and its semi-permanent feature allows to perform analyses in surfactant-free electrolytes, thus preventing any possible interaction with particles of interest. Furthermore, high-magnitude anodic EOF are generated so that cationic particles with high electrophoretic mobility can migrate counter-electroosmotically and be detected within a short time under a wide range of ionic strengths.

In view of employing magnetic NPs in the context of an immunodiagnostic, amino/PEG-functionalized core/shell particles were synthesized for further derivatization with an antibody or an antigen via the pending amino groups at their surface. For this purpose, a ferrofluid was first synthesized, consisting of maghemite ($\gamma\text{-Fe}_2\text{O}_3$) particles stabilized in an aqueous solution by adsorbed citrate anions to their surface. Such particles were further encapsulated in silica shells and the resulting maghemite/silica core/shell was functionalized with APTES and PEOS (Figure 1).



Figure 1: Reaction scheme of the synthesis of the nanometric bifunctional maghemite/silica core/shell particles

According to the APTES/PEOS molar ratio introduced during their synthesis (the amount of PEOS was kept constant while the amount of APTES was varied), up to eight particle populations were obtained, homogeneous in size and polydispersity, but *a priori* differing by their surface charge density (Table 1). The surface charge of the particles dispersed in a TRIS

or a MOPS buffer is ensured by the protonated primary amino groups at their surface and should therefore be positive in the pH range 7-8. LDV measurements indicated an increase in mobility when the APTES/PEOS ratio was increased, but with a levelling off for the highest values.

Core/shell population	General characteristics		Size (nm)*	Mobility** (10 ⁻⁵ cm ² .V ⁻¹ .s ⁻¹)
	APTES/PEOS	Dispersion medium		
NP1	0	Distilled water, pH adjusted to 7.0	79 (0.083)	-11.3
NP2	1	by addition of HNO ₃	93.3 (0.084)	10.5
NP3.1	0.25	106.6 mM TRIS + 100 mM HCl, (I=100 mM), pH 7.0	66 (0.072)	4.9
NP3.2	0.5		67.2 (0.088)	8.0
NP3.3	0.75		63.9 (0.086)	9.5
NP3.4	1		66.5 (0.069)	10.4
NP4.1	0.25	116.5 mM Tris + 100 mM HCl (I=100 mM), pH 7.4	78.4 (0.086)	2.5
NP4.2	0.35		71.5 (0.068)	4.5
NP4.3	0.5		71.5 (0.084)	6.9
NP4.4	0.75		68.6 (0.098)	7.9
NP4.5	1		78.9 (0.091)	9.3
NP4.6	1.25		73.4 (0.084)	10.2
NP4.7	1.5		74.4 (0.083)	11.2
NP4.8	1.75		74.8 (0.084)	10.2
NP5.1	0.25	150 mM MOPS + 100 mM NaOH (I=100 mM), pH 7.4	64.2 (0.065)	3
NP5.2	0.35		63.7 (0.101)	4.1
NP5.3	0.5		64.3 (0.064)	7.5
NP5.4	0.75		63.6 (0.084)	8.2
NP5.5	1		62.2 (0.1)	11.0
NP5.6	1.25		63.7 (0.077)	10.6
NP5.7	1.5		65.4 (0.072)	11.0
NP5.8	1.75		65.7 (0.084)	10.1

Table 1: Designation and characterization of the synthesized maghemite/silica core/shell particle populations

* z-average diameter (in nm) determined by DLS, figures in parenthesis are polydispersity indexes (PDI)

** Determined by laser Doppler velocymetry performed at 25 °C

For comparison purposes, a monofunctional core/shell particle population was synthesized, functionalized with PEOS only. Figure 2 presents the electropherograms of PEG-functionalized core/shell NPs (NP1) in a bare fused-silica capillary and of amino/PEG-functionalized NPs in a 1:1 APTES/PEOS ratio (NP2) in a DDABr-modified capillary. NP1 migrates as a negatively charged analyte (Fig. 2A), which indicates that residual silanol groups are still present on this material. When APTES is added to PEOS at a 1:1 molar ratio for particle functionalization, the global charge of NP2 is measured positive (Fig. 2B).

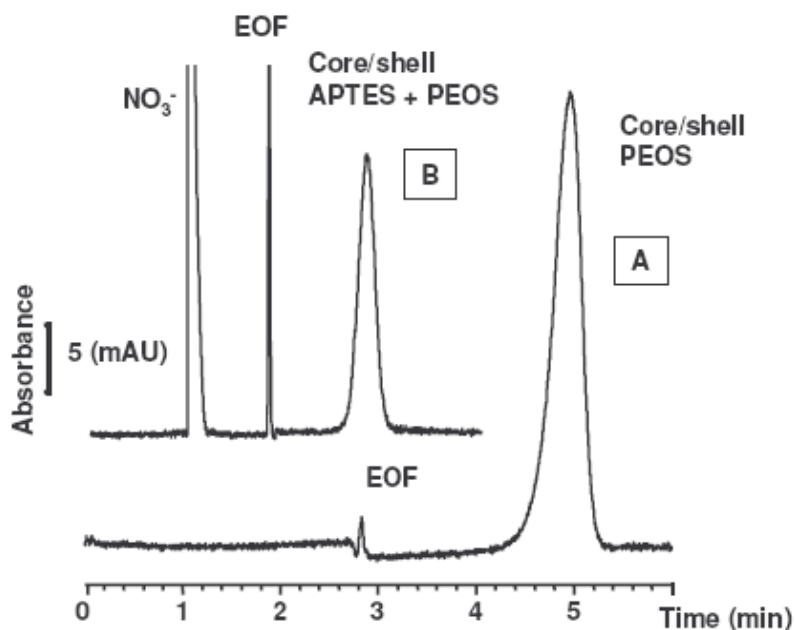


Figure 2: Electropherograms of the (A) PEG-functionalized core/shell particles (NP1) and (B) amino/PEG-functionalized core/shell particles (NP2, APTES/PEOS 1:1 molar ratio)
 50 μm id x 35 cm (detection length, 26.5 cm) (A) bare or (B) DDAB-modified fused-silica capillary. BGE: (A) 5.1 mM H_3PO_4 / 7.6 mM NaOH ($I = 10$ mM), pH 7.0 or (B) 10.7 mM Tris / 10 mM HCl ($I = 10$ mM), pH 7.0. Applied voltage: (A) 10 kV or (B) -10 kV. Hydrodynamic injection (30 mbar, 3 s), particle volume fraction 0.66 %. Absorbance detection at 200 nm. Temperature: 25 ° C.

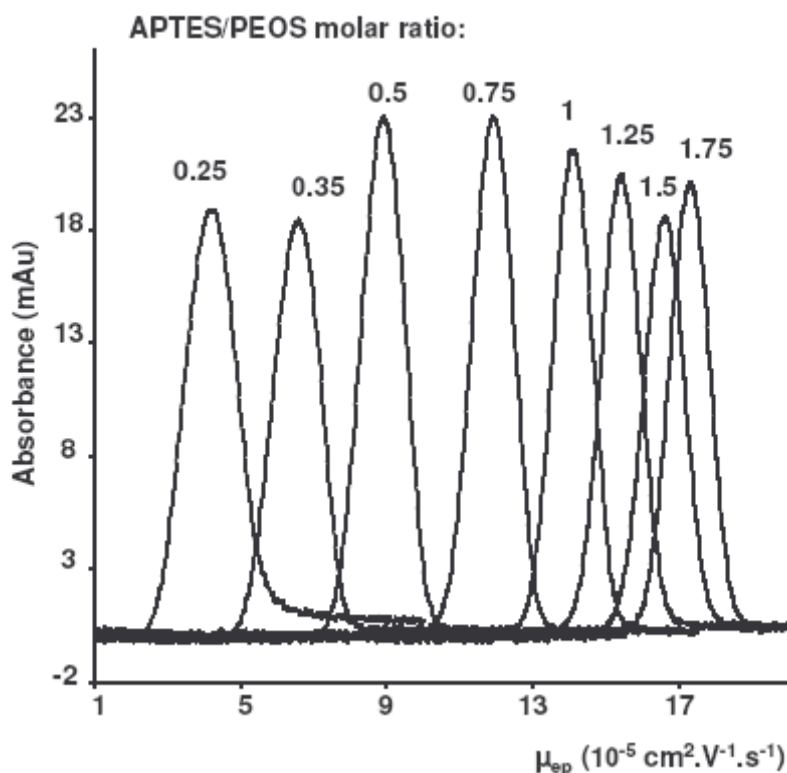


Figure 3: Influence of APTES/PEOS molar ratio on the electrophoretic mobility of 8 amino/PEG functionalized core/shell particle populations injected separately (mobility scaled electropherograms)
 50 μm id x 35 cm (detection length, 26.5 cm) DDAB-modified capillary. BGE: 150 mM MOPS/ 100 mM NaOH ($I = 100$ mM), pH 7.4. Applied voltage: -10 kV. Hydrodynamic injection (50 mbar, 5 s), particle volume is 0.26 %. Absorbance detection at 254 nm. Temperature: 25 ° C. Particle identification and characteristics: see Table 1 (NP5.1 to NP5.8 series) according to mentioned APTES/PEOS molar ratio.

The amino/PEG-functionalized NPs at different molar ratios (ranging from 0.25 to 1.75) were further characterized by first optimizing some experimental conditions, such as electric field strength, injected particle amount as well as electrolyte ionic strength and pH, with respect to particle electrophoretic mobility and separation performances. As an overview, figure 3 presents the electrophoretic behavior of 8 amino/PEG-functionalized NPs (NP5.1 to NP5.8) in 150 mM MOPS / 100 mM NaOH ($I = 100$ mM), pH 7.4, when injected separately. Indeed, in these conditions we experienced a monotonous increase in particle effective electrophoretic mobility, from $4.3 \cdot 10^{-5} \text{ cm}^2 \cdot \text{V}^{-1} \cdot \text{s}^{-1}$ (RSD = 1.5 %, $n = 4$) to $17.3 \cdot 10^{-5} \text{ cm}^2 \cdot \text{V}^{-1} \cdot \text{s}^{-1}$ (RSD = 1.1 %, $n = 4$), over an increasing APTES/PEOS molar ratio from 0.25 to 1.75.

3.1. Methodological development for charge-based separation

3.1.1. Influence of electric field strength

The separation of the mixture of 4 amino/PEG-functionalized core/shell particle populations corresponding to APTES/PEOS molar ratios ranging from 0.25 to 1 (NP3.1 to NP3.4) was performed in 106.6 mM TRIS / 100 mM HCl (100 mM ionic strength), pH 7.0, and the voltage was varied between -5 and -10 kV (i.e. the electric field value between 150 and $300 \text{ V} \cdot \text{cm}^{-1}$), -10 kV corresponding to the limiting voltage above which current values ($> 55.5 \text{ } \mu\text{A}$) are no more compatible with the thermoregulation capability of the CE instrumentation. When decreasing the separation voltage from -10 kV to -5 kV, particle mobility decreased by about 10 % and resolution did not vary significantly (< 5 % increase for pairs NP3.1/NP3.2 and NP3.2/NP3.4), whereas the analysis time increased more than twice. These variations can be attributed to the onset of Joule heating favored by the use of a high ionic strength electrolyte (100 mM). For further experiments, -10 kV was retained because of the much shorter analysis times.

3.1.2. Influence of injected particle amount

As expected, we evidenced that increasing injected volumes up to 5 nL did not markedly affect apparent peak efficiency but resulted in enhanced signal intensity. Conversely, injected volumes above 5 nL (corresponding to 0.73 % of the capillary volume) resulted in pronounced extra-column band broadening and resolution loss. Thus, a volume of 5 nL was retained as a compromise with respect to resolution and sensitivity.

Concerning the influence of the particle volume fraction in the injected sample, and so as to evidence potential interferences between different particle populations, separations of the mixture of 4 amino/PEG-functionalized core/shell particle populations (NP5.1, NP5.3, NP5.5 et NP5.7) were performed at two particle volume fractions differing by a factor of 4 (0.26 % and 1.04 %, respectively), and the electropherograms were compared with those obtained by injecting each particle population separately at the particle volume fraction of 0.26 % (Figure 4A and 4B). Thus, we evidenced that when the particle populations were injected as a mixture, in this volume fraction range, the less mobile particles were speeded up, as if they were dragged by the more mobile ones, as already reported in the literature concerning the mixture of different oxide particle populations [28]. Nevertheless, it is to be emphasized that dilution weakens these interferences which become almost negligible at a total particle volume fraction of 0.055 % (under these conditions, the limit of detection was estimated to ca $5 \cdot 10^{-3}$ %).

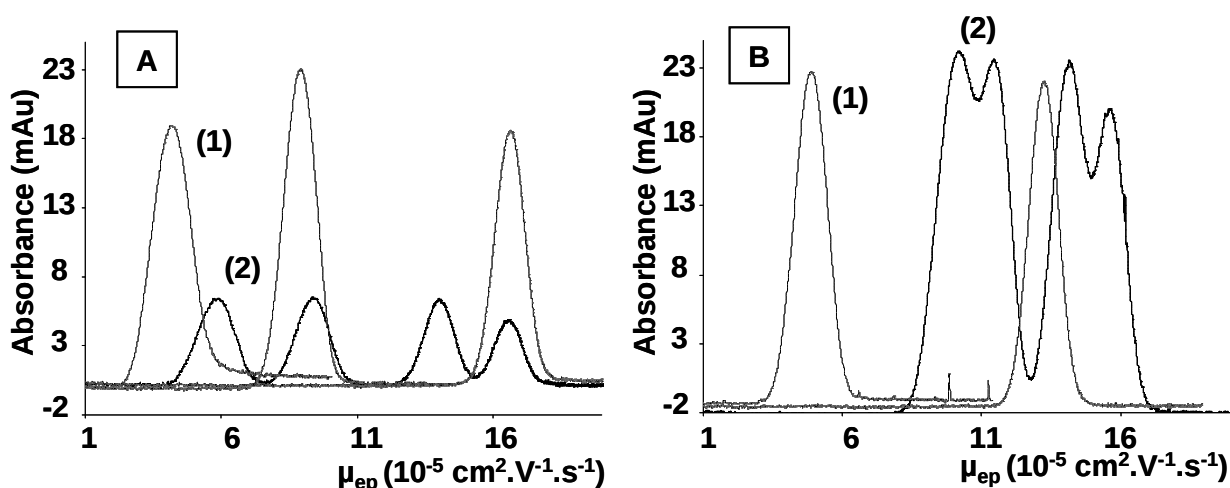


Figure 4: Influence of particle volume fraction on the electrophoretic separation of the mixture of 4 amino/PEG-functionalized core/shell particle populations (NP5.1, NP5.3, NP5.5 and NP5.7)

Experimental conditions: see Figure 3 except for particle volume fraction (A) 1) 0.26 % for each population injected separately and 2) 0.26 % (total volume fraction) in the mixture of 4 populations and (B) 1) 0.26 % for each population injected separately and 2) 1.04 % (total volume fraction) in the mixture of 4 populations.

3.1.3. Influence of BGE ionic strength

The separation of the mixture of 4 amino/PEG-functionalized core/shell particle populations (NP3.1 to NP3.4, Table 1), for which APTES/PEOS molar ratio ranged from 0.25 to 1, was performed in TRIS buffers, pH 7.0, at various ionic strengths (between 1 and 100 mM). A marked increase in resolution between all pairs of particle populations was

evidenced upon increasing electrolyte ionic strength, as shown in figure 5. Best analytical conditions will thus imply working under 100 mM ionic strength, as this otherwise does not prejudice particle stability.

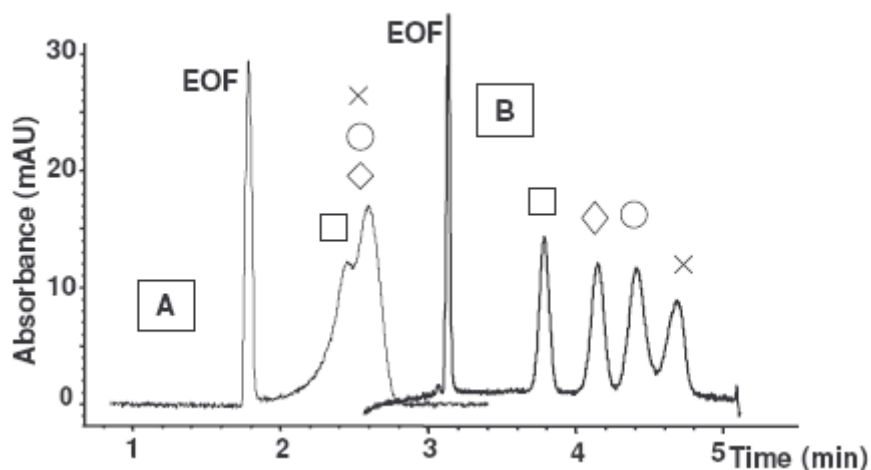


Figure 5: Influence of ionic strength on the electrophoretic separation of the mixture of 4 amino/PEG functionalized core/shell particle populations

50 μm id x 35 cm (detection length, 26.5 cm) DDAB-modified capillary. BGE: (A) 10,7 mM TRIS / 10 mM HCl ($I = 10$ mM), pH 7.0 and (B) 106.6 mM TRIS/ 100 mM HCl ($I = 100$ mM), pH 7.0. Hydrodynamic injection (20 mbar, 2 s), particle volume fraction, 0.33 % of each population. Applied voltage: -10 kV. Absorbance detection at 200 nm. Temperature: 25 °C.

Particle identification and characteristics: NP3.1 (open square), NP3.2 (open diamond), NP3.3 (open circle) and NP3.4 (cross) as defined in Table 1.

For further discussions, each particle population was characterized with respect to its effective electrophoretic mobility (μ_{ep}), calculated from migration time at peak apex, and electrophoretic dispersion, determined as peak width measured at half height ($\Delta\mu_{ep}$). The electrophoretic mobility was next converted into reduced mobility ($\bar{\mu}$), according to Equation (1), and plotted as a function of the κa product (Figure 6A), where κ is the reciprocal Debye length and a the particle radius (determined by DLS):

$$\bar{\mu} = \frac{2e\eta}{3\epsilon_0\epsilon_r k_B T} \mu_{ep} \quad \text{Eq. (1)}$$

where η , ϵ_0 , ϵ_r , k_B and T stand for BGE viscosity, dielectric vacuum permittivity, relative dielectric permittivity, Boltzman constant and temperature T .

It is to be mentioned that κ is directly related to electrolyte ionic strength, I , according to equation (2):

$$\kappa(\text{nm}^{-1}) \approx 3.288\sqrt{I(\text{mol.L}^{-1})} \quad \text{in water at 25 °C} \quad \text{Eq. (2)}$$

Superimposed in Figure 6A is the expected dependence of the reduced mobility on κa product for different values of ζ -potential (isopotential curves are represented in dashed)

obtained from interpolation of the exact numerical solutions to the transport equations proposed by Wiersema [45] (case of a rigid, non conducting sphere in a 1:1 electrolyte with the arbitrarily chosen dimensionless ionic drag coefficients $m_+ = m_- = 0.184$ at $T = 25^\circ\text{C}$). From these curves, we could estimate the ζ -potential variations undergone by the particles under the influence of the electrolyte ionic strength.

Over increasing electrolyte ionic strength (i.e. increasing κ values), the effective electrophoretic mobility of the core/shell particle populations decreased to an extent that is independent on particle charge density, which is reminiscent of retention variations in ion exchange chromatography for analytes having functionalized groups of identical valency. In other words, the difference in mobilities between two particle populations was roughly kept constant, over the whole range of ionic strength studied, as can be seen in Figure 6A (dotted lines and directional arrows are guides for the eyes). As the particle populations were homogeneous in size, the selectivity of the separation should only be governed by the particle charge. Consequently, an increase in effective selectivities (defined as the ratio of the effective mobilities [46]) from 18 to 29 %, considering each pair of particle populations, was evidenced upon increasing ionic strength, from 1 to 100 mM, this trend being more pronounced for the particle populations having the lower charge density.

Obviously, peak widths at half height ($\Delta\mu_{ep}$) were also influenced by electrolyte ionic strength, and a sharp decrease in peak width (from 90 to 96 %) was experienced over increasing ionic strength values from 1 to 100 mM, as shown in figure 6B. According to previous observations, this variation in particle mobility dispersion cannot be attributed to particle sample heterogeneity in charge, as related contribution to the electrophoretic dispersion would keep constant while varying the electrolyte ionic strength. Neither can it be due to a reversed stacking effect as long as the same variations in peak dispersion were observed when the particle dispersion medium was the separation electrolyte itself, thus ensuring electrical conductivity continuity (results not shown). However, we can assume that this variation results from particle sample heterogeneity in size, as related contribution to the electrophoretic dispersion can be tuned by varying the electrolyte ionic strength, due to retardation forces described in the Overbeek-Booth theory [47, 48]. Indeed, for a given particle population, assuming a uniform surface charge density of these particles at a fixed electrolyte ionic strength (i.e. fixed κ), the expected particle mobility dispersion related to particle size heterogeneity should be derived from the slopes of the isopotential curves represented in Figure 6A. Thus, and consistently with our experimental observations, it

appears that mobility measurements (and hence mobility dispersions) would be less sensitive to particle size dispersion at the highest electrolyte ionic strength and lowest surface charge density, which both contribute to lower zeta potential values. Eventually, a levelling in particle electrophoretic dispersion could be expected over further increases in ionic strength. In this case, the residual constant particle electrophoretic dispersion would reveal the intrinsic particle sample heterogeneity in charge.

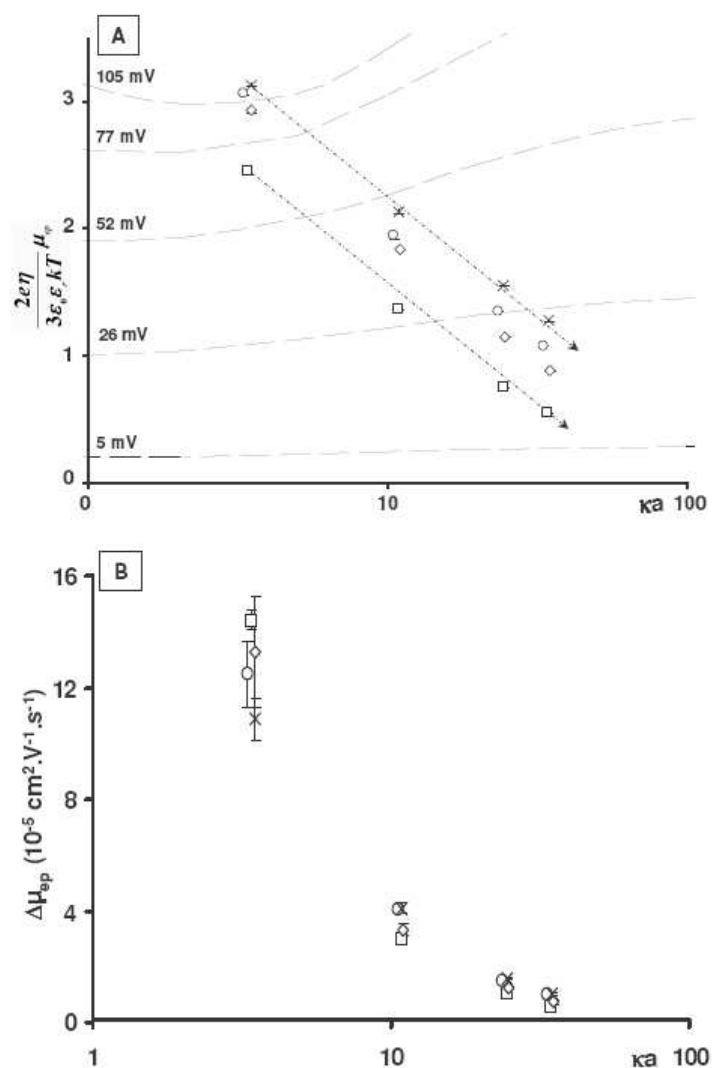


Figure 6: Influence of ionic strength on (A) the reduced mobility and (B) the electrophoretic dispersion at half peak height ($\Delta\mu_{ep}$) of amino/PEG-functionalized core/shell particle populations (NP3.1 to NP3.4)

Experimental conditions and particle identification: see Figure 5, except for BGEs: 106.6 mM TRIS / 100 mM HCl, pH 7.0, ($I = 100$ mM), or diluted twice ($I = 50$ mM), or diluted 10 times ($I = 10$ mM), or diluted 100 times ($I = 1$ mM).

Each experimental point is the mean of 3 replicates and the error bars (not always visible) stand for $\pm$ one standard deviation

Superimposed on figure (A) is the expected dependence of the electrophoretic mobility on κa product for different values of ζ -potential (isopotentials are materialized in dashed lines) obtained from interpolation of the exact numerical solutions of the transport equations proposed by Wiersema (case of a rigid, non conducting sphere in a hypothetical 1:1 electrolyte with the arbitrarily chosen dimensionless ionic drag coefficients $m_+ = m_- = 0.184$ at $T = 25^\circ\text{C}$)

Dotted lines joining experimental points and directional arrows are just a guide for the eyes

3.1.4. Influence of BGE pH

A preliminary study was performed in a 2 to 9 pH range, for the NP2 particle population (APTES/PEOS molar ratio 1:1), with BGEs of various composition but constant ionic strength (10 mM). The positive electrophoretic mobility exhibited by the particles remained rather constant in the pH range from 2 to 4, and then gradually decreased with a graphical extrapolation (see below for the model) leading to a zero μ_{ep} for pH 11.

A deeper study was then performed on 8 amino/PEG-functionalized core/shell particle populations (NP4.1 to NP4.8) of varying surface charge density (APTES/PEOS molar ratio ranging from 0.25 to 1.75). As we aimed to highlight the influence of BGE pH on particle electrophoretic mobility, parameters such as co-ion nature, counter ion nature and concentration as well as the overall electrolyte ionic strength were kept constant. Thus, the range of pH explored (from 7 to 8.2) was restricted at its lower limit by the buffering capacity of a TRIS / HCl electrolyte with 100 mM ionic strength and at its higher limit by the dissolution of the particle silica shell. A general decrease in particle electrophoretic mobility (from 26 to 92 % according to populations) was evidenced over increasing BGE pH from 7 to 8.2 as can be seen in Figure 7. Considering populations of uniform particle size in electrolytes of fixed ionic strength (i.e. κa product constant), the variation of their electrophoretic mobility μ_{ep} in terms of pH should only be attributed to concomitant variations of their surface charge density at the shear plane due to variations of ionization degree of their amino groups introduced by APTES derivatization and residual silanol groups.

A two-site dissociation model was tested so as to fit the electrophoretic mobility data of Figure 7 as a function of pH. This model relies on the assumption that: (1) the number of total ionizable functions, n_T (i.e. the sum of the number of amino and residual silanol groups, n_{amino} and $n_{silanol}$, respectively), remains constant; (2) each of these two functions has a single pKa value, pK_a^{amine} and pK_a^{silica} , respectively. For each function, the number of charged groups $n(-NH_3^+)$ and $n(-O^-)$, for ionized amino groups and ionized silanol groups, respectively, can be expressed as :

$$n(-NH_3^+) = \frac{n_{amino}}{1 + 10^{pH - pK_a^{amine}}} \quad \text{Eq. (3)}$$

$$n(-O^-) = \frac{n_{silanol}}{1 + 10^{pK_a^{silica} - pH}} \quad \text{Eq. (4)}$$

The derivatized NPs effective mobility can then be written as follows:

$$\mu_{eff} = \alpha \frac{1}{1 + 10^{pH - pK_a^{amine}}} \mu_{(-NH_3^+)} + (1 - \alpha) \frac{1}{1 + 10^{pK_a^{silica} - pH}} \mu_{(-O^-)} \quad \text{Eq. (5)}$$

where α stands for the derivatization rate of initial silanol into amino groups ($n(-NH_3^+)$ to n_T ratio) and $\mu_{(-NH_3^+)}$ and $\mu_{(-O^-)}$ stand for the limiting electrophoretic mobilities of NPs containing only amino or silanol groups, respectively.

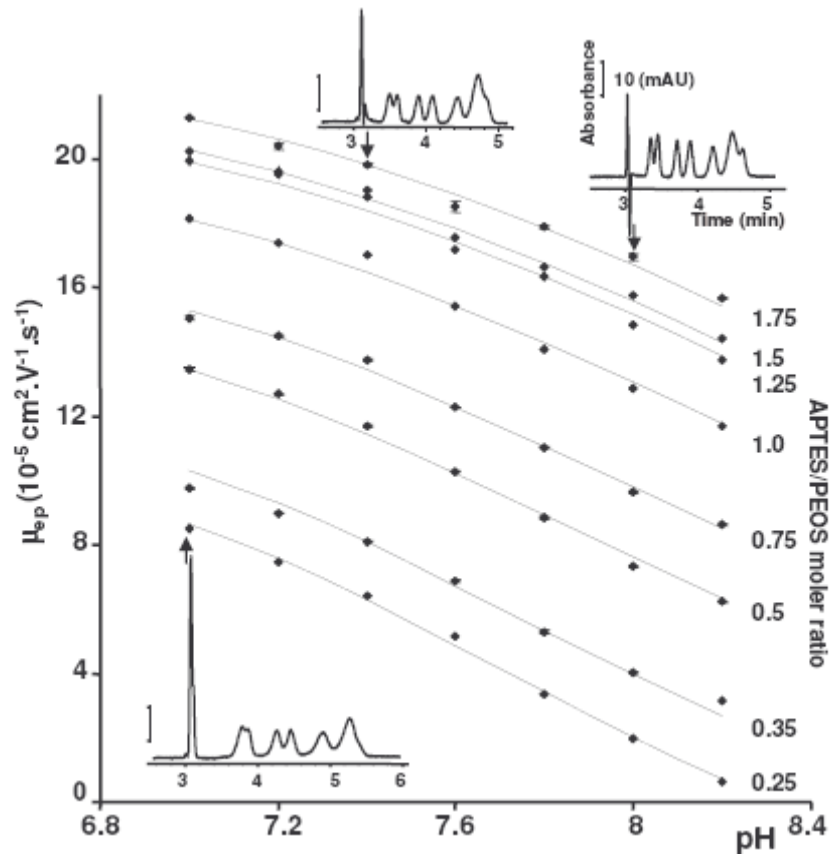


Figure 7: Influence of BGE pH on the electrophoretic mobility of 8 amino/PEG-functionalized core/shell particle populations (NP4.1 to NP4.8)

Experimental conditions: see Figure 3, except for hydrodynamic injection (50 mbar, 2 s), particle volume fraction (0.055 %) and BGEs (all of 100 mM ionic strength): 106.6 mM TRIS/ 100 mM HCl, pH 7.0; 110.4 mM TRIS / 100 mM HCl, pH 7.2; 116.5 mM TRIS / 100 mM HCl, pH 7.4; 126.2 mM TRIS / 100 mM HCl, pH 7.6; 141.6 mM TRIS / 100 mM HCl, pH 7.8; 165.9 mM TRIS / 100 mM HCl, pH 8.0; 204.4 mM TRIS / 100 mM HCl, pH 8.2.

Each experimental point is the mean for 3 replicates and the error bars (not always visible) stand for $\pm$ one standard deviation.

Inserted electropherograms show the separation of the mixture of 8 amino/PEG-functionalized core/shell particle populations, total particle volume fraction 0.055 x 8 %, for pH 7.0, 7.4 and 8.0.

Dotted lines represent the plot of the two-site dissociation model proposed for description of mobility variations.

A curve fitting procedure was employed consisting in minimizing the mean quadratic deviation (defined as the average value of the squares of the deviations between experimental and calculated mobilities) for the 8 mobility curves, by concurrent adjustment of variable

parameters $\mu_{(-O^-)}$, $\mu_{(-NH_3^+)}$, $pK_a^{a \min e}$, pK_a^{silica} and α , using Excel solver. The adjusted parameter values giving rise to optimal fitting are given in Table 2. Under these conditions, estimated $\mu_{(-O^-)}$ and $\mu_{(-NH_3^+)}$ values were $-16.6 \cdot 10^{-5}$ and $35.5 \cdot 10^{-5} \text{ cm}^2 \cdot \text{V}^{-1} \cdot \text{s}^{-1}$, respectively. The $\mu_{(-O^-)}$ should correspond to the electrophoretic mobility of NP1 at high pH (full dissociation of silanol groups). For comparison purposes, the electrophoretic mobility of this population was measured equal to $-23.8 \cdot 10^{-5} \text{ cm}^2 \cdot \text{V}^{-1} \cdot \text{s}^{-1}$ in an electrolyte composed of 5.1 mM H_3PO_4 / 7.6 mM NaOH, 10 mM ionic strength (pH 6.9) at 25°C. In spite of the neutral pH conditions, this value is higher than the estimated $\mu_{(-O^-)}$ value which is consistent with a measurement performed at much lower electrolyte ionic strength. On the other hand, the estimated $\mu_{(-NH_3^+)}$ value is consistent with the fact that it should be higher than the experimental values for the particle population corresponding to the highest APTES/PEOS ratio (NP 4.8) namely $21.2 \cdot 10^{-5} \text{ cm}^2 \cdot \text{V}^{-1} \cdot \text{s}^{-1}$ in an electrolyte composed of 106,6 mM TRIS / 100 mM HCl (100 mM ionic strength), pH 7.0. Concurrently, estimated $pK_a^{a \min e}$ and pK_a^{silica} values were 9.1 and 7.5, respectively, which is in fair accordance with the current pKa values for amino functions, but higher than expected as far as surface silanol groups are concerned (around 6 [49, 50]). Nevertheless, the presence of neighbor amino groups might shift acido-basic properties of silanol functions. As for the increase of the estimated α values when the APTES/PEOS ratio increases, it is consistent with an increasing amount of amino groups attached on the NPs.

APTES/PEOS molar ratio	Amino group density* (eq.nm ⁻²)	α^{**}	$\mu_{(-O^-)}^{**}$ (10 ⁻⁵ cm ² .V ⁻¹ .s ⁻¹)	$\mu_{(-NH_3^+)}^{**}$ (10 ⁻⁵ cm ² .V ⁻¹ .s ⁻¹)	$pK_a^{silica}^{**}$	$pK_a^{a \min e}^{**}$
0.25	0.31 (54)	0.32	-16.6	35.5	7.5	9.1
0.35	0.28 (34)	0.36				
0.5	0.48 (24)	0.44				
0.75	0.64 (21)	0.49				
1	0.85 (11)	0.56				
1.25	1.25 (10)	0.61				
1.5	1.35 (10)	0.62				
1.75	1.13 (27)	0.64				

Table 2: Model parameters $\mu_{(-O^-)}$, $\mu_{(-NH_3^+)}$, $pK_a^{a \min e}$, pK_a^{silica} and α estimated by fitting experimental mobility data (as a function of pH) for amino/PEG functionalized particle populations (APTES/PEOS ratio ranging from 0.25 to 1.75) to a two-site dissociation model (all mean quadratic deviations between experimental and calculated mobilities $\leq 0.045 \text{ cm}^4 \cdot \text{V}^{-2} \cdot \text{s}^{-2}$ and average value of theses mean quadratic deviations equal to $0.023 \text{ cm}^4 \cdot \text{V}^{-2} \cdot \text{s}^{-2}$).

* As determined by ninhydrine colorimetric test, figures in parenthesis are RSD % (n = 3)

** Operating CE conditions: see Figure 7

Considering the influence of pH in the range of from 7.0 to 8.0 on the separation of a mixture of the 8 amino/PEG-functionalized core/shell particle populations, a strong increase in resolution (of about 50 %) was observed from as can be seen from the inserted electropherograms in Figure 7. For the sake of an example, (1) the effective selectivity for the particle population pair NP4.3 / NP4.4 increased linearly by about 12 % on going from pH 7.0 to pH 8.0; (2) peak efficiency remained constant from pH 7.0 to pH 7.6, and then doubled from pH 7.6 to 8.0. It has to be noticed that, around pH 7.0, the three particle populations NP4.6, NP4.7 and NP4.8 comigrated, resulting in a single asymmetric peak, and around pH 8.0, started to separate, resulting in two partially resolved peaks. Eventually, we noticed a decreasing resolution for pH values higher than 8.0. From the exact numerical solutions of Eq. 5 for arbitrarily chosen pH values, and using previously determined parameters $\mu_{(-O^-)}$, $\mu_{(-NH_3^+)}$, pK_a^{amino} , pK_a^{silica} , we evidenced that maximum mobility difference between two particle populations of different surface charge densities should be reached for pH 8.1 (whatever the α values). This could partially explain the maximum in resolution determined around pH 8.0.

3.2. Quantitation of the effective number of attached amino groups on particle surface

So as to quantify the effective number of amino groups attached to particle surface, a ninhydrine colorimetric test protocol derived from Kaiser's original description [43] was performed on particle samples. Particle dispersion in a TRIS buffer was not compatible with this colorimetric test protocol, as it contains primary amines and would thus induce a background signal. In this context, synthesized core/shell particles were dispersed in a MOPS buffer (100 mM ionic strength), pH 7.4. Under these conditions, figure 8A shows the absorbance responses to the ninhydrine colorimetric test obtained for 8 amino/PEG-functionalized core/shell particle populations (NP5.1 to NP5.8). An increase in the absorbance response over increasing the APTES/PEOS molar ratio reveals an increasing number of titrated amino groups originating from particle surface. However, high relative standard deviation values were obtained for this measurements (RSD up to 54 %), as can be seen from the error bars on Figure 8A. This can be explained by the inherent experimental difficulties linked to the ninhydrine colorimetric test protocol that is the sampling of small volumes of viscous reagent solutions and a chemical reaction whose the yield of which may be affected by many experimental factors such as the heating time or even the bath

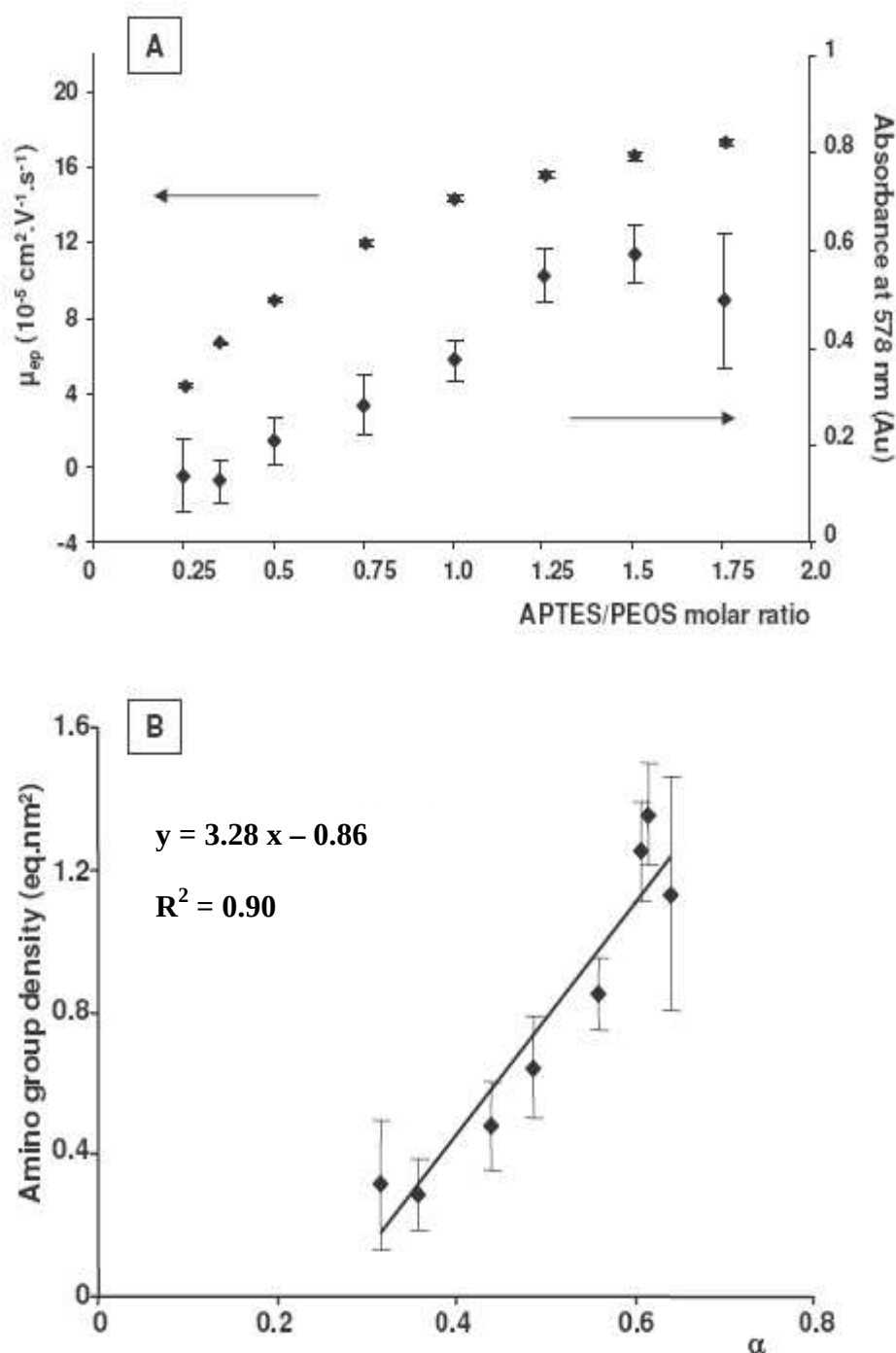


Figure 8A: Influence of APTES/PEOS molar ratio on electrophoretic mobility and absorbance measured at 578 nm as a response to the ninhydrine colorimetric test for 8 amino/PEG-functionalized core/shell particle populations (NP5.1 to NP5.8)

Experimental CE conditions: see Figure 3

Experimental conditions for the ninhydrine colorimetric test: see experimental part

Each experimental point is the mean of 4 and 3 replicates for mobility and absorbance measurements, respectively, and the error bars stand for $\pm$ one standard deviation.

Figure 8B: Plot of the calculated amino group density on derivatized core/shell particles (calculated from the ninhydrine colorimetric test data) in terms of the derivatization rate of initial silanol into amino groups α (values from Table 2)

Experimental conditions: see Figure 8.A

temperature, but also by the unusual biphasic system. Thus, differences in absorbance levels appeared to be insignificant for the three higher APTES/PEOS molar ratios. It is to be mentioned that no lack of reactant can be blamed for as ninhydrine was introduced in large excess. Amino group densities (equivalent/nm²) on derivatized core/shell particles derived from the absorbance responses to the ninhydrine colorimetric test are given in Table 2. Concerning CE experiments, a monotonous increase in mobility was evidenced over increasing the APTES/PEOS molar ratio (Figure 8A), which is consistent with the increasing amount of amino groups determined by the ninhydrin colorimetric test. Moreover, it is worth noting that much lower RSD values ($\leq 1.5\%$) were obtained on mobility than on absorbance measurements. It is also to be noted that a levelling off in mobility values occurs at the higher APTES/PEOS molar ratios, consistently with the one observed for absorbance measurements. This tendency can be explained by a saturation of the particle surface by the amino groups, due to a decrease in reactivity of the silane reagent at the highest concentration. In addition to this, on analogy with the behavior of polyelectrolytes [51, 52], possible concomitant charge condensation effects may occur. In effect, for the three highest APTES/PEOS molar ratios, the mean distance between charges can be estimated to 0.9 nm (using data of Table 2), which is close to the value of Bjerrum length for water at 25 °C, 0.7 nm. Figure 8B shows the correlation between particle amino group charge densities derived from ninhydrine colorimetric test and derivatization rates of silanol into amino groups, α , estimated previously from the two-site dissociation model (Table 2). A fairly linear relationship was observed between both parameters ($R^2 = 0.90$), which indicates that the two-site dissociation model proposed can provide a good approximation. However, the y-intercept different from zero indicates either an underestimation of the amino group density by the ninhydrine colorimetric test or an overestimation of α values. This may arise from: (1) an overestimation of the effective extinction coefficient for the colored product of the reaction between the ninhydrine and the amino groups attached to particle surface, when assimilated to the one of propylamine; (2) a retention of the anionic blue chromophore of the ninhydrine reaction to the particles bearing cationic groups [44]; (3) an approximation in considering NP1 as a blank sample; (4) an increase in the number of total ionizable sites, n_T , of the silica shell upon increasing APTES/PEOS molar ratio at constant PEOS concentration, due to a competitive effect between the two silanes. At this stage, the present results are nevertheless in favor of a direct, although relative, determination of the particle surface charge density, employing electrophoretic mobility measurements.

4. Concluding remarks

Capillary electrophoresis has proved to be an effective method for the charge-based characterization of nanometric cationic bifunctional maghemite/silica core/shell NPs. A charge-dependent electrophoretic mobility was demonstrated and best resolutions were obtained at pH 8,0, high ionic strength (ca 100 mM) and low total particle volume fraction (c.a. 0.055%), for which negligible interference effects were highlighted between different particle populations in mixtures. A ninhydrine colorimetric test protocol was performed to determine the amino group density on the surface of bifunctional maghemite/silica core/shell NPs. Thereafter, a correlation between this amino group density and the derivatization rate of silanol into amino groups derived from electrophoretic mobility measurements was demonstrated. In conclusion, capillary electrophoresis appears as an easy, fast and reliable method for determination of nanoparticle effective surface charge densities. In view of the development of an immunodiagnostic, the characterization of these bifunctional particles will further allow the selection of the appropriate batches for subsequent coating with an antibody or an antigen.

Acknowledgments:

The authors thank the Agence Nationale pour la Recherche (ANR, France), for financial support of project SOLUDIAG. They also would like to thank Dr Jérôme Vial (Laboratoire Environnement et Chimie Analytique, UMR 7121 CNRS-ESPCI, Paris, France) for fruitful discussions.

5. References

- [1] Zhao, M., Beauregard, D.A., Loizou, L., Davletov, B., et al., *Nat. Med.* 2001, 7, 1241-1244
- [2] Ito, A., Hayashida, M., Honda, H., Hata, K., et al., *Tissue Eng.* 2004, 10, 873-880
- [3] Shinkai, M., Wang, J., Kamihira, M., Iwata, M., et al., *J. Ferment. Bioeng.* 1992, 73, 166-168
- [4] Wada, S., Tazawa, K., Furuta, I., Nagae, H., *Oral Dis.* 2003, 9, 218-223
- [5] Gallo, J.M., Varkonyi, P., Hassan, E.E., Groothuis, D.R., *J. Pharmacokinet. Biopharm.* 1993, 21, 575-592
- [6] Safarik, I., Safarokova, M., *Biomagn. Res. Technol.*, 2004, 2, 7-34.
- [7] Olsvik, O., Popovic, T., Skjerve, E., Cudjoe, K.S., et al., *Clin. Microbiol. Rev.* 1994, 7, 43-54
- [8] Gupta, A.K., Gupta, M., *Biomaterials* 2005, 26, 3995-4021
- [9] Laurent, S., Forge, D., Port, M., Roch, A., et al., *Chem Rev.* 2008, 108, 2064-2110
- [10] Woodward, R.C., Heeris, J., St. Pierre, T.G., Saunders, M., et al., *J. Appl. Cryst.* 2007, 40, 495-500
- [11] Kim, D.K., Zhang, Y., Voit, W., Rao, K.V., et al., *Magn. Magn. Mater* 2001, 225, 30
- [12] Holoubek, J., *Journal of quantitative spectroscopy & radiative transfer* 2007, 106, 104-121
- [13] De Jaeger, N., Demeye, H., Findy, R., Sneyer, R., et al., *Part. Part. Syst. Charact.* 1991, 8, 179
- [14] Di Marco, M., Guilbert, I., Port, M., Robic, C. et al., *International Journal of Pharmaceutics* 2007, 331, 197-203
- [15] Hunter, R.J., *Foundations of Colloid Science* 2nd Edition, Oxford University Press, New York 2001

- [16] Radko, S.P., Chrambach, A., *Electrophoresis* 2002, 23, 1957-1972.
- [17] Rodriguez, M.A., Armstrong, D.W., *J. Chromatogr. B* 2004, 800, 7-25
- [18] VanOrman, B.B., McIntire, G.L., *J. Microcol. Sep.* 1989, 1, 289-293
- [19] Jones, H.K., Ballou, N.E., *Anal. Chem.* 1990, 62, 2484-2490
- [20] Petersen, S.L., Ballou, N.E., *Anal. Chem.* 1992, 64, 1676-1681
- [21] Fourest, B., Hakem, N., Perrone, J., Guillaumont, R., *J. Radioanal. Nucl. Chem.* 1996, 208, 309-318
- [22] Radko, S.P., Stastna, M., Chrambach, A., *Electrophoresis* 2000, 21, 3585-3592
- [23] Vanifatova, N.G., Spivakov, B.Y., Mattusch, J., Wennrich, R., *J. Chromatogr. A* 2000, 898, 257-263
- [24] Vanhoenacker, G., Goris, L., Sandra, P., *Electrophoresis* 2001, 22, 290-2494
- [25] Stokes, J.C., Johnson, M.E., *Microchem J.* 2004, 76, 121-129
- [26] Mc Cormick, R.M., *J. Liq. Chromatogr.* 1991, 14, 939-952
- [27] Quang, C., Petersen, S.L., Ducatte, G.R., Ballou, N. E., *J. Chromatogr. A* 1996, 732, 377-384
- [28] Ducatte, G.R., Ballou, N.E., Quang, C., Petersen, S.L., *J. Microcol. Sep.* 1996, 8, 403-412
- [29] Petersen, S.L., Ballou, N.E., *J. Chromatogr. A* 1999, 834, 445-452
- [30] Vanifatova, N.G., Spivakov, B.Y., Mattusch, J., Wennrich, R., *Talanta* 2003, 59, 345-353
- [31] Morneau, A., Pillai, V., Shalini, N., Winnik, F.M., Ziolo, R.F., *Colloids Surf.* 1999, 154, 295-301
- [32] Wang, F.-H., Yoshitake, T., Kim, D.-K., Muhammed, M., et al., *J. Nanopart. Res.*, 2003, 5, 137-146
- [33] Templeton, A.C., Cliffel, D.E., Murray, R.W., *J. Am. Chem. Soc.* 1999, 121, 7081-7089

- [34] VanOrman Huff, B., McIntire, G., *J. Microcol. Sep.* 1994, 6, 591-594
- [35] Křivánková, L., Pantůčková, P., Boček, P., *Electrophoresis* 2000, 21, 627-632
- [36] Wei, G.-T., Wang, C.-R.C., Liu, F.-K., Chang, S.-S., *J. Chin. Chem. Soc.* 1998, 45, 47-52
- [37] Okamoto, Y., Kitagawa, F., Otsuka, K., *Electrophoresis* 2006, 27, 1031-1040
- [38] d'Orlyé, F., Varenne, A., Gareil, P., *Electrophoresis* 2008, 29, 3768-3778
- [39] Massart, R., *IEEE Trans. Magn.* 1981, 17, 1247-1248
- [40] Fauconnier, N. , Pons, J.N., Roger, J., Bee, A., *J. Colloid Interface Sci.* 1997, 194, 427-433
- [41] Maurice, V., Georgelin, T., Siaugue, J. M., Cabuil, V., *J. Magn. Magn. Mat.* 2009 (accepted for publication)
- [42] Melanson, J.E., Baryla, N.E., Lucy, C.A., *Anal. Chem.* 2000, 72, 4110-4114
- [43] Kaiser, E., Colescott, R.L., Bossinger, C.D., Cook, P.I., *Anal. Biochem.* 1970, 34, 595-598
- [44] Sarin, V.K., Kent, S.B.H., Tam, J.P., Merrified, R.B., *Anal. Biochem.* 1981, 117, 147-157
- [45] Wiersema, P.H., Loeb, A., Overbeek, J.Th.G., *J. Colloid Interface Sci.* 1966, 22, 78-99
- [46] Lelièvre, F., Gareil, P., Jardy, A. *Anal. Chem.* 1997, 69, 385-392
- [47] Overbeek, J. Th. G., *Kolloide Beihefte* 1943, 54, 287-364
- [48] Booth, F., *Proc. Roy. Soc. Lond. Ser. A* 1950, 203, 514-533
- [49] Schwer, C., Kenndler, E. *Anal. Chem.* 1991, 63, 1801-1807
- [50] Sánchez Muñoz, O. L., Hernández, E. P., Lämmerhofer, M., Lindner, W., Kenndler, E., *Electrophoresis* 2003, 24, 390-398
- [51] Manning, G.S., *J. Chem. Phys.* 1981, 85, 1506-1515

[52] Cottet, H., Gareil, P., Theodoly, O., Williams, C.E., *Electrophoresis*, 2000, 21, 3529-3540

III.3. Conclusion

L'électrophorèse capillaire est apparue comme une méthode performante pour la caractérisation en charge de NPs cationiques bifonctionnalisées. Une mobilité électrophorétique dépendant de la charge a été mise en évidence et les meilleures résolutions ont été obtenues dans des électrolytes de pH proches de 8 et de forces ioniques élevées (environ 100 mM) pour des mélanges de population de particules de fraction volumique totale égale à 0,055 % (v/v), teneur en solide pour laquelle les effets d'interférences entre particules deviennent quasi négligeables. Le protocole de dosage colorimétrique des fonctions amines par la ninhydrine, initialement décrit par Kaiser [11], a été adapté au cas d'un système biphasique, pour le dosage des groupements amines greffés à la surface des particules coeur/coquille maghémite/silice. Une bonne corrélation a été montrée entre les résultats du test colorimétrique et le taux de greffage estimé par électrophorèse capillaire suivant un modèle à deux pK_a . Actuellement, l'erreur importante qui subsiste sur la mesure colorimétrique ($10 \% < RSD < 54 \%$) ne permet pas de rendre quantitative la détermination du taux de greffage par simple mesure des mobilités électrophorétiques. Néanmoins, la précision de la mesure des mobilités électrophorétiques ($RSD < 1,5 \%$) en fait une méthode simple, rapide et précise, pour une détermination relative du taux de fonctionnalisation des nanoparticules. En vue du développement d'un immunodiagnostic, cette étude devrait donc permettre la sélection des populations de particules appropriées pour un greffage ultérieur avec un anticorps ou un antigène.

III.4. Références bibliographiques

- [1] Zhao, M., Beauregard, D.A., Loizou, L., Davletov, B., et al., *Nat. Med.* 2001, **7**, 1241-1244
- [2] Ito, A., Hayashida, M., Honda, H., Hata, K., et al., *Tissue Eng.* 2004, **10**, 873-880
- [3] Shinkai, M., Wang, J., Kamihira, M., Iwata, M., et al., *J. Ferment. Bioeng.* 1992, **73**, 166-168
- [4] Wada, S., Tazawa, K., Furuta, I., Nagae, H., *Oral Dis.* 2003, **9**, 218-223
- [5] Gallo, J.M., Varkonyi, P., Hassan, E.E., Groothuis, D.R., *J. Pharmacokinet. Biopharm.* 1993, **21**, 575-592
- [6] Safarik, I., Safarokova, M., *Biomagn. Res. Technol.*, 2004, **2**, 7-34.
- [7] Olsvik, O., Popovic, T., Skjerve, E., Cudjoe, K.S., et al., *Clin. Microbiol. Rev.* 1994, **7**, 43-54
- [8] Gupta, A.K., Gupta, M., *Biomaterials* 2005, **26**, 3995-4021
- [9] Radko, S.P., Chrambach, A., *Electrophoresis* 2002, **23**, 1957-1972.
- [10] Rodriguez, M.A., Armstrong, D.W., *J. Chromatogr. B* 2004, **800**, 7-25
- [11] Kaiser, E., Colescott, R.L., Bossinger, C.D., Cook, P.I., *Anal. Biochem.* 1970, **34**, 595-598

Symboles et abréviations

Chapitre IV. Développement d'un nouveau protocole de mesure mettant en jeu l'électrophorèse capillaire pour la détermination du coefficient de diffusion collectif de nanoparticules

a : rayon d'une particule sphérique, m

BGE : électrolyte de séparation

C : concentration, mol.L⁻¹

CE: électrophorèse capillaire, mol.L⁻¹

$\overline{C}_0$: concentration du front, mol.L⁻¹

$\overline{C}$: concentration moyenne sur une section transverse de capillaire

d : diamètre solide d'une particule sphérique, m

$\ln d_0$: valeur moyenne de $\ln d$, paramètre de la loi de distribution en taille de type log-normale

$d_{\max}$: diamètre solide modal, m

$\langle d_N \rangle$: diamètre solide moyen en nombre, m

D : coefficient de diffusion, m².s⁻¹

D_0 : coefficient de diffusion à dilution infinie, m².s⁻¹

D_c : coefficient de diffusion collectif, m².s⁻¹

D_s : coefficient de d'auto-diffusion, m².s⁻¹

DDABr: bromure de didodécyltriméthylammonium

DLS: diffusion dynamique de la lumière

I : force ionique de la solution électrolytique, mol.L⁻¹

k : coefficient de dispersion, m².s⁻¹

k_B : constante de Boltzmann, J.K⁻¹

L_C : longueur totale du capillaire, m

L_D : longueur utile du capillaire (de l'entrée du capillaire à la fenêtre de détection), m

M : masse de solute dans une zone d'injection, g

$P(d)$: loi de distribution en taille

Pe : nombre de Péclet

ΔP : surpression imposée en entrée du capillaire, Pa

r : coordonnée radiale, m

R_C : rayon du capillaire, m

t : temps, s

t_R : temps de rétention (de l'entrée du capillaire à la fenêtre de détection), s

T : température absolue, K

TDA: analyse de la dispersion de Taylor

u : vitesse du fluide en écoulement laminaire, $m.s^{-1}$

x : coordonnée axiale, m

Symboles grecs

η : viscosité du milieu, Pa.s

κ : inverse de la longueur Debye, m^{-1}

σ_0 : écart-type, paramètre de la loi de distribution en taille de type log-normale

σ^2 : variance temporelle du profil d'élution, min^2

Φ : fraction volumique en particule, % (v/v)

λ : coefficient d'interaction interparticulaire

τ : temps de rétention réduit

Chapitre IV. Développement d'un nouveau protocole de mesure mettant en jeu l'appareillage d'électrophorèse capillaire pour la détermination du coefficient de diffusion collectif de nanoparticules

IV.1. Introduction

La connaissance des coefficients de diffusion représente un grand intérêt pratique car c'est un paramètre clé pour nombre de procédés impliquant des colloïdes, tels que la sédimentation, la filtration sur membrane ou encore certaines applications biochimiques [1, 2]. Elle permet également d'accéder de manière absolue à la détermination des rayons hydrodynamiques. Considérant une population de particules monodisperse, la diffusion d'une particule est influencée par la présence de ses voisines. Ainsi, il faut distinguer le coefficient d'auto-diffusion D_s , d'une part, qui décrit la trajectoire fluctuante d'une particule unique parmi d'autres, et le coefficient de diffusion collectif D_c , d'autre part, aussi appelé coefficient de diffusion mutuelle, qui décrit la relaxation d'un gradient de concentration et apparaît dans la loi de diffusion de Fick. Si D_s et D_c coïncident à dilution infinie (D_0), ils diffèrent dans le cas de suspensions plus concentrées où ils sont affectés tous deux par les interactions interparticulaires : interactions hydrodynamiques transmises par le solvant et interactions colloïdales directes [3, 4].

D'un point de vue expérimental, la diffusion dynamique de la lumière (DLS) est la méthode la plus couramment employée pour déterminer les valeurs de D_c . L'idée d'étudier la dispersion d'une zone d'échantillon au sein d'un écoulement laminaire comme technique alternative pour la détermination des coefficients de diffusion de molécules a été présentée il y a de nombreuses années dans un article de G. Taylor [5]. Cette méthode a été employée pour la détermination des coefficients de diffusion d'analytes en phases gazeuse [6] ou liquide [7-9], purs [7, 8] ou dans des mélanges binaires [6, 9]. Elle a également été appliquée pour la caractérisation en taille d'objets tels que des clusters de NPs de platine recouverts de tensioactifs [10] ou des clusters de NPs d'or recouverts de thiols [11]. Plus récemment, l'instrumentation d'électrophorèse capillaire s'est montrée particulièrement adaptée à la mise en œuvre des mesures de coefficients de diffusion par l'analyse de la dispersion de Taylor (TDA), car elle offre toutes les fonctions d'injection, de détection et d'acquisition des données en un unique appareillage automatisé [12-17].

En vue d'utiliser des particules magnétiques colloïdales fonctionnalisées par des antigènes dans le contexte d'un microsystème dédié à l'immunodiagnostic en phase liquide, la connaissance du coefficient de diffusion collectif des particules nous est apparue un paramètre clé. En effet, contrairement au test ELISA où l'un des partenaires de l'interaction immunologique est immobilisé sur la surface interne des puits de la plaque de microtitrage, cette approche expérimentale tend à mimer les interactions *in vivo* en rendant partiellement ses degrés de liberté à l'espèce immobilisée à la surface des particules colloïdale. De plus, pour un système miniaturisé, les mécanismes d'interaction et de séparation qui seront mis en jeu dans le cadre de l'immunodiagnostic seront en partie contrôlés par les phénomènes de diffusion.

Dans un premier temps, nous nous sommes attachés à évaluer l'influence des différents paramètres instrumentaux (dimensions du capillaire, pression imposée) sur l'analyse de la dispersion de Taylor, lors de sa mise en œuvre à l'aide d'un appareil d'électrophorèse capillaire. La détermination des coefficients de diffusion collectifs moyens de populations de particules de maghémite, homogènes de par leur nature et leur charge de surface (cationique), mais dont les diamètres moyens (< 10 nm) diffèrent d'environ 2 nm, a ensuite été étudiée. A titre de comparaison, une détermination indépendante des coefficients de diffusion des particules a été réalisée par DLS. Enfin, l'influence de la fraction volumique en particules solides ainsi que celle de la force ionique de la solution de dispersion sur les mesures des coefficients de diffusion collectifs a été mise en évidence et les résultats discutés en termes d'interactions inter-particulaires.

IV.2. Article 3: Determination of nanoparticle diffusion coefficients by Taylor dispersion analysis using a capillary electrophoresis instrument

Fanny d'Orlyé, Anne Varenne, Pierre Gareil*

J. Chromatogr. A **1204** (2008) 226-232

Laboratory of Electrochemistry and Analytical Chemistry (LECA), UMR 7575 CNRS-ENSCP-Paris6

Keywords:

ferrofluids, brownian particles, collective diffusion coefficient, Stokes radius, particle interactions

Abstract

The collective diffusion coefficient D_C of diluted suspensions of positively charged iron oxide maghemite particles was experimentally investigated using a capillary electrophoresis instrument on the grounds of Taylor dispersion theory. Conditions for this approach to be applicable to nanoparticles of mean solid diameter below 10 nm were set in this work, enabling precisions on D_C determination of less than 2 % RSD. Significantly different D_C values were thus measured for particle populations differing in solid number mean diameter by only 2 nm. The obtained values were compared to the z-average diffusion coefficient derived from dynamic light scattering (DLS) experiments and used for the calculation of the Stokes radius. The measured diffusion coefficients appeared to be dependent on particle volume fraction and electrolyte ionic strength. These observations were eventually discussed in terms of particle interactions.

1. Introduction

The knowledge of diffusion coefficients is of great practical relevance because it is a key parameter in a large number of processes involving colloids, such as sedimentation, membrane filtration and a number of biochemical applications [1,2]. When considering a population of monodisperse particles, the diffusive motion of one particle is influenced by the presence of its neighbors. Indeed, one should distinguish between the self-diffusion coefficient D_S on the one hand, which describes the fluctuating trajectory of a tracer particle among others and is obtained by a time average of the position correlation function, and the collective diffusion coefficient D_C , also termed gradient or mutual diffusion coefficient, on the other hand, which describes the relaxation of a concentration gradient, and appears in Fick's law of diffusion. D_S and D_C coincide at infinite dilution (D_0) but differ for more concentrated suspensions where they both depend on interparticle interactions: hydrodynamic interactions mediated by the solvent and direct colloidal interactions [3,4].

From an experimental point of view, dynamic light scattering (DLS) has become the most popular technique to determine D_C values. The idea of using the dispersion of a solute plug in a laminar Poiseuille flow as an alternative technique to determine diffusion coefficients of solute molecules was presented long time ago in Taylor's classic paper [5]. This method is attractive as it offers a possibility for a fast evaluation of diffusion coefficients and thus estimation of the effective dimensions of the particles in a given solution (the Stokes radius). This method was used to determine diffusion coefficients of analytes in gaseous [6] or liquid phase [7-9], either pure [7,8] or in binary mixtures [6,9]. Taylor dispersion analysis (TDA) was also applied for the size characterization of nanoparticles such as surfactant-protected platinum clusters [10] or thiolate-protected gold clusters [11]. More recently, capillary electrophoresis (CE) instrument was shown to be particularly well suited for performing TDA as it offers all the functions of injection, detection and data acquisition in a single automated apparatus [12-17]. Bello et al. [12] first demonstrated the very high reproducibility of the technique and reported relative differences between experimental and tabulated diffusion coefficient values of less than 2 % for both small ions and proteins, in the absence of solute-wall interaction. For the case of polydisperse polymers, Cottet et al. [16] emphasized the influence of the detection mode (molar concentration vs mass concentration-sensitive) on averaging diffusion coefficients and particle sizes. Moreover a separation step can be considered prior to TDA, allowing size

characterization of the different compounds constituting a mixture [17]. Besides classical corrections for the width of the injection sample zone and the detector aperture [18], Sharma et al. [14] introduced the need to account for unsteady-state flow that occurs during injection and pumping of solute pulses or fronts through the capillary when using a CE instrument. Eventually, Belongia and Baygents [13] extended the technique to the measurement of diffusion coefficients of colloidal particles ranging in size from 0.19 μm to 0.83 μm (hydrophilic and hydrophobic polystyrene latex particles and hydrophobic polymethyl methacrylate particles, as well as Tobacco mosaic virus). Diffusion coefficients obtained using the CE instrumentation were compared to those determined by DLS. Good agreement was found with relative deviations of less than 5 % in the absence of capillary wall interaction or size effect motions. Moreover, guidelines on data reliability were established, indicating situations for which abovementioned error factors could be neglected.

In this context, this work aimed to assess the TDA method to determine the mean collective diffusion coefficients (and mean hydrodynamic radii) of maghemite ($\gamma\text{-Fe}_2\text{O}_3$) nanoparticle populations having a mean solid diameter much smaller than those previously studied, i.e. in the range of 6-10 nm. Methodological choices and corrections for experimental departures from ideality were discussed and obtained results were compared to those derived from DLS measurements. The influence on measured collective diffusion coefficients of particle volume fraction and of ionic strength of the medium suspension was highlighted and the results were discussed in terms of interactions between particles.

2. Theoretical background

It is well known that the velocity of a fluid flowing through a cylindrical tube under a steady-state laminar flow varies over the tube cross-section according to a parabolic function of the radius, reaching its maximum at the tube axis and approaching zero at the tube wall. Solute particles introduced into the flow move with the fluid along the tube axis with different velocities corresponding to their positions in the tube cross section, but molecular diffusion redistributes them over both the cross-section and the tube axis. The coupling of the non-uniformity of the fluid velocity to molecular diffusion leads to a specific mechanism of dispersion called “Taylor dispersion” [12], resulting in the local concentration C of a solute being a function of axial position x , radial position r and time t , according to

$$\frac{\partial C}{\partial t} + 2u \left(1 - \frac{r^2}{R_c^2} \right) \frac{\partial C}{\partial x} = D \left(\frac{\partial^2 C}{\partial x^2} + \frac{1}{r} \frac{\partial}{\partial r} r \frac{\partial C}{\partial r} \right) \quad (1)$$

where u is the mean fluid velocity (measured as the length of the capillary from inlet to detector L_D divided by the time required to reach the detector, t_R), R_c is the tube radius and D is the diffusion coefficient.

Assuming diffusion along the axis of the tube to be negligible, analytical solutions of equation 1 for front and pulse concentration profiles are given by equations 2 and 3, respectively [14]:

$$\frac{\bar{C}}{\bar{C}_0} = \frac{1}{2} \pm \frac{1}{2} \operatorname{erf} \left[\frac{(t - t_R)}{\sigma \sqrt{2}} \right] \quad (2)$$

$$\bar{C} = \frac{M}{2\pi^{3/2} R_c^2 \sqrt{kt}} \exp \left[-\frac{(t - t_R)^2}{2\sigma^2} \right] \quad (3)$$

where $\bar{C}$ is the mean solute concentration across the cross section of the tube monitored as a function of time at a fixed position along the tube axis, k is the dispersion coefficient, M is the mass of solute particles in the pulse, $\bar{C}_0$ is the concentration of the front, t_R is the mean residence time (the time it takes to the solute moving with the mean velocity of the fluid u to reach the detector located at a distance L_D from the inlet of the tube), and σ^2 is the temporal variance of the elution profile related to the dispersion coefficient by [14]

$$\sigma^2 = 2 \frac{kt_R}{u^2} \quad (4)$$

Extending Taylor's theory, Aris [19] gave the following analytical expression for the dispersion coefficient:

$$k = D + \frac{R_c^2 u^2}{48D} \quad (5)$$

Thus the diffusion coefficient can be directly determined from t_R and σ^2 by solving equation 5 for D , t_R and σ^2 being obtained either by fitting experimental profiles [13,14] to equations 2 and 3 or, in the case of a solute pulse, by calculating the first and second moments of the elution peak [12,15], respectively.

Conditions for equation 5 to be valid can be expressed in terms of two dimensionless parameters [14]: (i) the dimensionless residence time, $\tau = \frac{Dt_R}{R_c^2}$, which is the ratio of the mean solute residence time to the time required for a solute to diffuse a distance equal to the radius

of the capillary; and (ii) Peclet number, $Pe = \frac{uR_c}{D}$, which describes the relative rates of mass transfer along the axis of the capillary due to convection and diffusion.

Thus equation 5 is valid when [20] (i) τ is greater than the time necessary for a radial concentration non-uniformity to reduce its amplitude by a factor of e ($\frac{L_D}{u} \gg \frac{2R_c^2}{3.8^2 D}$, i.e. $\tau \gg 0.14$) and could be reduced to its second term when (ii) axial diffusion is negligible compared to convection ($\frac{R_c^2 u^2}{48D} \gg D$, i.e. $Pe \gg \sqrt{48} \sim 6.9$). When these so called Taylor's conditions are satisfied, then the diffusion coefficient of the solute can be determined using equation 6:

$$D = \frac{R_c^2}{24\sigma^2} t_r \quad (6)$$

In this work, a 10:1 ratio was considered for Taylor's conditions to be fully satisfied, i.e. $\tau > 1.4$ and $Pe > 69$.

3. Materials and methods

3.1. Chemicals and reagents

Iron (II) chloride tetrahydrate, iron (III) chloride solution (27 % (w/w) in aqueous solution), iron (III) nitrate, hydrochloric acid, ammonia, nitric acid, sodium chloride, acetone, diethyl ether and standard 1 M and 0.1 M HCl solution Normadoses were purchased from VWR (Strasbourg, France). Didodecyldimethylammonium bromide (DDABr) and ethylene glycol were provided by Aldrich (Saint-Quentin Fallavier, France). N,N-dimethylformamide was from Fluka (Saint-Quentin Fallavier, France). Water used throughout was produced by a Direct-Q 3 system (Millipore, Molsheim, France).

3.2. Ferrofluid synthesis

A cationic ferrofluid consisting of maghemite particles ($\gamma\text{-Fe}_2\text{O}_3$) dispersed in an aqueous solution of nitric acid ($\text{pH} \leq 2$) was first synthesized according to the procedure described by Massart [21]. The resulting suspension is polydisperse and size distribution ($P(d)$, d being the particle solid diameter) is usually assumed to be well described by a log-normal law [22].

$$P(d) = \frac{1}{\sqrt{2\pi}\sigma_0 d} \exp\left[-\frac{1}{2\sigma_0^2} \left(\ln \frac{d}{d_0}\right)^2\right] \quad (7)$$

$\ln d_0$ being the mean value of $\ln d$ and σ_0 the standard deviation. A size sorting procedure [22] allowed isolation of three particle sub-populations with different size characteristics and reduced polydispersity (Table 1). After magnetic settling, particles were successively washed under stirring with deionized water, acetone and diethyl ether and then resuspended in HNO_3 . Magnetic measurements were performed using a home-made vibrating magnetometer as described in [24]. Analysis of the magnetization curves led to the parameters $\ln d_0$ and σ_0 of the different size distributions from known volume fraction Φ of magnetic particles, and provided information on the stability of the suspensions [25]. Φ was previously deduced from sample iron content determined by flame atomic absorption spectrometry. According to the needs for the subsequently reported experiments, the volume fraction of magnetic particles was adjusted by dilution in 10 mM HCl between 10^{-1} and 10^{-3} %.

Particle sample	d_0 (nm)	σ_0	Particle volume fraction Φ (%)	Modal solid diameter* $d_{\max}$ (nm)	Number mean solid diameter** $\langle d_N \rangle$ (nm)	Size distribution standard deviation*** $\sigma (\langle d_N \rangle)$ (nm)
Coarse sample	7.8	0.34	1.8	6.9	8.3	2.9
Subpopulation 1	6.6	0.25	0.7	6.2	6.8	1.7
Subpopulation 2	8.6	0.25	3.4	8.1	8.9	2.3
Subpopulation 3	9.9	0.37	4.0	8.6	10.6	4.1

Table 1. Characteristics of studied particle populations obtained from analysis of magnetization curves

* $d_0 e^{-\sigma_0^2}$ [23]

** $d_0 e^{\frac{\sigma_0^2}{2}}$ [23]

*** $d_0 \sqrt{e^{\sigma_0^2} (e^{\sigma_0^2} - 1)}$ [23]

3.3. TDA measurements

Measurements were performed with a HP^{3D}CE capillary electrophoresis system (Agilent Technologies, Waldbronn, Germany). 50 μm id x 35, 60 or 100 cm fused-silica capillaries (detection length, 8.5 cm from the outlet end of the capillary) from Polymicro Technologies (Phoenix, AZ, USA) were used. Prior to first use, bare fused-silica capillaries were activated by successive flushes with 1 M NaOH and 0.1 M NaOH for 15 min each and water for 5 min under 925 mbar. DDABr-coated capillaries were used for measurements with cationic ferrofluids [26]. This coating has turned out to be the best to prevent wall adsorption

of the maghemite particles. The initial modification procedure [27] consisted in a 5 min flush with a 0.1 mM DDABr solution in 10 mM HCl, followed by a 3 min flush with the background electrolyte (BGE), consisting of 10 mM HCl, to remove the excess surfactant and equilibrate the capillary. Between each run, capillaries were rinsed first with water for 1 min, next with the DDABr solution for 2 min and finally with the BGE for 1 min, always under the aforementioned pressure. For the experiments with concentration fronts, the inlet end of the capillary was transferred into the vial containing the particle suspension, and a pressure drop across the capillary was applied (values ranging from 20 to 50 mbar). For the experiments with pulses, plugs of colloidal particles were injected hydrodynamically into the capillary (applied pressure of 50 mbar for 5s). The temperature of the capillary cartridge was set at 25 °C. The particles were detected by UV absorbance at 254 nm, so that the associated nitrate ions from the initial dispersion medium should not absorb.

3.4. Calibration of pressure delivery system and capillary radius

The calibration of both the pressure delivery system and capillary radius ($\Delta P \cdot R_c^2$ term) was realized with a solution of ethylene glycol ($\eta = 16.1 \cdot 10^{-3}$ Pa.s at 25 °C). The capillary was first filled with the ethylene glycol solution by flushing the capillary for 10 min. Then a short plug of a flow marker (formamide, 0.05 % (v/v) in ethylene glycol) was hydrodynamically injected (50 mbar, 5s) and displaced by flushing ethylene glycol through the capillary under 50 mbar until reaching detection window. Using Hagen-Poiseuille law,

$$R_c^2 \Delta P = 8 \frac{L_d L_c \eta}{t_R} \quad (8)$$

the $\Delta P \cdot R_c^2$ product was determined from the measured detection time t_R of the marker, L_c being the total length of the capillary. Each calculated value was the mean from 5 replicates (RSD < 1 %).

3.5. DLS measurements

DLS measurements were performed with a Nano ZS Zetasizer (Malvern Instrument, Worcestershire, UK) to independently determine the collective diffusion coefficients of the particles in suspension.

4. Results and discussion

4.1. Methodological approach

The determination of diffusion coefficients and size characteristics of various analytes by TDA using a CE instrument has been mainly based previously on the study of the dispersion of analyte plugs [12-17], but the analysis of dispersion fronts has also been reported [14]. A reason behind could be that, if the sample has a higher viscosity than the solvent, the continuous injection of the sample could change the average viscosity in the capillary and thus complicate the TDA based on fronts. In our case, viscosity measurements according to a protocol previously described [28] were carried out for the whole range of particle volume fractions considered. The ferrofluid viscosity increased by less than 5 % on going from 10^{-3} to 10^{-1} % in Φ values. Nevertheless, no significant variation in t_R could be correlated to it. Indeed, random variations in t_R within an interval of 2 % were observed, which may be solely due to fluctuating pressure or temperature (capillary end and carousel not thermostated). UV absorbance signals recorded during Taylor dispersion experiments with a maghemite particle population are shown in Figure 1A for an analyte front and Figure 1B for an analyte pulse. Experimental concentration profiles are very well fitted to equations 2 and 3 (superimposed open squares), respectively. The value for the diffusion coefficient D was calculated from adjusted parameters t_R and σ^2 using equation 6. For the case of an analyte pulse, t_R and σ^2 were also obtained by the calculation of the first and second moments of the elution peak, respectively. The resulting diffusion coefficient values were reported in Figure 2 for different particle volume fractions. At this stage, values of t_R and σ^2 obtained from pulses were only corrected for the finite width of the injected plug. The corrections pertaining to the finite width of the detector window were found negligible (less than 0.2 %). On comparing both curve fitting and curve integration methods, the latter leads to lower D values with higher standard deviations, as indicated by displayed error bars. It is worth noting that the calculation of D is highly dependent on σ^2 determination and therefore on the evaluation of the integration limits, which were set manually. Thus a slight overestimation of the peak area would explain the systematic relative difference in observed D values by 5 to 8 % with regard to results obtained by fitting the elution peaks to equation 3. Moreover, the higher relative standard deviations (RSD) observed and their random magnitudes over the various measurements prove that this method is rather sensitive to the stability of baseline. In comparison, systematically lower RSD values (< 1.5 %) were obtained from replicates of

diffusion constant measurements by fitting elution peaks, which shows that this second method tends to smooth the effect of baseline noise. D values obtained from TDA performed on pulse or front concentration profiles with the curve fitting method show good agreement but still a systematic relative difference of 2 to 4%. A slightly lower RSD is also observed for diffusion coefficients determined from replicates of front elution profiles, possibly in part as this latter approach involved less pressure step changes. Thus for subsequent work, we decided to perform TDA from front concentration profiles.

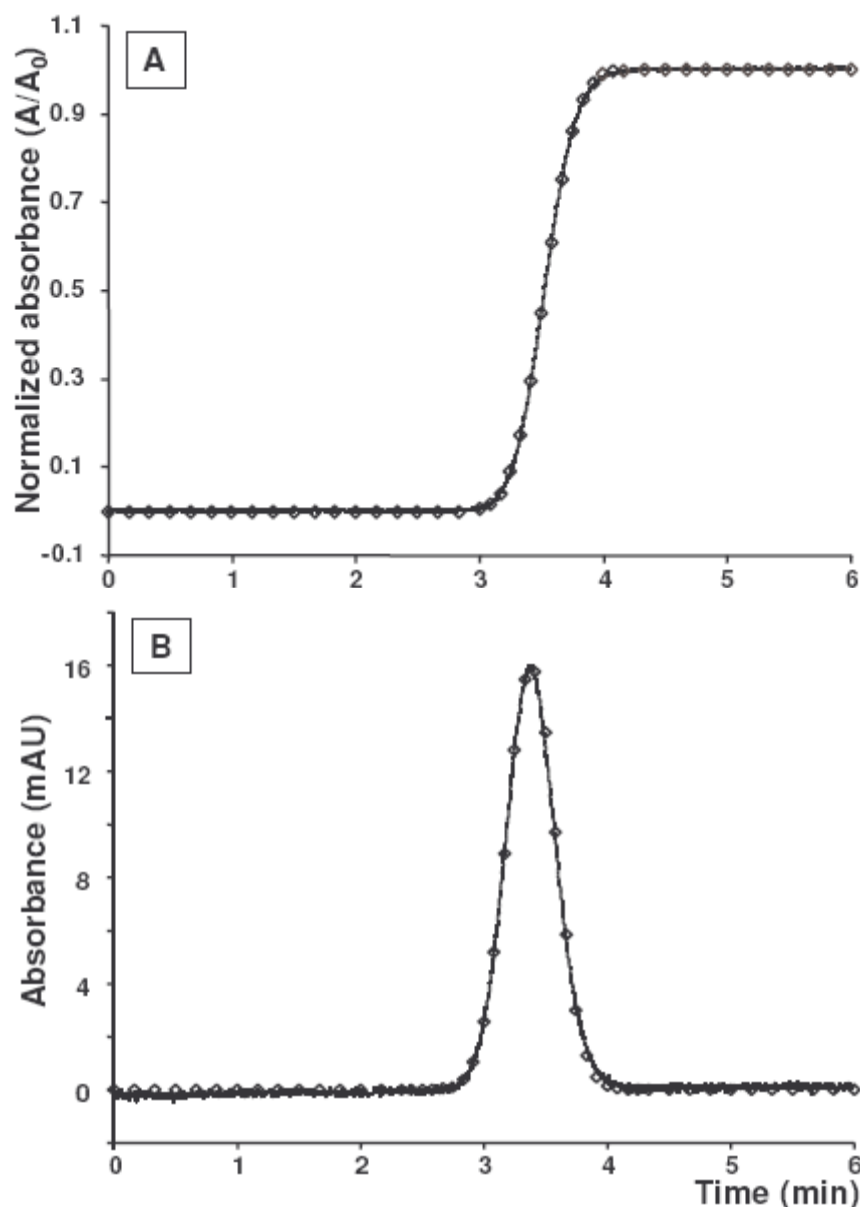


Figure 1. Experimental concentration profiles (solid lines) recorded during Taylor dispersion experiments with a maghemite particle population ($\langle d_N \rangle = 8.9$ nm) for A/ an analyte front and B/ an analyte pulse, fitted to equations 2 and 3 (superimposed open diamonds), respectively

Experimental conditions: DDABr-coated capillary, 50 μm id x 35 cm. BGE: 10 mM HCl, pH 2.0. Particle size-sorted population: $\langle d_N \rangle = 8.9$ nm. Volume fraction Φ adjusted to 10^{-4} by dilution in BGE. Hydrodynamic injection (B): 50 mbar, 5s. Mobilizing pressure: 50 mbar. UV detection: 254 nm. Temperature: 25 ° C.

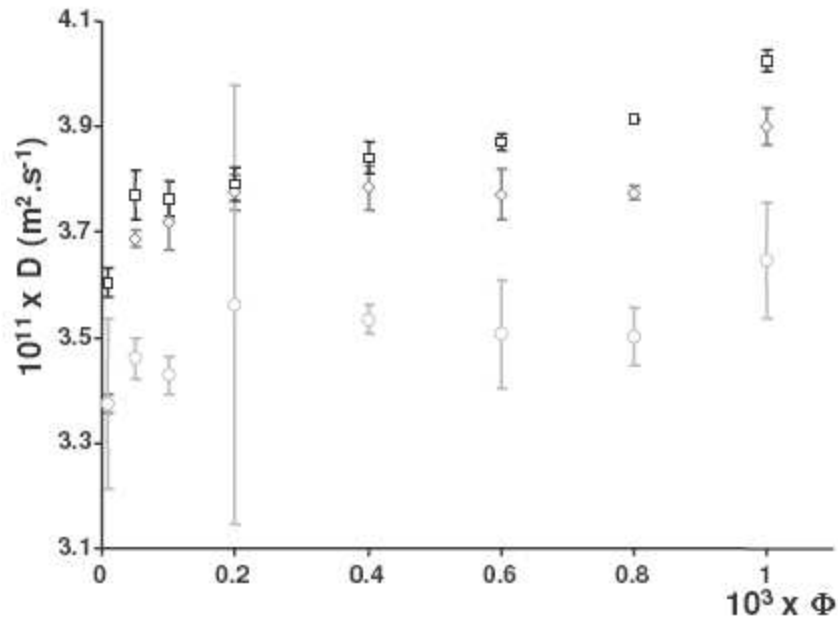


Figure 2. Calculated diffusion coefficient of colloidal particles at various volume fractions Φ obtained by fitting front (open squares) or pulse (open diamonds) concentration profiles, or integrating pulse concentration profiles (open circles)

Experimental conditions: see figure 1 except for particle volume fraction Φ adjusted to 10^{-5} , 5×10^{-5} , 10^{-4} , 2×10^{-4} , 4×10^{-4} , 6×10^{-4} , 8×10^{-4} and 10^{-3} by dilution in BGE.

Each experimental point is the mean from 3 replicates and error bars stand for $\pm$ one standard deviation.

4.2. Compliance with Taylor's conditions and corrections

As advocated by Sharma et al. [14] the influence of the effect of an initial ramp in fluid velocity on the diffusion coefficient determined from TDA using a capillary electrophoresis instrument was considered. In this prospect, a series of measurements was realized by applying different mobilizing pressure (from 20 to 50 mbar). The mean residence time t_R and the temporal variance σ^2 of each elution profiles were obtained by fitting the front concentration profile to equation 2. Corresponding data points reported in Figure 3A reveal a linear relationship between both temporal moments. This correlation could be expected from equation 6 when Taylor's conditions are satisfied. Nevertheless, the fact that the y-intercept does not go past origin demonstrates that the observed residence time t_R results from an average fluid velocity and that a certain period of time is necessary for the fluid flow to reach its steady state. This delay time t_d was estimated to 0.265 min from least-squares linear regression. This value is too high to only result from a delay in the application of a constant pressure as suggested by Sharma et al. [14]. Indeed, the initial ramp in the applied pressure was determined from the pressure monitoring of our CE instrument and observed to persist

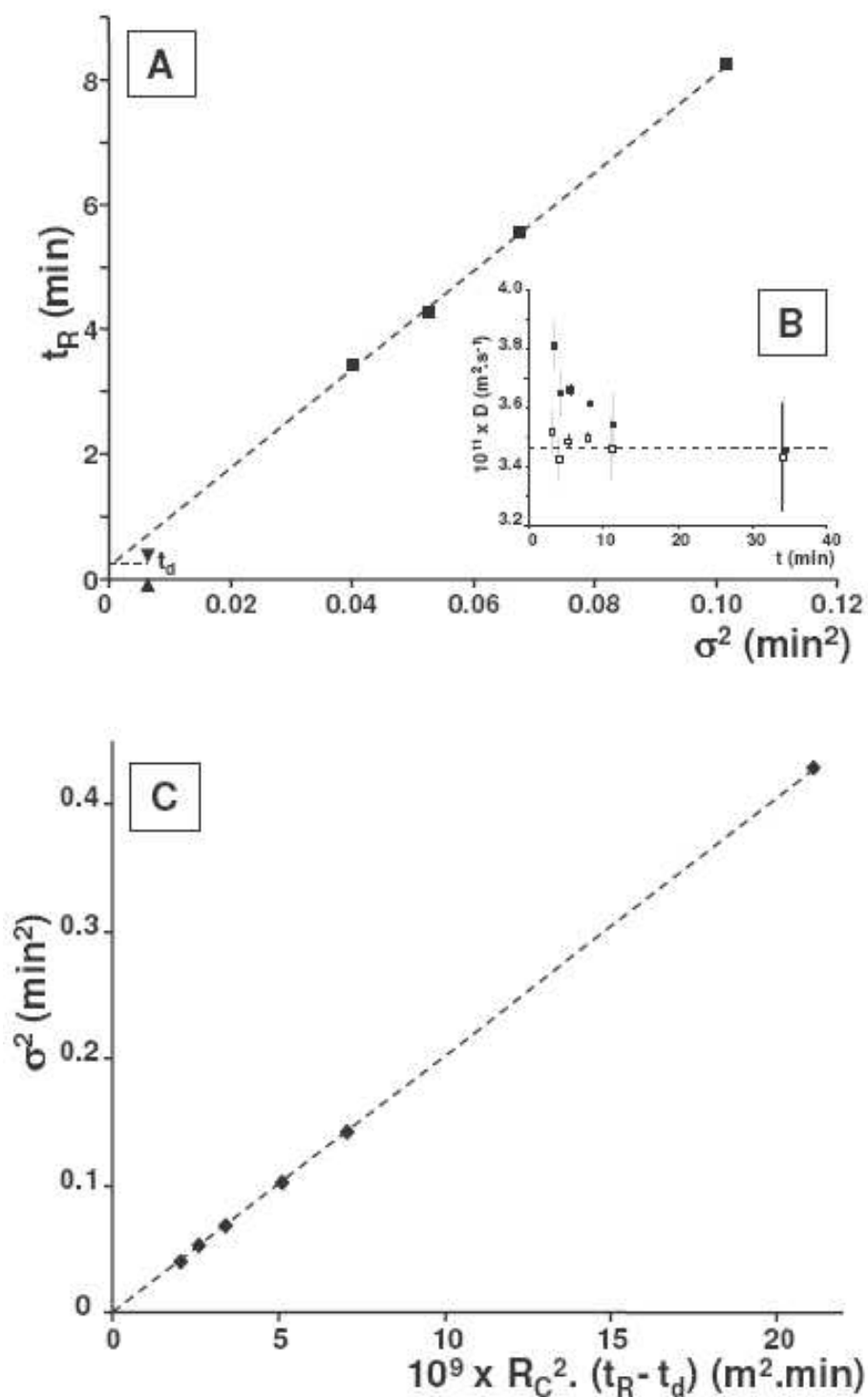


Figure 3. Different plots of merit obtained from Taylor dispersion analysis of front elution profiles performed at different mobilizing pressures and/or capillary lengths.

A/ t_R as a function of σ^2

B/ Diffusion coefficient D as a function of residence time. The open symbols represent the data that have been corrected for the delay time t_d and the filled symbols the uncorrected ones

C/ σ^2 as a function of $R_C^2 \times (t_R - t_d)$

Experimental conditions: A/ See figure 1, except for the mobilizing pressure: 20, 30, 40 and 50 mbar. B/ See Figure 3A, except for the two longest residence times: DDABr-coated capillary 50 μ m id x 60 and 100 cm and a 50 mbar mobilizing pressure. C/ see Figures 3A and 3B.

Each experimental point is the mean from 5 replicates and error bars stand for $\pm$ one standard deviation (B).

for ca. 0.095 to 0.14 min when applying mobilizing pressure of from 20 to 50 mbar, respectively. Nevertheless, it is worth noting that Sharma et al. [14] mentioned velocity ramps that persisted for 0.017-0.33 min and that an arbitrary corrective constant of 0.125 min was subtracted from t_R in Cottet's work [16] to account for the delay in the application of the pressure. Figure 3B shows the calculated diffusion coefficient in terms of particle residence time before (filled squares) and after (open squares) t_d subtraction. Before correction, the calculated D values appear as a decreasing function of t_R which tends towards a plateau for the longest residence times. Once corrected for the delay time t_d , data gave constant values for D to within 3 % coinciding with the above-mentioned plateau value, which is the order of magnitude of the RSD for the experimental points ($RSD \leq 5\%$). To explore a wider range of residence times, the capillary length was varied from 35 cm to 100 cm. To correct for inherent variations of capillary radius R_c from one capillary to another, this parameter was systematically measured as described in the experimental section, so as to be included in the abscissa variable. Eventually, when plotting σ^2 vs $R_c^2 \times (t_R - t_d)$ (Figure 3 C), upon varying either the mobilization pressure or the capillary length, all experimental points were lying on a straight line going past origin, the slope of which was directly proportional to the reciprocal mean diffusion coefficient ($\sim 3.4 \cdot 10^{-11} \text{ m}^2 \cdot \text{s}^{-1}$ for a maghemite particle population of $\langle d_N \rangle = 8.9 \text{ nm}$, at $\Phi = 10^{-2} \%$ in 10 mM HCl). Thus, for further calculations of diffusion coefficients, the mean measured residence time t_R was systematically corrected for the delay time t_d .

In addition to this and as was discussed previously, Taylor's conditions should be ascertained to ensure that equation 6 could be used for diffusion coefficient calculation. The dimensionless parameters pertaining to these requirements are listed in Table 2 for the three studied size-sorted particle populations and the residence times considered (according to applied pressure and capillary length). In all the experiments, Taylors' conditions were perfectly satisfied, with τ and Pe values in excess of 6 and 600, respectively.

Belongia andt Baygents [13] also considered additional conditions to be fulfilled in order to extend TDA to the determination of the diffusion coefficient of colloidal particles. All these requirements (absence of particle-wall interaction and size-exclusion effect) were also satisfied in subsequent work, thus ensuring that the mean axial velocity of the particles coincides with that of the carrier fluid [29].

Particle sample	<d _N > (nm)	Taylor's conditions		D ₀ (10 ⁻¹¹ m ² .s ⁻¹)		2a (nm)	
		τ	Pe	CE	DLS	CE	DLS
Subpopulation 1	6.8	15.3	697	4.8	3.4	10.4	14.6
Subpopulation 2	8.9	10.9	972	3.4	2.7	14.5	18.6
Subpopulation 3	10.6	6.8	1569	2.1	1.5	23.4	32.0

Table 2. Diffusion coefficient at infinite dilution and respective hydrodynamic diameters obtained from Taylor dispersion analysis using CE instrument and DLS

4.3. Diffusion coefficients and hydrodynamic sizes of maghemite nanoparticles

TDA was employed to characterize three size-sorted maghemite (γ-Fe₂O₃) particle populations of number mean solid diameters 6.8, 8.9 or 10.6 nm (Table 1), as determined from magnetic measurements. Experimental conditions were selected to minimize measurement time while still satisfying Taylor's conditions. Also, a mobilizing pressure of 50 mbar in a capillary of 35 cm total length was retained, giving a residence time of ca. 3.5 min

(Table 2). Figure 4A shows the variation of the measured diffusion coefficient in terms of particle volume fraction Φ for the three size-sorted particle populations. Typically, the RSDs calculated from 3 replicates were below 2 %, except for two points of measurement (out of 27), for which values up to 5 % were obtained. At a given volume fraction, significantly different values of D were measured for particle populations differing in number mean solid diameter by only 2 nm and the smallest particles presented the highest diffusion coefficient, as expected from Stokes-Einstein equation:

$$D_0 = \frac{k_B T}{6\pi\eta a} \quad (9)$$

where D_0 is the Brownian diffusion coefficient of a single sphere, $k_B T$ is the thermal energy, η is the fluid viscosity, and a is the particle Stokes radius. Noteworthy, measured diffusion coefficient increases upon volume fraction Φ and the positive slope of the linear regression increases as the particle size decreases. This observation is consistent with the concentration dependence of the collective diffusion coefficient D_C described by the generalized Stokes-Einstein equation for the whole range of volume fractions Φ , and for any interparticle potential [3,4]. In the limit of low volume fraction (where only pair particle interactions are considered), the Φ dependence of D_C can be written as

$$D_c(\Phi) = D_0(1 + \lambda\Phi) \quad (10)$$

where coefficient λ accounts for particle interactions. Thus, the positive sign of the slope of the linear regression (proportional to coefficient λ in equation (10)) reflects the existence of repulsive interactions between the charged nanoparticles of maghemite.

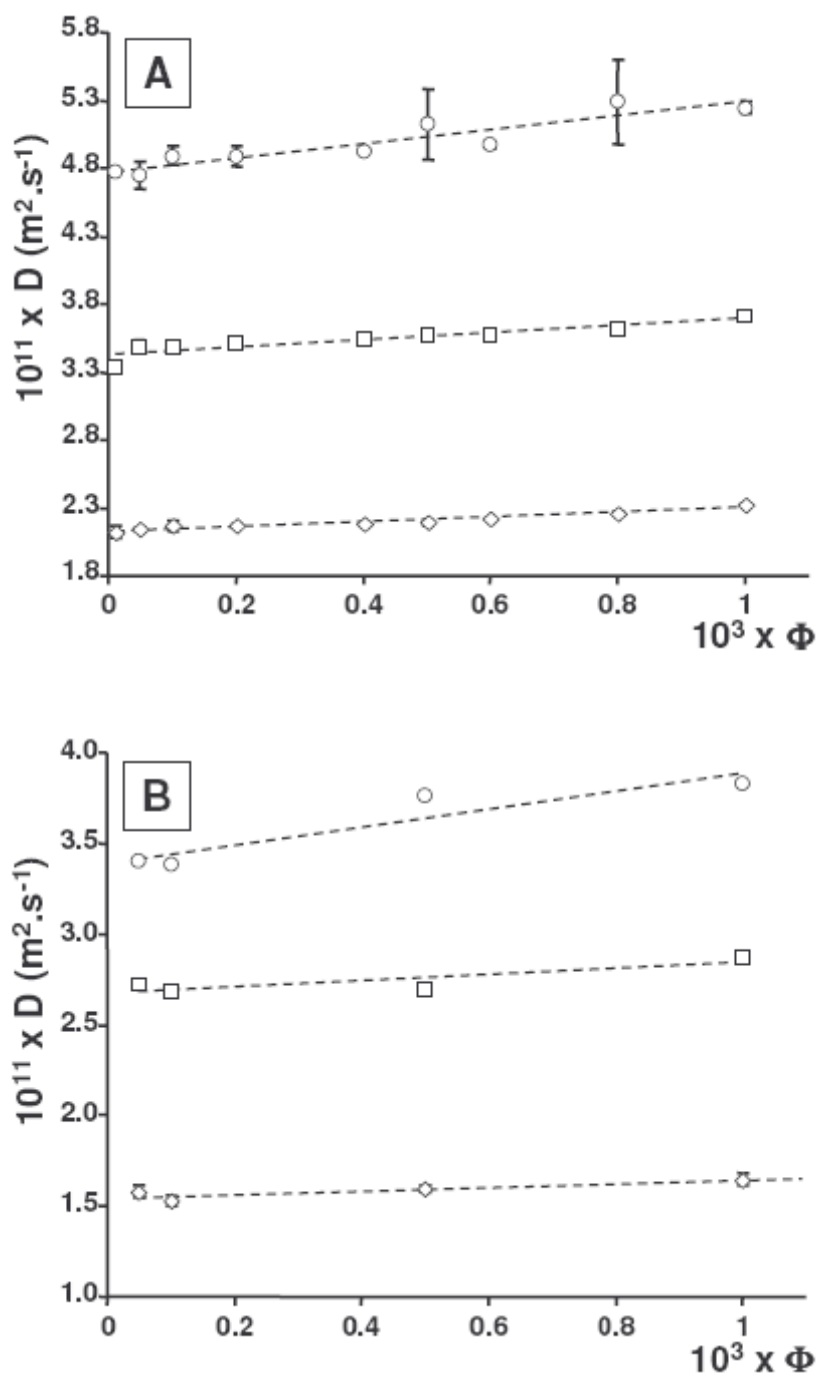


Figure 4. Diffusion coefficients obtained from (A) Taylor dispersion analysis of front elution profiles and (B) DLS measurements as a function of the particle volume fraction Φ for three size-sorted particle populations: $\langle d_N \rangle = 6.8$ nm (open circles), 8.9 nm (open squares) and 10.6 nm (open diamonds)

Experimental conditions: (A) see Figure 2; (B) see section 3.5.

Each experimental point is the mean from 3 replicates and error bars stand for $\pm$ one standard deviation.

For each particle population, the diffusion coefficients at infinite dilution derived by extrapolation to zero concentration are given in Table 2. The result obtained for the particle population $\langle d_N \rangle = 10.6$ nm is in good agreement with the value observed from spin echo experiments ($D_0 = 2.0 \times 10^{-11} \text{ m}^2 \cdot \text{s}^{-1}$) by Meriguet et al. [30] when studying ferrofluids of similar size characteristics. Diffusion coefficients at infinite dilution can then be used for the calculation of the Stokes radius 'a', using equation 9. As expected, obtained values (Table 2) are superior to particle mean solid radii as they account for hydration effects. The dependence of the diffusion coefficient on particle volume fraction obtained from the DLS experiments performed on the same particle samples is presented in Figure 4B. It is to be mentioned that this method did not satisfy the criteria of measurement quality (lack of sensitivity) for the smallest particle population at the lowest volume fraction ($\langle d_N \rangle = 6.9$ nm, $\Phi = 10^{-5}$), otherwise good reproducibility was obtained ($\text{RSD} < 1 \%$). The same general trends as those obtained from TDA experiments were observed. Nevertheless, the D_0 values obtained by extrapolating D values to the vanishing volume fractions are markedly smaller (down to 30 %) than those obtained from TDA (Table 2). This deviation reflects the polydispersity of the particle samples. In effect, the light scattering intensity is proportional to the square of the particle mass (or volume), which yields to the z-average diffusion coefficient [31] and to a greater contribution of the largest particles of a given population. By comparison, the average diffusion coefficient obtained from TDA with UV detection is less sensitive to sample polydispersity since the detector signal is simply proportional to particle mass concentration [15,16].

4.4. Influence of electrolyte ionic strength on diffusion coefficients determined by TDA

As anticipated from previous results about diffusion coefficient dependence on volume fraction Φ , the positively charged maghemite nanoparticles are submitted to repulsive electrostatic interactions. As the intensity of these repulsive forces should be tuned by ion screening, the influence of electrolyte ionic strength on particle mean diffusion coefficient was studied using the preceding TDA methodology by varying NaCl concentration (10 to 70 mM) added to the initial 10 mM HCl BGE. At 25 °C in water, electrolyte ionic strength I ($\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$) is directly related to reciprocal Debye length κ (nm^{-1}) by:

$$\kappa \approx 3.288\sqrt{I} \quad (11)$$

The Debye length parameter κ^{-1} is the characteristic distance over which two charged particles will interact [32]. Figure 5 represents the measured diffusion coefficients in terms of particle volume fraction (maghemite particle population of $\langle d_N \rangle = 8.9$ nm) for different κ values (i.e. ionic strengths) lying in the range $0.33 < \kappa < 0.93$ nm⁻¹. Each series of points at constant κ value can be fitted according to a linear function (equation 10) whose y-intercept is D_0 and slope is proportional to λ . The latter parameter is shown to decrease with increasing κ . Indeed, the higher the κ value is (the higher the ionic strength), the more the electrostatic forces between particles are screened, and then the lower the λ value will be. Eventually, the D_0 values appear to decrease on decreasing ka values when varying from ca. 6.7 to 2.3. This behavior is consistent with experimental observations by Tirado-Miranda et al. [4] for the case of anionic latex colloids and with previous theoretical predictions based on electrokinetic effects [33-35], stating that D_0 values will go past a minimum at $ka \sim 1$.

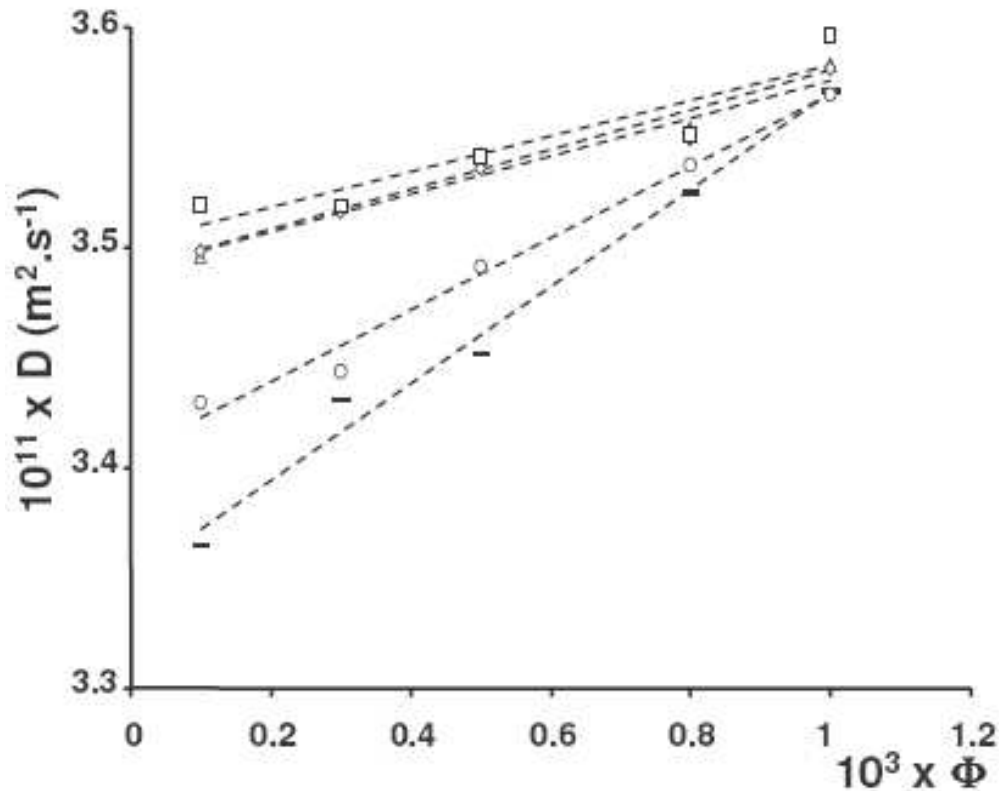


Figure 5. Diffusion coefficients obtained from Taylor dispersion analysis of front elution profiles in terms of the volume fraction of the maghemite particle population $\langle d_N \rangle = 8.9$ nm for different BGE ionic strengths (i.e. κ values).

Experimental conditions: see Figure 2, except for BGE composition obtained by addition of various NaCl concentrations to the initial 10 mM HCl electrolyte: 0 mM ($\kappa = 0.33$ nm⁻¹, sticks), 10 mM ($\kappa = 0.46$ nm⁻¹, open circles), 30 mM ($\kappa = 0.66$ nm⁻¹, open triangles), 50 mM ($\kappa = 0.81$ nm⁻¹, open diamonds), 70 mM ($\kappa = 0.93$ nm⁻¹, open squares).

Each experimental point is the mean from 4 replicates and error bars stand for $\pm$ one standard deviation.

5. Concluding remarks

TDA using a capillary electrophoresis instrument appeared to be a fast, simple and reliable technique for performing diffusion coefficient measurements of nanometric cationic particle populations (mean solid diameter less than 10 nm), allowing access to particle Stokes radii via the Stokes-Einstein equation. Better precisions ($\leq 2\%$ RSD) were obtained by fitting front elution profiles to the theoretical equation. Sensitive size dependency of particle diffusion coefficient on particle size was observed according to this equation, which would allow to discriminate particle populations differing in mean size by less than 0.5 nm. Discrepancy between TDA-CE and DLS measurement could be explained as resulting from sample intrinsic polydispersity. Applying this technique, interactions and aggregation phenomena can be easily recognized.

Acknowledgements:

The authors would like to thank Dr Michel Martin (Lab. of Physics and Mechanics of Heterogeneous Media, CNRS-ESPCI, Paris, France) for fruitful discussions. They also gratefully acknowledge Prof. Valérie Cabuil and her group (Lab. of Ionic Liquids and Charged Interfaces, CNRS-University of Paris6, France), especially Delphine Talbot, for help in the synthesis of ferrofluids.

6. References

- [1] D.N. Petsev, N.C. Denkov, J. Colloid Interface Sci. 149 (1992) 329.
- [2] J. Appel, G. Porte, E. Buhler, J. Phys. Chem. B 109 (2005) 13186.
- [3] W.R. Bowen, A. Mongruel, Colloids Surf. A 138 (1998) 161.
- [4] M. Tirado-Miranda, C. Haro-Pérez, M. Quesada-Pérez, J. Callejas-Fernández, R. Hidalgo-Álvarez, J. Colloid Interface Sci. 263 (2003) 74.
- [5] G. Taylor, Proc. R. Soc. London Ser. A 219 (1953) 186.
- [6] J.C. Giddings, S.L. Seager, Ind. Eng. Chem. Fundam. 1 (1962) 277.
- [7] E. Grushka, E.J. Kitka, J. Phys. Chem. 78 (1974) 2297.
- [8] A.C. Ouano, Ind. Eng. Chem. Fundam. 11 (1972) 268.
- [9] K.C. Pratt, W.A. Wakeham, Proc. R. Soc. London Ser. A 342 (1975) 401.
- [10] T. Yonezawa, T. Tominaga, N. Toshima, Langmuir 11 (1995) 4601.
- [11] W.P. Wuelfing, A.C. Templeton, J.F. Hicks, R.W. Murray, Anal. Chem. 71 (1999) 4069.
- [12] M.S. Bello, R. Rezzonico, P.G. Righetti, Science 266 (1994) 773.
- [13] B.M. Belongia, J.C. Baygents, J. Colloid Interface Sci. 195 (1997) 19.
- [14] U. Sharma, N.J. Gleason, J.D. Carbeck, Anal. Chem. 77 (2005) 806.
- [15] H. Cottet, M. Martin, A. Papillaud, E. Souaïd, H. Collet, A. Commeyras, Biomacromol. 8 (2007) 3235.
- [16] H. Cottet, J.P. Biron, M. Martin, Anal. Chem. 79 (2007) 9066.
- [17] T. Le Saux, H. Cottet, Anal. Chem. 80 (2008) 1829.
- [18] A. Alizadeh, C.A. Nieto de Castro, W. Wakeham, J. Thermophys. 1 (1980) 243.
- [19] R. Aris, Proc. R. Soc. London Ser. A 235 (1956) 67.
- [20] G. Taylor, Proc. R. Soc. London Ser. A 225 (1954) 473.
- [21] R. Massart, IEEE Trans. Magn. 17 (1981) 1247.
- [22] R. Massart, E. Dubois, V. Cabuil, E. Hasmonay, J. Magn. Magn. Mater. 149 (1995) 1.
- [23] J. Aitchison, J. A. C. Brown, *The lognormal distribution*, Cambridge University Press, Cambridge, 1957, pp. 7-19
- [24] S. Foner, Rev. Sci. Instr. 30 (1959) 548.
- [25] J.C. Bacri, R. Perzynski, D. Salin, V. Cabuil, R. Massart, J. Magn. Magn. Mater. 62 (1986) 36.
- [26] F. d'Orlyé, A. Varenne, P. Gareil, Electrophoresis 29 (2008) 3768-3778
- [27] J. E. Melanson, N. E. Barylá, C. A. Lucy, Anal. Chem. 72 (2000) 4110.

- [28] Y. François, K. Zhang, A. Varenne, P. Gareil, *Anal. Chim. Acta* 562 (2006) 164
- [29] H. Brenner, D.A. Edwards, *Macrotransport processes*, Butter-Worth-Heinemann, Boston, 1993.
- [30] G. Meriguet, E. Dubois, A. Bourdon, G. Demouchy, V. Dupuis, R. Perzynski, *J. Magn. Mater.* 289 (2005) 39.
- [31] J.C. Brown, P.N. Pusey, *J. Chem. Phys.* 62 (1975) 1136.
- [32] J.L. Anderson, F., Rauh, A., Morales, *J. Phys. Chem.* 82 (1978) 608.
- [33] J.M. Schurr, *Chem. Phys.* 45 (1980) 119.
- [34] M. Medina-Noyola, A. Vizcarra-Rendon, *Phys. Rev. A* 32 (1985) 3596.
- [35] G.A. Schumacher, T.G.M., Van de Ven, *Faraday Discuss. Chem. Soc.* 83 (1987) 75.

IV.3. Conclusion

L'analyse de la dispersion de Taylor, lors de sa mise en œuvre à l'aide d'un appareil d'électrophorèse capillaire, est apparue comme une technique rapide, simple et précise pour effectuer la mesure des coefficients de diffusion collectifs moyens de populations de nanoparticules cationiques, et ainsi estimer leurs rayons hydrodynamiques dans des conditions d'électrolyte données. Cette méthode nous a permis de (i) distinguer des populations de particules dont les diamètres moyens (< 10 nm) diffèrent de seulement 2 nm, (ii) mettre en évidence l'existence d'interactions répulsives de nature électrostatique entre particules de même signe de charge, (iii) quantifier ces interactions en fonction de la force ionique du milieu de dispersion. L'écart entre les résultats obtenus en CE (analyse de la dispersion de Taylor) et en DLS est lié à la différence entre les modes de détection inhérents à chacune des deux techniques et résulte de la polydispersité des populations de particules étudiées.

IV.4. Références bibliographiques

- [1] D.N. Petsev, N.C. Denkov, J. Colloid Interface Sci. 149 (1992) 329.
- [2] J. Appel, G. Porte, E. Buhler, J. Phys. Chem. B 109 (2005) 13186.
- [3] W.R. Bowen, A. Mongruel, Colloids Surf. A 138 (1998) 161.
- [4] M. Tirado-Miranda, C. Haro-Pérez, M. Quesada-Pérez, J. Callejas-Fernández, R. Hidalgo-Álvarez, J. Colloid Interface Sci. 263 (2003) 74.
- [5] G. Taylor, Proc. R. Soc. London Ser. A 219 (1953) 186.
- [6] J.C. Giddings, S.L. Seager, Ind. Eng. Chem. Fundam. 1 (1962) 277.
- [7] E. Grushka, E.J. Kitka, J. Phys. Chem. 78 (1974) 2297.
- [8] A.C. Ouano, Ind. Eng. Chem. Fundam. 11 (1972) 268.
- [9] K.C. Pratt, W.A. Wakeham, Proc. R. Soc. London Ser. A 342 (1975) 401.
- [10] T. Yonezawa, T. Tominaga, N. Toshima, Langmuir 11 (1995) 4601.
- [11] W.P. Wuelfing, A.C. Templeton, J.F. Hicks, R.W. Murray, Anal. Chem. 71 (1999) 4069.
- [12] M.S. Bello, R. Rezzonico, P.G. Righetti, Science 266 (1994) 773.
- [13] B.M. Belongia, J.C. Baygents, J. Colloid Interface Sci. 195 (1997) 19.
- [14] U. Sharma, N.J. Gleason, J.D. Carbeck, Anal. Chem. 77 (2005) 806.
- [15] H. Cottet, M. Martin, A. Papillaud, E. Souaïd, H. Collet, A. Commeyras, Biomacromol. 8 (2007) 3235.
- [16] H. Cottet, J.P. Biron, M. Martin, Anal. Chem. 79 (2007) 9066.
- [17] T. Le Saux, H. Cottet, Anal. Chem. 80 (2008) 1829.

Conclusion générale

Au cours de ce travail, le comportement électrophorétique de populations de particules nanométriques, anioniques et cationiques, différant par leur nature chimique, leur taille et/ou leur charge a été étudié en profondeur. Les mécanismes de migration ont été discutés au vu de paramètres physico-chimiques caractéristiques des systèmes colloïdaux tels que le potentiel- ζ ou le rapport de la taille des particules à la longueur de Debye, et l'existence de phénomènes collectifs, liés à la concentration des particules en suspension, a été mise en évidence. Autant que possible, nous avons tenté de modéliser les phénomènes observés par des expressions analytiques simples, de sorte à expliquer les séparations obtenues et à définir les paramètres pouvant être modulés dans le but d'améliorer la résolution de mélanges de différentes populations de particules. Toutes ces investigations ont permis d'explorer de façon approfondie une partie du pouvoir applicatif de la CE pour la caractérisation des nanoparticules et ont surtout ouvert la voie vers une caractérisation simple et précise des particules de charge positive.

Dans la première partie expérimentale, portant sur l'étude du comportement électrophorétique en milieu libre de particules anioniques et cationiques, il a été montré l'influence de différents paramètres inhérents au choix de l'électrolyte de séparation, dont la force ionique, la nature et la concentration des co-ions et contre-ions ainsi que le pH, sur la mobilité et la dispersion électrophorétique des particules. Dans le cadre de l'analyse de particules cationiques, différentes stratégies de modification du capillaire ont été envisagées, de sorte à supprimer les phénomènes d'adsorption et ainsi permettre une mesure précise de la mobilité électrophorétique de ces particules. Les meilleures performances analytiques ont été obtenues dans des capillaires modifiés par adsorption d'un tensioactif cationique : le DDABr. Une séparation en taille a été obtenue pour des populations de particules de maghémite dont les diamètres moyens (< 10 nm) diffèrent de seulement 2 nm et expliquée à la lumière des théories d'Overbeek-Booth qui tiennent compte de l'effet de relaxation. Dans les domaines de potentiel- ζ (> 100 mV) et de κR (entre 1 et 10) que nous avons explorés, aucune expression analytique satisfaisante reliant le potentiel- ζ à la mobilité électrophorétique n'a encore été établie. Néanmoins, la représentation de nos valeurs expérimentales par des points de coordonnées (κR , mobilité réduite) a permis de retracer un réseau de courbes

équipotentiellles, en bon accord avec les résolutions numériques exactes des équations de transport proposées par Wiersema.

La deuxième partie expérimentale a traité de la détermination du taux de greffage par des groupements amine de nanoparticules cœur/coquille maghémite/silice. Une mobilité électrophorétique dépendant de la charge a été mise en évidence et les meilleures résolutions ont été obtenues dans des électrolytes de pH proches de 8 et de forces ioniques élevées (environ 100 mM) pour des mélanges de populations de particules de fraction volumique totale égale à 0,055 % (v/v), teneur en solide pour laquelle les effets d'interférences entre particules deviennent quasi négligeables. Un protocole de dosage colorimétrique des fonctions amines par la ninhydrine, initialement décrit par Kaiser, a été adapté au cas d'un système biphasique, pour le dosage des groupements amines greffés à la surface des particules coeur/coquille maghémite/silice. Une bonne corrélation a été montrée entre les résultats du test colorimétrique et le taux de greffage estimé par électrophorèse capillaire suivant un modèle à deux pK_a . Actuellement, l'erreur importante qui subsiste sur la mesure colorimétrique ($10\% < RSD < 54\%$) ne permet pas de rendre quantitative la détermination du taux de greffage par simple mesure des mobilités électrophorétique. Néanmoins, la précision de la mesure des mobilités électrophorétiques ($RSD < 1,5\%$) en fait une méthode simple, rapide et précise, pour la détermination relative du taux de fonctionnalisation des nanoparticules.

Une troisième partie expérimentale a permis d'étudier la mise en œuvre, à l'aide d'un appareil d'électrophorèse capillaire, de l'analyse de la dispersion de Taylor pour la mesure des coefficients de diffusion collectifs moyens de populations de nanoparticules cationiques, et l'estimation de leurs rayons hydrodynamiques, dans des conditions d'électrolyte données. Cette méthode nous a permis de (i) distinguer des populations de particules dont les diamètres moyens ($< 10\text{ nm}$) diffèrent de seulement 2 nm, (ii) mettre en évidence l'existence d'interactions répulsives de nature électrostatique entre particules de même signe de charge, (iii) quantifier ces interactions en fonction de la force ionique du milieu de dispersion.

A l'issue de cette étude, nous avons pu montrer l'intérêt de l'utilisation de l'électrophorèse capillaire pour la caractérisation de nanoparticules anioniques et cationiques en termes de taille, charge et coefficient de diffusion collectif. Cette technique semble tout particulièrement prometteuse dans le cadre d'applications biomédicales, car elle permet le

contrôle simultané de la chimie de surface des particules (nature, charge et densité des groupements fonctionnels), qui conditionne leur comportement biologique, et de la pureté des solutions de dispersion, sur le plan toxicologique. De plus, le développement d'immuno-essais par électrophorèse capillaire, mettant en jeu des particules magnétiques fonctionnalisées par des anticorps ou des antigènes, offre des perspectives prometteuses pour les prochaines années.