

Synthèse et caractérisation de polymères à empreintes moléculaires pour l'extraction sélective de résidus d'explosifs pour le développement de dispositifs de terrain

Sonia Lordel

▶ **To cite this version:**

Sonia Lordel. Synthèse et caractérisation de polymères à empreintes moléculaires pour l'extraction sélective de résidus d'explosifs pour le développement de dispositifs de terrain. Chimie analytique. Université Pierre et Marie Curie - Paris VI, 2011. Français. NNT : . pastel-00631350

HAL Id: pastel-00631350
https://pastel.hal.science/pastel-00631350

Submitted on 12 Oct 2011

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

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

THESE DE DOCTORAT DE
L'UNIVERSITÉ PIERRE ET MARIE CURIE
ED 388

Spécialité : Chimie Analytique

Sonia LORDEL

Pour obtenir le grade de docteur de l'Université Pierre et Marie Curie

Synthèse et caractérisation de polymères à empreintes moléculaires pour l'extraction sélective de résidus d'explosifs pour le développement de dispositifs de terrain

Thèse dirigée par Mme Valérie PICHON

Soutenance prévue le 19 septembre 2011

Devant le jury composé de :

Mr Karsten HAUPT	Rapporteur
Mr Francesco Saverio ROMOLO	Rapporteur
Mme Claire ELFAKIR	Examinateur
Mr Jérôme VIAL	Examinateur
Mme Véronique EUDES	Membre invité
Mme Valérie PICHON	Directrice de thèse

Université Pierre & Marie Curie - Paris 6
Bureau d'accueil, inscription des doctorants et base de données
Esc G, 2ème étage
15 rue de l'école de médecine
75270-PARIS CEDEX 06

Tél. Secrétariat : 01 42 34 68 35
Fax : 01 42 34 68 40
Tél. pour les étudiants de A à EL : 01 42 34 69 54
Tél. pour les étudiants de EM à MON : 01 42 34 68 41
Tél. pour les étudiants de MOO à Z : 01 42 34 68 51
E-mail : scolarite.doctorat@upmc.fr

Remerciements

Je remercie vivement le professeur Valérie PICHON de m'avoir donnée la chance d'intégrer le Laboratoire des Sciences Analytiques, Bioanalytiques et Miniaturisation pour y effectuer ma thèse et de m'avoir accordée toute sa confiance. Je lui suis reconnaissante pour m'avoir fait profiter de ses enseignements de grande qualité, de ses connaissances, de son expérience, ainsi que de son soutien personnel.

Je remercie tout particulièrement Florence CHAPUIS-HUGON, pour m'avoir guidée tout au long de mon projet. Je la remercie de sa présence, de son écoute et de ses conseils précieux.

Je tiens à remercier également le Laboratoire Central de la Préfecture de Police de Paris de m'avoir proposé de travailler sur ce sujet passionnant et tout particulièrement Madame Véronique EUDES pour l'intérêt porté à ce sujet et pour son soutien.

J'exprime toute ma gratitude à monsieur le professeur Karsten HAUPT, à monsieur le professeur Francesco Saverio ROMOLO, à madame le professeur Claire ELFAKIR et au docteur Jérôme VIAL d'avoir accepté de juger ce travail.

Je voudrais également exprimer mon attachement à l'ensemble des stagiaires et doctorants rencontrés pendant ces trois années : un grand merci à Valérie, Ramia, Benjamin, Cédric, Wassim, Annabelle, Oussama, Bruno, Youcef, Lilia, Pierre, Laurie et tous les autres. Je tiens à remercier plus particulièrement Charlotte pour son amitié et son soutien sans faille depuis qu'elle est arrivée au laboratoire

Enfin, je remercie l'ensemble de ma famille et de mes proches pour leur affection, leur soutien et leur écoute. J'exprime un merci tout particulier à mon oncle Jean-Pierre qui fut mon exemple tout au long de mes études. Je tiens à exprimer également mon attachement profond à Laurent, mon conjoint, qui m'a poussée à me surpasser à chaque instant et qui m'a toujours écouter grâce à sa soif de connaissance.

Sommaire

Remerciements I
Sommaire III
Résumé IX
Abstract XI
Liste des publications et communications XIII
Introduction 1
Chapitre I 3
Etude bibliographique de l'analyse des résidus d'explosifs 3
I. 1. Contexte de l'étude 3
I. 2. Structures et propriétés des explosifs étudiés 4
I. 2. 1. Présentation générale 4
I. 2. 2. Les nitroaromatiques 7
I. 2. 2. 1. Le 2,4,6-Trinitrotoluène et ses intermédiaires de formations *7*
I. 2. 2. 2. Le 2,4,6-Trinitrophenol *9*
I. 2. 2. 3. Les nitrobenzènes *10*
I. 2. 2. 4. Le tétryl *10*
I. 2. 3. Les nitramines 11
I. 2. 4. Les esters nitrés 11
I. 2. 5. Propriétés physicochimiques des explosifs ciblés 12
I. 3. Analyses chromatographiques des composés ciblés **14**
I. 3. 1. Chromatographie liquide haute performance 14
I. 3. 1. Modes de détection 24
I. 4. Procédures de traitement de l'échantillon appliquées aux explosifs .. **26**
I. 4. 1. L'extraction liquide-liquide 26
I. 4. 2. Extraction liquide-liquide en format miniaturisé 28
I. 4. 2. 1. Microextraction par simple goutte *28*
I. 4. 2. 2. Microextraction liquide-liquide par dispersion *29*
I. 4. 2. 3. Extraction au point trouble *31*
I. 4. 2. 4. Microextraction en phase liquide assistée par fibre creuse *32*
I. 4. 2. 5. Conclusion *33*
I. 4. 3. L'extraction sur phase solide 34
I. 4. 3. 1. Principe [89] *34*

I. 4. 3. 2. Formats des supports SPE et couplages aux techniques chromatographiques *36*

I. 4. 3. 3. Extraction sur phase solide des explosifs *43*

I. 4. 4. La microextraction sur phase solide 51

I. 4. 4. 1. Principe *51*

I. 4. 4. 2. Applications *53*

I. 5. Procédure du LCPP concernant les composés organiques 57

I. 6. Conclusions 60

Chapitre II 63

Supports à empreintes moléculaires pour le traitement de composés à l'état de traces dans des échantillons complexes 63

II. 1. Introduction 63

II. 2. Les immunoadsorbants 64

II. 2. 1. Principe 64

II. 2. 2. Immunoextraction des explosifs 65

II. 3. Les oligoadsorbants 66

II. 3. 1. Présentation des aptamères 66

II. 3. 2. Reconnaissance des explosifs par les aptamères 67

II. 4. Les supports à empreintes moléculaires 68

II. 4. 1. Principe de l'impression moléculaire 68

II. 4. 2. Synthèse de polymères à empreintes moléculaires par voie radicalaire 69

II. 4. 2. 1. Introduction *69*

II. 4. 2. 2. Principe de la polymérisation radicalaire *69*

II. 4. 2. 3. Application aux MIP *72*

II. 4. 3. Synthèse de support à empreintes moléculaires par voie sol-gel 76

II. 4. 3. 1. Introduction *76*

II. 4. 3. 2. Principe du procédé sol-gel *77*

II. 4. 3. 3. Propriétés *78*

II. 4. 3. 4. Application aux MIS *79*

II. 4. 4. Caractérisation des supports imprimés comme supports d'extraction 80

II. 4. 4. 1. Caractérisation par chromatographie d'élution *81*

II. 4. 4. 2. Caractérisation par étude de fixation *81*

II. 4. 4. 3. Caractérisation par profil d'élution ou SPE *83*

II. 4. 5. Applications des supports imprimés aux explosifs nitroaromatiques 86

II. 5. Conclusion 93

Chapitre III 95

Synthèse et caractérisation de MIP pour l'extraction sélective des explosifs nitroaromatiques 95

III. 1. Introduction 95

III. 2. Mise au point des conditions d'analyse des molécules ciblées 96

III. 2. 1. Introduction 96

III. 2. 2. Détection UV 96

III. 2. 3. Mise au point des analyses par LC/UV 97

III. 2. 3. 1. Séparation des nitroaromatiques sur la colonne PGC 97

III. 2. 3. 2. Séparation des nitroaromatiques sur une colonne diphényle 98

III. 2. 3. 3. Séparation des nitroaromatiques sur une colonne en silice greffée C18 99

III. 2. 4. Analyse par LC/MS 102

III. 2. 5. Conclusion 104

III. 3. Développement de supports à empreintes moléculaires 105

III. 3. 1. Choix de la molécule empreinte 106

III. 3. 2. Présentation des différents MIP synthétisés et principe d'évaluation 106

III. 3. 3. Evaluation des MIP fondés sur une rétention par interactions polaires 108

III. 3. 3. 1. Caractérisation des MIP 1, 2 et 3 108

III. 3. 3. 2. Caractérisation des MIP 4 et 5 110

III. 3. 3. 3. Conclusion 111

III. 3. 4. Evaluation des MIP fondés sur une rétention hydrophobe et des interactions de type π-π 112

III. 3. 4. 1. Caractérisation du MIP1 112

III. 3. 4. 2. Caractérisation du MIP 6 113

III. 3. 4. 3. Caractérisation du MIP 7 114

III. 3. 5. Conclusion 117

Chapitre IV 119

Synthèse et caractérisation de MIS pour l'extraction sélective des explosifs nitroaromatiques 119

IV. 1. Introduction 119

IV. 2. Evaluation du potentiel d'un MIS pour l'extraction sélective des explosifs nitroaromatiques 119

IV. 2. 1. Préparation du support de silice imprimé 119

IV. 2. 1. 1. Choix des réactifs et conditions de synthèse 119
IV. 2. 1. 2. Elimination de la molécule empreinte 121
IV. 2. 2. Pré-évaluation de la sélectivité du MIS 122
IV. 2. 2. 1. Mise en évidence de la sélectivité du MIS vis-à-vis du 2,4-DNT122
IV. 2. 2. 2. Extraction du 2,4,6-TNT 123
IV. 2. 3. Optimisation du protocole d'extraction 124
IV. 2. 3. 1. Procédure d'extraction simultanée du 2,4-DNT et du 2,4,6-TNT 124
IV. 2. 4. Etude de la rétention des autres explosifs nitroaromatiques 126
IV. 2. 5. Détermination de la capacité du support 128
IV. 2. 6. Etude de la répétabilité de la synthèse 130
IV. 2. 7. Evaluation du MIS sur un échantillon réel 131
IV. 2. 8. Conclusion 133
IV. 3. Modification des conditions de synthèse du MIS 133
IV. 3. 1. Introduction 133
IV. 3. 2. Utilisation d'un analogue structural comme molécule empreinte ... 134
IV. 3. 3. Utilisation d'un monomère polaire 135
IV. 3. 4. Influence du ratio molaire sur les performances du support 137
IV. 3. 4. 1. Conditions de synthèse 137
IV. 3. 4. 2. Potentiel des MIS 1/4/20 et 1/4/30 137
IV. 3. 5. Conclusion 139
IV. 4. Caractérisation des MIS 1/4/20 et 1/4/30 140
IV. 4. 1. Développement d'une procédure d'extraction optimale 140
IV. 4. 2. Etude de la rétention des autres nitroaromatiques 141
IV. 4. 3. Détermination de la capacité des supports 142
IV. 4. 4. Etude de la répétabilité de la synthèse 143
IV. 4. 5. Extraction en milieu réel 144
IV. 4. 5. 1. Etudes préliminaires 144
IV. 4. 5. 2. Choix des échantillons 145
IV. 4. 5. 3. Purification sélective d'un extrait contenant de l'huile de moteur 146
IV. 4. 5. 4. Purification sélective d'un extrait contenant du sang humain post-mortem 148
IV. 4. 5. 5. Purification sélective d'un extrait issu de l'explosion d'une porte de gymnase 150
IV. 4. 6. Conclusion 151

IV. 5. Potentiel des supports imprimés pour l'extraction sélective des nitramines et des esters nitrés 152

IV. 5. 1. Extraction des nitramines 152

IV. 5. 1. 1. Extraction des nitramines par le MIS 1/4/30 152

IV. 5. 1. 2. Evaluation d'un support spécifique aux nitramines 153

IV. 5. 2. Extraction des esters nitrés 154

IV. 6. Conclusion 155

Chapitre V 157

Miniaturisation des différents outils analytiques et identification rapide des explosifs nitrés 157

V. 1. Introduction 157

V. 2. Extraction en ligne des nitroaromatiques 157

V. 2. 1. Objectifs 157

V. 2. 2. Dispositif expérimental 158

V. 2. 3. Développement de la procédure en ligne en milieu pur 159

V. 2. 3. 1. Etude préliminaire 159

V. 2. 3. 2. Evaluation du couplage en ligne 160

V. 2. 3. 3. Performances de la méthode 163

V. 2. 4. Extraction en ligne des nitroaromatiques en milieu complexe 164

V. 2. 5. Conclusion 165

V. 3. Développement d'une méthode d'identification rapide des explosifs nitrés par une détection électrochimique 166

V. 3. 1. Principe du test diagnostic de terrain envisagé 166

V. 3. 2. Détection électrochimique des explosifs nitrés 166

V. 3. 2. 1. Principe 166

V. 3. 2. 2. Formats de détection 169

V. 3. 2. 3. Applications 170

V. 3. 3. Mise au point sur électrode imprimé de la détection électrochimique du 2,4,6-TNT 176

V. 3. 3. 1. Choix des paramètres principaux 176

V. 3. 3. 2. Mesures préliminaires 176

V. 3. 3. 3. Evaluation de la répétabilité des mesures 178

V. 3. 3. 4. Optimisation de certains paramètres 180

V. 3. 3. 5. Quantification du 2,4,6-TNT par détection électrochimique 183

V. 3. 3. 6. Conclusions 184

V. 4. Conclusions et perspectives 185

Conclusions et perspectives **187**
Références bibliographiques **191**
Abréviations et notations **207**
Annexe 1 : Analytes étudiés **213**
Annexe 2 : Monomères et agents réticulant **215**
Annexe 3 : Volume de fin de fixation **219**
Annexe 4 : Conditions d'analyses en LC/UV **221**
Annexe 5 : Analyse des nitroaromatiques par LC/MS **223**
Annexe 6 : Procédure de synthèses des supports imprimés étudiés **225**
Annexe 7 : Traitement des fractions d'extraction avant analyse **229**
Annexe 8 : Procédures optimisées d'extraction sur phase solide **231**
Annexe 9 : Procédure de la détection électrochimique sur électrodes imprimées **233**
Liste des figures et tableaux **235**

Résumé

Depuis une vingtaine d'années, la société a subi de nombreux actes terroristes mortels. Encore aujourd'hui, il est parfois difficile d'identifier avec précision la composition de l'engin explosif utilisé compte tenu de la complexité des échantillons générés (huile de moteur, sang, débris calcinés,…) et de la présence des résidus d'explosifs à de faibles concentrations. Une étape de purification de l'échantillon et de préconcentration de ces explosifs est donc nécessaire avant leur analyse chromatographique pour permettre une identification et une quantification aisée. L'extraction sur phase solide (SPE) est devenue la méthode de choix pour ce type de traitement de l'échantillon. Divers supports d'extraction sont disponibles mais ils peuvent entraîner des coextractions d'interférents gênant alors l'analyse. A cet effet, des supports polymériques, appelés MIP (molecularly imprinted polymers) et générant une rétention basée sur un mécanisme de reconnaissance moléculaire, ont été envisagés comme support d'extraction sélective des nitroaromatiques, explosifs les plus couramment utilisés.

Dans un premier temps, des supports synthétisés en bloc par voie radicalaire ont été préparés. La présence unique des groupements nitro des composés ciblés n'ont pas permis le développement d'interactions polaires suffisamment fortes pour obtenir la création de cavités spécifiques lors de la synthèse. Seule l'exploitation d'interactions hydrophobes et/ou de type π-π avec le styrène comme monomère a permis de former des cavités sélectives vis-à-vis du 2,4-dinitrotoluène (2,4-DNT) et du 2,4,6-trinitrotoluène (2,4,6-TNT) pour entrevoir un faible degré de sélectivité lors de l'extraction. En conséquence, une toute autre approche de synthèse par voie sol-gel a été envisagée afin d'extraire sélectivement les nitroaromatiques des matrices complexes. La synthèse de ces supports de silice étant réalisée en milieu aqueux, la formation des cavités spécifiques a reposé sur la forte interaction entre la molécule empreinte (2,4-DNT) et le monomère (phényltriméthoxysilane) utilisé pour le développement d'interactions hydrophobes et de type π-π. Différents supports ont été synthétisés, notamment avec trois ratios molaires molécule empreinte/monomère/agent réticulant différents et caractérisés par l'établissement de profils d'élution et l'estimation de leur capacité.

Au final, un support de silice imprimé a permis l'extraction simultanée et sélective, pour la première fois à notre connaissance, de quatre nitroaromatiques (2,4-DNT, 2,4,6-TNT, le 2,6-DNT et le tétryl) avec des rendements supérieurs à 88 ± 4 % (n = 3). Ces résultats ont été confirmés par l'extraction en milieu réel dans des matrices telles que l'huile de moteur et le sang et par comparaison avec un support conventionnel.

Compte tenu du grand potentiel de ce type de support pour l'extraction sélective, il a ensuite été envisagé de miniaturiser l'ensemble des outils analytiques afin d'évoluer vers un dispositif de diagnostic de terrain. Pour cela, une extraction en ligne nécessitant une faible quantité de support a été mise en place démontrant ainsi la possibilité de miniaturiser l'étape d'extraction. Dans un second temps, une méthode de détection électrochimique du 2,4,6-TNT sur électrode imprimée a été développée avec succès. En associant en amont une purification de l'échantillon sur MIS, ce dispositif constitue un premier pas vers le diagnostic de terrain.

Abstract

For the last twenty years, people have suffered of numerous deadly terrorist attacks. Today, it remains hard to identify precisely the used explosives considering the complex matrices (motor oil, human blood…) of the post-blast samples and the explosive residues contained at the trace level. For this, a sample clean-up is required to clean the sample and preconcentrate the explosives before chromatography analysis, in order to identify and quantify them easily. Solid phase extraction has become the method of choice for the treatment of such complex samples. Various extracting sorbents are available but coextraction of interfering compounds can be observed. Thus, polymeric sorbents called MIP (molecularly imprinted polymers) developing a retention based on a molecular recognition mechanism have been suggested as sorbent for the selective extraction of the nitroaromatics which are some of the most commonly used explosives.

First, the sorbents were synthesized by radical polymerization. Nitro groups of targeted compounds didn't allow the formation of sufficiently strong polar interactions to obtain specific cavities during the synthesis. Only the use of hydrophobic and/or π-π interactions with the styrene as monomer allowed the formation of selective cavities towards 2,4-dinitrotoluene (2,4-DNT) and 2,4,6-trinitrotoluene (2,4,6-TNT) to obtain a weak selectivity during the extraction. Thus another alternative, a sol-gel synthesis, was considered in order to retain selectively nitroaromatic compounds from complex samples. Those silica sorbents were synthesized in aqueous media. The formation of specific cavities was based on strong interactions between the template (2,4-DNT) and the monomer (phenyltrimethoxysilane) in order to develop hydrophobic and π-π interactions. Different sorbents were synthesized, with three different molar ratios between template / monomer / cross-linker and characterized by the elution profile and the estimation of the capacity.

Finally an imprinted silica sorbent allowed for the first time according to our knowledge, the simultaneous and selective extraction of four nitroaromatic compounds (2,4-DNT, 2,4,6-TNT, 2,6-DNT and tetryl) with extraction recoveries greater than 88 ± 4 % (n = 3). These results were confirmed by extraction in real media with real matrix such as motor oil and blood and comparison with a conventional sorbent.

Given the great potential of this kind of sorbent for the selective extraction of nitroaromatics, miniaturization of all the analytical tools was investigated, in order to develop a portable device for on-site procedure. For this purpose, an on-line extraction needing a small amount of sorbent was carried out. Then, an electrochemical detection method of 2,4,6-TNT on imprinted electrodes has been successfully developed. By applying the sample purification on MIS before the electrochemical detection, this device is the first step towards a on-site procedure.

Liste des publications et communications

Publications

- Development of imprinted materials for the selective extraction of nitroaromatic explosives. S. Lordel, F. Chapuis-Hugon,V. Eudes, V. Pichon, *Journal of Chromatography A*, 1217 (2010) 6674-6680.

- Selective extraction of nitroaromatic explosives by using molecularly imprinted silica sorbents. S. Lordel, F. Chapuis-Hugon, V. Eudes, V. Pichon, *Analytical and boanalytical chemistry*, 399 (2011), 449-458.

Communications orales présentées

- Développement de supports à empreintes moléculaires pour l'extraction sélective des explosifs nitroaromatiques. S. Lordel, F. Chapuis-Hugon, V. Eudes, V. Pichon. Congrès SEP'09, 1-3 décembre 2009, Marseille.

- Development of molecularly imprinted silica sorbents dedicated for the selective extraction of nitroaromatic explosives residues in post blast samples. S. Lordel, F. Chapuis-Hugon,, V. Eudes, V. Pichon. ExTech 2010 – Advances in Extraction Technologies, 19-22 septembre 2010, Poznan, Pologne.

Autres communications orales

- Biological and biomimetic tools for sample preparation. V. Pichon, B. Madru, S. Lordel, W. Hadj-Ali, V. Thibert, F. Chapuis-Hugon. ExTech 2010 – Advances in Extraction Technologies, 19-22 septembre 2010, Poznan, Pologne.

Communications écrites

- Determination of selective imprinted materials for the selective extraction of nitroaromatic explosives. S. Lordel, F. Chapuis-Hugon, V. Eudes, J.J. Minet, V. Pichon.

HPLC 2009 - 34th International Symposium on High-Performance Liquid Phase Separations and Related Techniques, 28 juin-2 juillet 2009, Dresde, Allemagne.

- Optimization of molecularly imprinted silica sorbent synthesis for the selective extraction of nitroaromatic explosives, S. Lordel, F. Chapuis-Hugon, V. Eudes, J.J. Minet, V. Pichon. HPLC 2009, 34th International Symposium on High-Performance Liquid Phase Separations and Related Techniques, 28 juin-2 juillet 2009, Dresde, Allemagne.

- Extraction sélective d'explosifs nitroaromatiques par un support de silice à empreintes moléculaires. S. Lordel, F. Chapuis-Hugon, V. Eudes, V. Pichon. Congrès SEP'09, 1-3 décembre 2009, Marseille. **Prix poster**

- Development of a molecularly imprinted silica sorbent for the selective extraction of nitroaromatic explosives. S. Lordel, F. Chapuis-Hugon, V. Eudes, V. Pichon. HTSP & HTC 2010 – International Sympsosium on Hyphenated Techniques for Sample Preparation & Hyphenated Techniques in Chromatography and Hyphenated Chromatographic Analyzers, 26-29 janvier 2010, Bruges, Belgique.

- Development of a molecularly imprinted silica sorbent for the selective extraction of nitroaromatic explosives. S. Lordel, F. Chapuis-Hugon, V. Eudes, V. Pichon. FINEX 2010 - Forensic International Network for Explosives Investigation, 21-23avril 2010, Londres, Grande Bretagne.

- Development of molecularly imprinted silica sorbents dedicated for the selective extraction of nitroaromatic explosives residues in post blast samples. S. Lordel, F. Chapuis-Hugon, V. Eudes, V. Pichon. ANZFSS 2010, 22-25 novembre 2010, Camberra, Australie.

- Supports à empreintes moléculaires pour l'extraction sélective de résidus d'explosifs nitroaromatiques. S. Lordel, F. Chapuis-Hugon, V. Eudes, V. Pichon. Congrès SEP'11, 23-25 mars 2011, Toulouse. **Prix poster**

- Selective extraction of nitroaromatic explosives residues in post blast samples by imprinted sorbents. S. Lordel, F. Chapuis-Hugon, V. Eudes, V. Pichon. FINEX 2011 - Forensic International Network for Explosives Investigation, 4-6 mai 2011, Vienne, Autriche.

- Selective extraction of nitroaromatic explosives residues in post blast samples by molecularly imprinted silica sorbents. S. Lordel, F. Chapuis-Hugon, V. Eudes, V. Pichon. HPLC 2011 - 36th International Symposium on High-Performance Liquid Phase Separations and Related Techniques, 19-23 juin 2011, Budapest, Hongrie

Introduction

Après les nombreux attentats mortels qui ont eu lieu ces dernières années, l'un des objectifs du Laboratoire Central de la Préfecture de Police de Paris est la mise au point de méthodes d'analyse rapides et efficaces de résidus d'explosifs prélevés sur une scène d'attentat afin de pouvoir retrouver la composition de la bombe utilisée, ce qui peut apporter des indices quant à l'origine de la charge et des auteurs de l'attentat. Des méthodes d'analyses conventionnelles sont actuellement utilisées mais l'étape de traitement de l'échantillon permettant de préconcentrer les analytes tout en éliminant au mieux la matrice reste encore problématique compte-tenu de la complexité des échantillons prélevés (résidus calcinés, tissus biologiques…) et des faibles teneurs en explosifs.

L'extraction liquide-liquide a été pendant longtemps la méthode la plus couramment employée pour le traitement de l'échantillon, mais celle-ci est à présent supplantée par l'extraction sur phase solide qui offre une extraction plus rapide avec une consommation réduite en solvants organiques et des rendements d'extraction plus élevés de par la grande diversité des supports d'extraction disponibles qui peuvent donc être adaptés à la nature des composés ciblés. Toutefois, la rétention des analytes sur ces supports repose essentiellement sur la polarité. Ainsi, de nombreux composés interférents de polarité voisine à celle des analytes peuvent être coextraits, ce qui peut gêner leur identification et leur quantification. A cet effet, des supports sélectifs basés sur un mécanisme de reconnaissance moléculaire ont été développés afin de gagner en sélectivité en éliminant une grande majorité d'interférents. Dans ce contexte, une approche intéressante consiste à utiliser des supports polymériques à empreintes moléculaires.

Ces supports imprimés possèdent en fait des cavités ayant une complémentarité stérique et fonctionnelle avec la molécule cible. Leur potentiel lors de leur utilisation comme support d'extraction a déjà été largement démontrée pour des analytes de différentes natures dans des échantillons complexes (environnementaux, alimentaires, fluides biologiques…). Lors de la percolation de l'échantillon suivie de l'étape de lavage, la présence de cavités spécifiques permet de retenir sélectivement les molécules d'intérêts alors que les composés interférents sont éliminés. Cependant, la difficulté principale réside dans le choix des réactifs employés pour réaliser la synthèse du

support et ainsi permettre la formation des cavités grâce à de fortes interactions non covalentes entre le monomère fonctionnel utilisé et la molécule empreinte.

L'objectif de cette étude a été de synthétiser des supports à empreintes moléculaires capables de retenir sélectivement les explosifs organiques appartenant à la famille des explosifs nitrés et prioritairement les nitroaromatiques qui sont parmi les explosifs les plus utilisés, comme le 2,4,6-trinitrotoluène. Cependant, la synthèse de ce type de support pour l'extraction sélective des nitroaromatiques est un véritable challenge en raison de la structure chimique de ces composés qui ne possèdent pas de fonctions chimiques marquées permettant d'orienter facilement la synthèse de tels supports. Cela peut d'ailleurs expliquer que les publications antérieures présentent pour la plupart des supports imprimés pour concevoir des capteurs, le plus souvent en phase gazeuse, et que l'application de ce type de support pour l'extraction sur phase solide post-attentat n'a pas encore été décrite.

Après une étude bibliographique sur l'analyse par chromatographie liquide des explosifs nitrés et sur les différentes techniques d'extraction utilisées pour ces composés, qui fait l'objet du premier chapitre, nous nous sommes intéressés à la synthèse et à la caractérisation de support imprimés, présentées dans le second chapitre. Cette étude bibliographique nous a conduit à étudier la sélectivité de différents polymères à empreintes moléculaires synthétisés par voie radicalaire. Cette première partie, décrite dans le chapitre trois, s'est poursuivie par la modification de la voie de synthèse pour concevoir des supports imprimés, la voie sol-gel. Ces supports à base de silice, présentés dans le chapitre quatre ont été caractérisés et utilisés comme support d'extraction pour des échantillons complexes.

La miniaturisation du dispositif est également un enjeu important actuellement, dans le but de développer des méthodes de terrain capables de donner une réponse rapide sur l'identification des explosifs. Les supports imprimés sont parfaitement adaptés à la miniaturisation car il présente une grande capacité ce qui permet de développer à la fois un couplage en ligne pour une plus grande sensibilité en laboratoire mais également pour une utilisation sur le terrain grâce à la mise en place d'une détection simple et rapide, la détection électrochimique sur puce. Cette étude fait l'objet du dernier chapitre de ce manuscrit.

Chapitre I
Etude bibliographique de l'analyse des résidus d'explosifs

I. 1. Contexte de l'étude

Ces dernières années, le terrorisme est devenu une menace majeure dans de nombreux pays du monde. Le plus souvent, il s'exprime par des attentats à la bombe de grande ampleur qui se sont multipliés partout dans le monde et ont fait de nombreuses victimes dans la population civile. En Europe, les attentats de Londres le 7 juillet 2005 et de Madrid le 11 mars 2004 qui touchent des lieux publics pour faire un maximum de victimes sont encore dans toutes les mémoires. De plus, des attaques à la bombe de lieux ciblés de plus petite ampleur sont de plus en plus courantes. En effet, les actualités récentes relatent de nombreuses explosions qui ont touché les radars automatiques, les distributeurs automatiques de billets et les auteurs de ces actes eux-mêmes, par exemple. Dans la majeure partie des cas, des engins explosifs improvisés, qui comprennent généralement une charge explosive et un système de mise à feu, sont employés. Il existe une large gamme de charges explosives comme des explosifs militaires ou industriels détournés de leur but premier mais également des explosifs issus d'une fabrication artisanale à partir de produits commerciaux.

Le rôle des équipes d'investigations des services de la police technique et scientifique est d'identifier la nature de la charge explosive utilisée après attentat et de reconstituer l'engin explosif. Ces informations servent d'indices dans l'enquête de police pour aider à l'interpellation des auteurs de l'attaque et constituent ensuite une preuve juridique lors du jugement. Le travail nécessaire à l'identification de la charge explosive peut se révéler très délicat selon le type et la composition des prélèvements mais aussi par les très faibles quantités de résidus d'explosif. En revanche, seul un nombre restreint d'explosifs est couramment utilisé et par conséquent recherché prioritairement. En ce qui concerne les explosifs organiques, le 2,4,6-trinitrotoluène est l'explosif le plus retrouvé sur les scènes post-attentats [1] accompagnés d'autres nitroaromatiques ainsi que de nitramines, d'esters nitrés et de péroxydes.

A l'heure actuelle, l'analyse de ces résidus d'explosif reste encore un véritable challenge analytique compte tenu des faibles teneurs recherchées, de la diversité et de la complexité des échantillons (huile de moteur, sang humain, débris calcinés…). En effet, les effets de matrices engendrés lors de l'analyse des échantillons rendent souvent l'identification des explosifs très difficile. Il est donc indispensable d'avoir une méthode d'analyse fiable qui permet l'identification des explosifs en faible concentration dans des matrices variées et souvent très complexes.

De plus, il est aujourd'hui nécessaire de connaître rapidement la composition de la charge explosive utilisée lors d'une attaque car cela constitue un indice important dans la recherche des auteurs des attentats. Pour cela, le développement d'outils analytiques utilisables sur site et permettant d'avoir des résultats, même préliminaires, rapides est primordial. Ces outils analytiques doivent être portables d'où le besoin de les miniaturiser et d'adapter les procédures d'analyses. Cependant, ces systèmes portables doivent être peu consommateurs de l'échantillon pour permettre son analyse en laboratoire par la suite à des fins de confirmation.

I. 2. Structures et propriétés des explosifs étudiés

I. 2. 1. Présentation générale

Avant de présenter les explosifs étudiés, il est nécessaire de définir un certain nombre de notions pour permettre de comprendre l'utilisation des explosifs lors d'attaques à la bombe, comme évoquée précédemment. Tout d'abord, l'explosif est un corps ou un mélange de corps apte à subir une réaction chimique ou un changement d'état très rapide entraînant un dégagement violent de gaz et de vapeurs à haute température [1]. Cette variation brutale de la température conduisant à une augmentation quasi-instantanée de la pression constitue l'explosion. Cela crée alors une onde de choc, pouvant causer des dommages très importants et parfois très étendus sur l'environnement autour de la charge. Certains produits contiennent tous les éléments nécessaires pour obtenir une réaction chimique interne rapide et exploser. Ceux-ci appartiennent à la famille des produits explosifs qui sont utilisés pour leurs propriétés explosives tels que les poudres propulsives, les propergols, les explosifs et les compositions pyrotechniques. Les autres substances sont des molécules dont le but premier n'est pas de créer une explosion.

Les poudres et les propergols ont des vitesses de réaction plutôt faibles, de quelques centimètres à quelques centaines de mètres par seconde, ils sont donc utilisés pour la propulsion de projectiles ou de roquettes. Avec de telles vitesses de réaction, le transfert thermique est plus rapide que la réaction chimique, cela correspond à une déflagration. Les explosifs ont, au contraire, des vitesses de réaction qui s'élève à quelques kilomètres par seconde entraînant une détonation. La réaction chimique est donc cette fois plus rapide que le transfert thermique, ce qui entraîne la formation de l'onde de choc dans le produit lui-même. Cette dernière se développe alors dans l'atmosphère, ce qui a des effets brisants dévastateurs. Lors d'attentats, la nature des explosifs et leurs proportions sont choisies en fonction des effets destructeurs souhaités [2].

La majorité des molécules explosives contiennent de l'oxygène, de l'azote ou des éléments oxydables comme le carbone et l'hydrogène. D'ailleurs l'oxygène est très souvent lié à l'atome d'azote et s'en détache durant la réaction chimique. La chaleur produite par la réaction est alors la différence entre l'énergie nécessaire pour casser les liaisons et celle pour en former de nouvelles qui sont le plus souvent des gaz tels que le dioxyde de carbone (CO_2), le dioxygène (O_2), le diazote (N_2) et la vapeur d'eau, parfois accompagnés de résidus de charbon [2].

L'utilisation du premier explosif remonte à plusieurs siècles avant J.-C. avec la poudre noire. Celle-ci, composée de salpêtre, de soufre et de charbon de bois, a été le seul explosif utilisé jusqu'au XVIII^{ème} siècle. A partir du milieu du XIX^{ème} siècle, de nombreux composés firent leur apparition en tant qu'explosif. En 1846, c'est la nitrocellulose qui fut synthétisée et l'année suivante, on découvrit la nitroglycérine. Cette dernière entre alors dans la composition de la dynamite mise au point par Alfred Nobel en 1867. Par la suite, ce sont les explosifs militaires qui furent développés par les pays occidentaux et ce jusqu'au milieu du XX^{ème} siècle [3].

Il existe de nombreuses molécules utilisées aujourd'hui dans le but de fabriquer une charge explosive. Celles-ci sont réparties en deux catégories : les explosifs primaires et les explosifs secondaires. Les explosifs primaires sont très sensibles aux actions extérieures, et avec un petit stimulus ils prendront le régime de détonation stable alors que les explosifs secondaires ne subiront qu'une déflagration. En effet, ces derniers sont des composés en général plus stables qui nécessite une incitation mécanique ou calorifique pour produire leur détonation [3]. C'est pour cela que les bombes contiennent ces deux types de composés : les explosifs primaires vont servir à

la mise à feu et au moment de leur détonation, l'onde de choc produite va permettre d'entraîner la détonation des explosifs secondaires souvent plus puissants et majoritairement présents. Parmi les explosifs primaires, il y a le fulminate, l'azoture, le styphnate… Parmi les explosifs secondaires, il existe trois grandes familles de composés nitrés particulièrement intéressantes : les nitroaromatiques, les nitramines et les esters nitrés [2] qui sont présentés Figure I. 1.

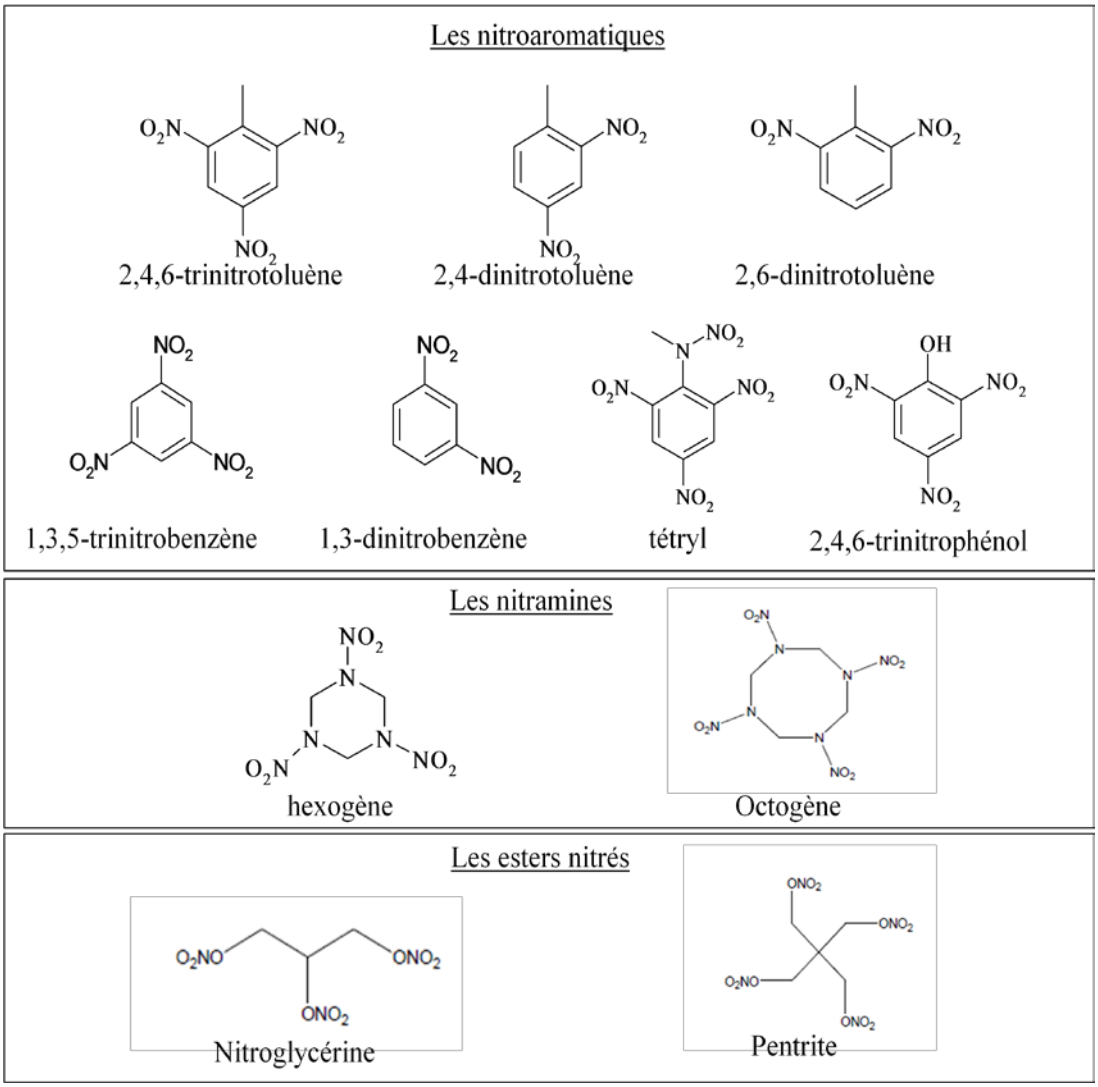


Figure I. 1. : Structures des principaux explosifs nitrés.

Ces composés possèdent tous des fonctions nitro qui permettent une libération très facile des atomes d'oxygène. Cependant, selon les familles leur structure est très différente. En effet, selon la famille de l'explosif nitré, le groupement nitro est soit lié à un carbone du cycle aromatique, soit lié à un azote de l'hétérocycle, soit lié à un

oxygène en bout de chaîne carbonée ce qui correspond aux nitroaromatiques, aux nitramines et aux esters nitrés respectivement.

Cette étude s'est focalisée sur la mise au point d'un procédé analytique des explosifs nitrés car les explosifs organiques les plus utilisés au cours d'attentat font partis de cette classe. Il est donc indispensable d'avoir des procédés analytiques fiables permettant de les identifier. De plus, ce sont des explosifs secondaires très utilisés dans le domaine militaire et industriel, il est donc plus facile de s'en procurer. Une des caractéristiques de ces explosifs est leur combustion incomplète se faisant sans apport d'oxygène atmosphérique, ce qui a un effet très destructeur car ils libèrent leur énergie quasi-instantanément. En revanche, seules des traces de ces composés n'ayant pas subit l'explosion sont retrouvées après un attentat ce qui constitue une des grandes difficultés de leur identification.

I. 2. 2. Les nitroaromatiques

I. 2. 2. 1. *Le 2,4,6-Trinitrotoluène et ses intermédiaires de formations*

Le 2,4,6-trinitrotoluène (2,4,6-TNT), également appelé tolite, a été préparé pour la première fois en 1863 par Wilbrand et a été fabriqué en Allemagne à partir de 1891, à l'initiative de Haussermann, à l'échelle industrielle comme alternative à l'acide picrique présenté par la suite (cf. I. 2. 2. 2). Le 2,4,6-TNT a rapidement été adopté par la plupart des armées au cours de la première guerre mondiale en raison de sa facilité de mise en œuvre.

Ce composé résulte de la nitration du toluène, lui-même issu de la distillation du pétrole. Le procédé de nitration par substitution électrophile aromatique requiert l'utilisation d'acide nitrique et d'acide sulfurique anhydre à très haute température pour former l'ion nitronium, puissant électrophile [4-6]. En effet, l'acide sulfurique protone l'acide nitrique, qui après élimination d'eau, forme cet ion nitronium. Ce dernier va ainsi pouvoir réagir sur les électrons π délocalisés du noyau aromatiques. La présence du groupement méthyle (CH_3) sur le noyau aromatique va orienter et faciliter cette nitration grâce à son caractère électrodonneur. Les différentes étapes de la mononitration du toluène sont illustrées Figure I. 2.

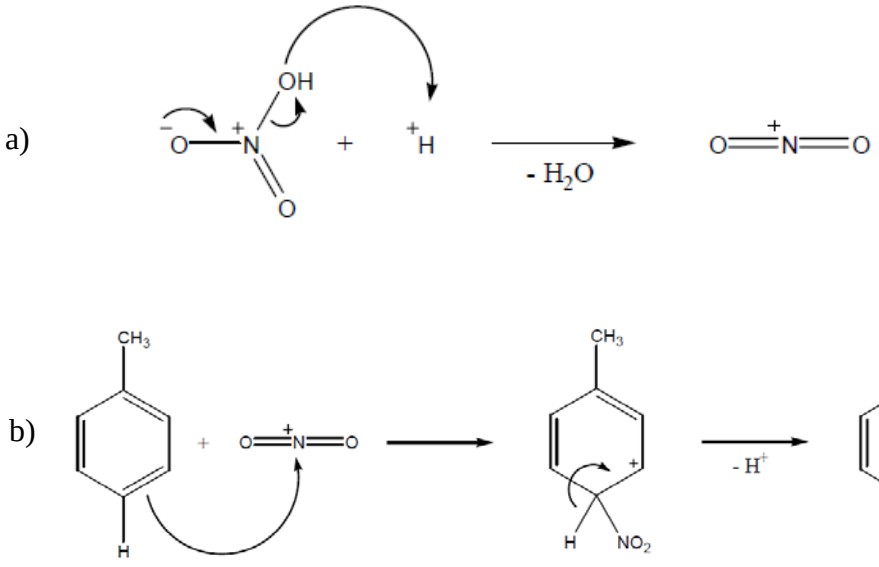


Figure I. 2. : Mécanisme de nitration, (a) formation d'un ion nitronium et (b) mononitration du toluène (adapté de [2]).

La mononitration permet d'obtenir majoritairement l'orthonitrotoluène (2-NT, 59,2%) et le paranitrotoluène (4-NT, 36,1%). Le métanitrotoluène (3-NT, 4,7%) est considéré comme une impureté car il ne permet pas d'obtenir par la suite le 2,4,6-TNT. Le groupement nitro (NO_2) attracteur d'électrons, désactivent le noyau aromatique, la suite de la réaction est donc de plus en plus lente. La dinitration va permettre d'obtenir majoritairement les 2,4-dinitrotoluène (2,4-DNT, 75,6%) et 2,6-dinitrotoluène (2,6-DNT, 19,7%) car le groupement nitro oriente en méta. Enfin, la trinitration permet d'obtenir le 2,4,6-TNT à partir des dinitrotoluènes précédents. Ces derniers ne sont pas totalement consommés lors de cette étape et sont donc souvent présents dans des charges explosives à base de 2,4,6-TNT. De plus, ils ont également des propriétés explosives et peuvent donc être utilisés en tant que tel. Cependant, ils sont rarement employés seuls mais plutôt dans des mélanges comme certaines poudres propulsives. La Figure I. 3 présente tous les composés obtenus lors de la formation du 2,4,6-TNT.

Le 2,4,6-TNT, comme les nitroaromatiques en général, est un composé très stable vis-à-vis de la température. Ce composé est également stable en milieu aqueux, en milieu acide et en milieu alcalin doux. Cependant, il donnera des complexes colorés instables en présence de base forte [1, 4, 7] à cause de la présence des groupements nitro qui sont attracteurs d'électrons [5]. Il a l'avantage d'être un explosif peu sensible aux contraintes extérieures tels que le choc ou la friction et nécessitera un explosif primaire

pour détoner. Il est d'ailleurs intéressant de remarquer que le 2,4,6-TNT est utilisé pour flegmatiser, c'est-à-dire rendre moins sensible, certains explosifs secondaires plus sensibles comme l'hexogène (RDX) ou l'octogène (HMX). Ainsi les propriétés du 2,4,6-TNT, notamment en terme de stabilité, en font la molécule explosive la plus utilisée au monde, notamment, c'est le produit de base de la plupart des chargements militaires, que ce soit pur ou en mélange, car sa température de fusion peu élevée permet de le couler facilement dans les munitions.

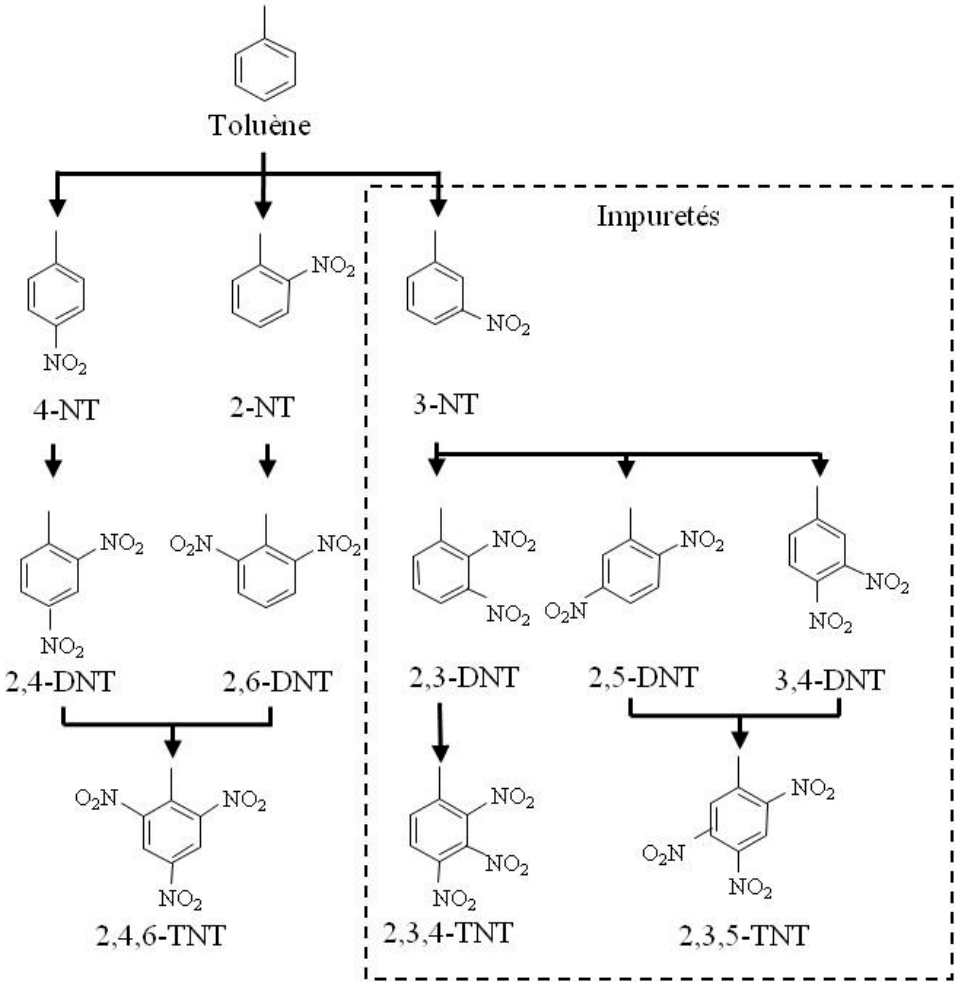


Figure I. 3. : Produits formés à partir de la nitration du toluène (adapté de [2]).

I. 2. 2. 2. *Le 2,4,6-Trinitrophenol*

Le 2,4,6-Trinitrophenol (acide picrique, acide carbo-azotique ou encore mélinite) a été découvert en 1771 par Peter Woulfe lorsqu'il fit réagir de l'acide nitrique sur l'indigo. En 1873, Sprengel fait détonner le 2,4,6-trinitrophénol (2,4,6-TNP) qui

entre ainsi dans la famille des explosifs alors qu'il était considéré jusque là comme inoffensif. Cet explosif a été très utilisé pendant la 1ère guerre mondiale surtout pour remplir des obus, le remplissage étant facilité par un large écart entre sa température de fusion et sa température de décomposition, assurant la sécurité des opérateurs. Cet explosif peut être fabriqué à partir du chlorobenzène ou du phénol.

I. 2. 2. 3. *Les nitrobenzènes*

Le 1,3,5-trinitrobenzène (1,3,5-TNB) est un explosif plus puissant que le 2,4,6-TNT grâce à un bilan d'oxygène plus élevé. Cependant, il coûte plus cher à produire puisqu'il est le plus souvent fabriqué à partir de ce dernier. En effet, pour obtenir le 1,3,5-TNB, le 2,4,6-TNT est oxydé par l'acide chromique en l'acide 2,4,6-benzoïque qui est ensuite décarboxylé. D'autres méthodes de synthèse sont également possibles mais il ne peut être obtenu directement à partir du benzène. Son coût plus élevé que celui du 2,4,6-TNT en fait un explosif moins employé.

Le 1,3-Dinitrobenzène (1,3-DNB) est fabriqué quant à lui par nitration du benzène en présence d'un mélange d'acide fort. Cette réaction aboutit également à l'obtention de deux produits secondaires, le 1,4-dinitrobenzène (1,4-DNB) et le 1,2-dinitrobnzène (1,2-DNB). Moins oxygéné que le 1,3,5-TNB, il est donc moins puissant que celui-ci et est moins employé également.

I. 2. 2. 4. *Le tétryl*

Le tétryl (Ty), ou 2,4,6,N-tétranitrométhylaniline, a été synthétisé pour la première fois en 1877 par Mertens et a été utilisé comme explosif à partir de 1906. Ce composé est en réalité à la fois un nitroaromatique et une nitramine puisqu'il possède à la fois des liaisons C-NO_2 et N-NO_2. Le tétryl est fabriqué par oxydation d'un méthyle et trinitration du noyau benzénique de la diméthylaniline en présence d'acide nitrique et d'acide sulfurique concentré.

Ce composé s'hydrolyse lentement et n'est pas stable en milieu alcalin. De plus, sa faible stabilité thermique (décomposition à partir de 100°C) en fait un explosif plus sensible que les précédents. C'est pour cela qu'il a surtout été utilisé en association avec d'autres explosifs ou en tant que détonateur [1]. Il est moins employé à l'heure actuelle

mais ce fut l'un des explosifs les plus utilisés au début du 20ème siècle après le 2,4,6-TNT, c'est pourquoi il est souvent recherché dans les eaux et les sols.

I. 2. 3. Les nitramines

Les nitramines les plus fréquemment rencontrées et donc principalement recherchées dans les échantillons post-attentats sont le RDX et le HMX.

Le RDX (cyclotriméthylènetriamine ou cyclonite ou, plus couramment, héxogène) a été découvert pour un usage médical par Friedrich Henning en 1899 et son pouvoir explosif n'a été reconnu qu'en 1920 par Herz qui l'a synthétisé par nitration directe de l'héxamine. Compte tenu du coût élevé de cet explosif, il est principalement utilisé dans des charges militaires.

Quant au HMX (*High Melting point eXplosive*, également appelé cyclotétraméthylènetétramine ou octogène), il a été isolé accidentellement comme sous-produit de réaction lors de la synthèse du RDX en 1940 par W. E. Bachmann. Il a fallut trois ans pour élucider sa structure et mettre au point sa synthèse en adaptant la synthèse du RDX. Le HMX est maintenant synthétisé par action de l'acide nitrique concentré sur l'hexamine en présence de nitrate d'ammonium et d'acide acétique concentré.

Ce dernier explosif fait partie de la liste des explosifs non nucléaires les plus puissants répertoriés en 2008. Il est cependant très peu utilisé dans le civil car il est très cher et reste donc un explosif militaire pour des missiles ou des bombes performantes.

I. 2. 4. Les esters nitrés

Dans la famille des esters nitrés, il y en a également deux qui sont recherchés prioritairement, ce sont la nitroglycérine et la pentrite.

La nitroglycérine (NG, ester trinitrique de glycerol ou trinitrate de glycerol ou trinitrine) a fait son apparition en 1847 grâce au chimiste italien, Sobrero, qui lui reconnaît des propriétés explosives permettant son utilisation dans les mines. C'est Alfred Nobel, qui permettra l'utilisation industrielle de la nitroglycérine, 20 ans après sa découverte en montrant qu'il était possible de faire infuser la nitroglycérine par une terre d'infusoire aussi appelée terre diatomée (à base de silice), le kieselghur. Il

obtiendra ainsi la « dynamite guhr » pour réduire la sensibilité de la nitroglycérine et permettre ainsi son transport. La NG est synthétisée par la nitration de la glycérine par ajout d'acide sulfurique et nitrique. La stabilité à la chaleur de la NG est limitée puisqu'elle se décompose dès 70°C. De plus, elle n'est pas stable en milieu acide. Elle est peu utilisée à l'état pur à cause de sa trop grande sensibilité mais elle reste néanmoins employée sous forme de dynamite ou dans des mélanges civils.

Le deuxième ester nitré souvent recherché est le PETN (tétranitrate de pentaérythrol ou pentrite). Il a été découvert bien plus tard lorsque les recherches pour trouver de nouvelles molécules explosives se sont beaucoup développées après la première guerre mondiale. Ce composé est obtenu par la nitration du pentaérythritol, un tétra-alcool, en présence d'acide nitrique et de l'acide sulfurique concentré ou uniquement d'acide nitrique concentré. Le PETN est un explosif qui est peu stable à la chaleur. Il est stable en milieu alcalin et s'oxyde en milieu acide c'est pourquoi la concentration en acide nitrique doit être maîtrisée lors de sa fabrication. Ce composé est considéré comme très sensible notamment aux chocs mais il reste tout de même moins sensible et plus stable que la NG et les autres composés de cette famille chimiques. Enfin, cet explosif est très puissant car il est peu sous-oxygéné et va donc former peu de résidu lors de sa combustion.

Les propriétés du PETN en font un explosif couramment utilisé dans l'industrie ainsi que dans des charges militaires dans lesquelles il est souvent associé à d'autres explosifs secondaires dans le but de transmettre la détonation de l'explosif primaire à la charge principale.

I. 2. 5. Propriétés physicochimiques des explosifs ciblés

Les explosifs présentés sont couramment utilisés pour diverses applications dont les attentats à la bombe ou les usages militaires et industriels. Selon le bilan en oxygène de la molécule ceux-ci sont plus ou moins puissants. Cependant, le choix de l'explosif utilisé dépend également de sa facilité de production, c'est pourquoi le 2,4,6-TNT est le plus utilisé de tous pour perpétrer des attentats alors qu'il n'est pas le plus puissant.

L'ensemble de ces explosifs fait l'objet de nombreuses études car ce sont les plus rencontrés après attentat, dans les eaux ou les sols, ce qui est dû à leur utilisation militaire ou industrielle. Pour cela, la connaissance des propriétés physico-chimiques

des explosifs organiques est importante. Certaines de ces propriétés sont présentées dans le Tableau I. 1.

Tableau I. 1. : Propriétés physico-chimiques des explosifs organiques usuels.

famille	nom	abréviation	M (g/mol)	Log P	Solubilité dans l'eau (mg/L)
nitroaromatiques	2,4,6-trinitrotoluène	2,4,6-TNT	227,13	1,60	130
	2,4-dinitrotoluène	2,4-DNT	182,15	1,98	270
	2,6-dinitrotoluène	2,6-DNT	182,15	2,10	206
	1,3,5-trinitrobenzène	1,3,5-TNB	213,11	1,18	34
	1,3-dinitrobenzène	1,3-DNB	168,11	1,49	460
	2,4,6-trinitrophénol	2,4,6-TNP	229,10	1,10	14000
	tétryl	Ty	287,15	1,64	80
nitramines	héxogène	RDX	222,12	0,87	42
	octogène	HMX	296,16	0,82	5
Esters nitrés	nitroglycérine	NG	227,09	1,62	1500
	pentrite	PETN	316,14	2,38	43

Ce sont donc des composés polaires à moyennement polaires puisque leur coefficient de partage octanol-eau (P_{oct}) couvre une gamme allant de 0,8 à 2,4 en unité logarithmique. Cette polarité se traduit aussi par une solubilité dans l'eau très variable et comprise entre 5 et 14000 mg/L. Cependant, si en général, une faible solubilité dans l'eau est associée à un caractère plutôt hydrophobe, dans le cas des explosifs présentés, la solubilité et la polarité des analytes n'évoluent pas dans le même sens. Par exemple, le composé le plus polaire, le HMX, est celui dont la solubilité dans l'eau est la plus faible à cause de son importante énergie de réticulation. Les explosifs nitrés sont solubles dans les solvants organiques relativement polaires tels que l'acétone, le méthanol (MeOH) et l'acétonitrile (ACN). A ces propriétés s'ajoute une gamme assez

large de volatilité allant de $3{,}3.10^{-14}$ à $4{,}8.10^{-2}$ Torr. Les esters nitrés et les nitroaromatiques légers sont plutôt volatils avec des pressions de vapeurs inférieures à $1{,}0.10^{-5}$ Torr, ces composés auront alors tendance à disparaître rapidement de la surface des débris.

Il est donc nécessaire de tenir compte de l'ensemble de ces paramètres lorsqu'une procédure d'analyse doit être mise au point pour qu'elle soit fiable et ainsi permettre de déterminer la présence de ces explosifs dans des échantillons complexes et variés.

I. 3. Analyses chromatographiques des composés ciblés

L'analyse d'échantillons contenant des explosifs organiques a été largement étudiée, mais essentiellement sur des échantillons environnementaux provenant de cours d'eau, d'eaux souterraines ou de sols. En effet, peu de travaux ont été réalisés sur des échantillons post attentats. De plus, l'analyse des explosifs organiques, dont les nitroaromatiques, les nitramines et les esters nitrés, a été réalisée à l'aide de différentes techniques séparatives telles que la chromatographie en phase gazeuse (GC) [8-22], la chromatographie en phase supercritique [23-24] ou l'électrophorèse capillaire (EC) [25-29]. Cependant, la technique la plus utilisée pour ces composés reste la chromatographie en phase liquide (LC). En effet, la LC présente l'avantage de permettre l'analyse de l'ensemble des composés ciblés ce qui est difficile en GC en raison de la faible volatilité des nitramines et de la décomposition thermique des esters nitrés. C'est donc cette méthode qui a retenu notre attention.

I. 3. 1. Chromatographie liquide haute performance

Les explosifs nitroaromatiques, les nitramines et les esters nitrés sont des composés moyennement polaires, ils peuvent donc être analysés et séparés par chromatographie de partage normal ou inverse suivant la nature de l'échantillon à analyser. Cependant, la majorité des séparations s'effectuent en mode inverse ce qui permet de limiter l'utilisation de solvants chlorés et d'associer aisément une détection par spectrométrie de masse [30]. Le Tableau I. 2 récapitule les conditions d'analyses reportées dans la littérature, accompagnées de la liste des explosifs sur lesquels porte la

séparation. L'ensemble des travaux présente des analyses chromatographiques de nitroaromatiques auxquels s'ajoutent souvent les nitramines et parfois les esters nitrés. Cependant, peu d'études ciblent l'ensemble des composés appartenant à ces trois familles simultanément, puisque ce sont des composés de polarité proches qui sont donc difficiles à séparer. Dans la plupart des cas, l'analyse est réalisée à l'aide d'une colonne en silice greffée C18 [31-43], mais des alternatives ont également été envisagées, devant la difficulté d'obtenir une bonne séparation. En effet, l'ajout d'une précolonne greffée cyanopropyle (CN) en amont de la colonne C18 [44-45] ou l'utilisation d'autres colonnes de chromatographie en phase inverse comme des colonnes C8 [46-48], phényle [49], cyanopropyle [50], amide [51] et de carbone graphite poreux (PGC ou Hypercarb) [52-56] a en effet également été testée.

Tableau I. 2. : Analyses des nitroaromatiques, des nitramines et/ou des esters nitrés par chromatographie liquide, A, B et C présentent les mélanges de solvant pour chaque voie lors de l'application d'un gradient de mélanges.

Analytes	Type de colonne	Phase mobile	détection	ref
RDX, HMX, 1,3-DNB, 1,3,5-TNB, 2,4,6-TNT, 2,4-DNT, 3,4-DNT**,** 4ADNT	C18 (Discovery, 250 x 4,6 mm, 5µm)	Eau/MeOH	UV (254 nm)	[31]
RDX, HMX, 2,6-DNT, 1,3-DNB, 2,4-DNT, 2,4,6-TNT, 1,3,5-TNB, Ty, 2-NT, 3-NT, 4-NT, NB**,** 4ADNT, 2ADNT	C18 (Supelcosil, 250 x 4,6 mm, 5µm)	Eau/MeOH	UV (254 nm)	[32]
RDX, HMX, 1,3-DNB, 1,3,5-TNB, Ty, 2,4,6-TNT , 2,4-DNT, 2,6-DNT 4ADNT, 2ADNT, NB	C18 (Purospher, 150 x 4,6 mm, 5µm)	Eau/MeOH	UV (254 nm)	[33]
RDX, 2,4,6-TNT , 2,4-DNT, 1,3,5-TNB, 2-NT, 3-NT, 4-NT	C18 (Supelco, 250 x 4,6 mm, 5µm)	Eau/MeOH	UV (240 nm)	[34]
RDX, HMX, 1,3,5-TNB, 1,3-DNB, Ty, 2,4,6-TNT , 2,4-DNT, 2,6-DNT, NB, 4ADNT, 2ADNT, 2-NT, 3-NT, 4-NT	C18 (SelectaPore, 250 x 4,6 mm, 5µm)	tampon acétate/MeOH	UV (240 nm) PAED	[35]

Analytes	Type de colonne	Phase mobile	détection	ref
RDX, 2,4,6-TNT, **2,6-DNT, 1,3-DNB, 2,4-DNT,** 2ADNT, 4ADNT, 2,4-DA6NT, 2,6-DA4NT, 1,4-DNB, 4A2NT, NB, 1,2-DNB**,** 2-NT, 3-NT, 4-NT, 2,3-DNT, 3,4-DNT, 2A4-NT	RP18 (LichroSpher 100, 250 x 4,6 mm, 5µm)	A : eau B : MeOH avec ou sans THF	UV (240 nm)	[36]
RDX, HMX, 1,3-DNB, 1,3,5-TNB, Ty, 2,4,6-TNT, **2,6-DNT, 2,4-DNT,** 4ADNT**,** 2ADNT**,** 2-NT, 3-NT, 4-NT	C18 (Spherisorb-ODS2, 250 x 4 mm, 5µm)	Eau/MeOH	UV (254 nm)	[37]
HMX, RDX, 1,3,5-TNB, 1,3-TNB, **Ty, 2,4,6-TNT, 2,6-DNT, 2,4-DNT**, NB, 4ADNT, 2ADNT, 2-NT, 3-NT, 4-NT	C18 (Vydac, 250 x 4,6 mm, 5µm)	MeOH/ACN/ tampon acétate	UV (254 nm) PAED	[38]
2,4,6-TNT et ses isomères**, 2,6-DNT, 2,4-DNT, 1,3-DNB, 1,3,5-TNB,** 1,2-DNB, 3,4-DNT, 2,5-DNT	C18 (Allure, 150 x 3,2 mm, 5 µm)	Eau/MeOH ou eau/IPA/MeOH	MS MS^2 (APCI)	[39]
2,4,6-TNT, Ty, 1,3,5-TNB,1,3-DNB, 2,4-DNT, 2ADNT, 4ADNT, 2-NT, 3-NT, 4-NT	C18 (Grace Vydac, 250 x 2,1 mm)	Eau/MeOH	MS (APPI)	[40]
HMX, RDX, NG, PETN, 2,4,6-TNT, 2,4-DNT, 2,6-DNT	C18 (Zorbax ODS, 250 x 4,6 mm, 5 µm)	1-propanol acetate de sodium /acide monochloroacétique	ED	[41]
HMX, RDX, 1,3,5-TNB, 2,4-DNT,2,6-DNT, 2,4,6-TNT, 1,3-DNT, 2,4-DNBA, 2,4-DNP, 2A6NT, 3,5-DNP,2ADNT, 4ADNT, 3,5-DNT, Hexyl	C18 (Symmetry, 150 x 4,6 mm, 5µm)	A : Eau B : ACN	UV MS MS^2 (ESI)	[42]

Analytes	Type de colonne	Phase mobile	détection	ref
RDX, HMX, 2,4,6-TNT, 2,6-DNT, 1,3,5-TNB, 2,3-DNT, 2ADNT, 4ADNT, 2-NT, 3-NT, 4-NT, 1,4-DNB, NB	C18 (Supelcosil LC-PAH, 150 mm, 5µm)	ACN/phosphate + 18 mM de SDS	ED	[43]
HMX, RDX, 1,3,5-TNB, Ty, 1,3-DNB, 2,4,6-TNT, 2,6-DNT, 2,4-DNT, 4ADNT, NB, 2ADNT, 2-NT, 3-NT, 4-NT	CN - C18 (Res-Elut, 30 x 4,6 mm - Bondesil, 250 x 4,6 mm, 5µm)	Eau/MeOH	UV (254 nm)	[44]
HMX, RDX, 1,3,5-TNB, Ty, 1,3-DNB, 2,4,6-TNT, 2,4-DNT, 2,6-DNT, NB**,** 4ADNT, 2ADNT, 2-NT, 3-NT, 4-NT	CN - C18 (Bondesil, 30 x 4,6 mm – 250 x 4,6 mm)	Eau/MeOH	UV (254 nm)	[45]
2,4,6-TNT, 2,6-DNT, 2,4-DNT, 2,5-DNT, 3,5-DNT, 3,4-DNT, 4ADNT, 2ADNT	C8 (Supelcosil, 250 x 4,6 mm, 5 µm)	Eau/IPA	UV (254 nm)	[46]
HMX, RDX, NG, PETN, 2,4,6-TNT, Ty, 2,4,6-TNP, 2,4-DNT	C8 (Zorbax, 250 x 4,6 mm)	MeOH/eau/acetate d'ammonium	MS	[47]
HMX, RDX, 1,3,5-TNB, 1,3-DNB, Ty, 2,4,6-TNT, 2,4-DNT, 2,6-DNT, NB**,** 2ADNT, 4ADNT**,** 2-NT, 3-NT, 4-NT	C8 (Supelcosil, 150 x 4,6 mm, 5 µm)	A : MeOH B : tampon phosphate	UV (220-370 nm)	[48]
1,3,5-TNB, 1,3-DNB, TNT, Ty, 2,4-DNT, NB, 2-NT, 4-NT, 3-NT, 4ADNT, 2ADNT	Amide (Ascentis, 150 x 4,6 mm, 5 µm)	Eau/MeOH	UV (254 nm)	[51]
HMX, RDX, PETN, 2,4,6-TNT, 2,4-DANT, 2,6-DANT**,** , 4ADNT, 2ADNT	CN (250 x 4 mm)	Eau/MeOH	UV (225 nm)	[50]
HMX, RDX, NG, PETN, Ty, 2,4,6-TNT, 2,4-DANT, 2,6-DANT, 4ADNT, 2ADNT	Phenyl (Xbridge, 150 x 2,1 mm, 3,5 µm)	A : Eau B : MeOH/acétate d'ammonium	MS^2 (ESI)	[49]

Analytes	Type de colonne	Phase mobile	détection	ref
HMX, RDX, NG, PETN, 1,3,5-TNB, 1,3-DNB, Ty, **2,4,6-TNT, 2,4-DNT, 2,6-DNT**, NB**,** 4ADNT, 2ADNT**,** 2-NT, 3-NT, 4-NT, 3,5-DNA	1) C18 ou C8 2) CN ou phenyl-Hexyl (250 x 4,6 mm, 5µm, exceptée la C8 en 150 x 3,9 mm, 4µm)	Eau/MeOH exceptée la C8 en IPA/eau	UV (210 et 254 nm)	[57]
RDX, **HMX, 2,4,6-TNP, 1,3-DNB, 1,3,5-TNB, 2,4-DNT, 2,6-DNT, 2,4,6-TNT, Ty**, 4A2NT, 2A6NT, 2A4NT, 2ADNT**,** 4ADNT, 2NT, 4-NT, 3-NT	1) SB-C18 2) SB-CN (Zorbax, 150 x 2,1 mm, 5µm)	A : eau/ACN (5/95) B : NH_4TFAc à 5mM/ACN (95/5)	UV (240 ou 360 nm)	[58]
RDX, HMX, 1,3-DNB, 2,4,6-TNT , 2,4-DNT, 1,3,5-TNB, Ty, 2ADNT, 2-NT, 3-NT, 4-NT	1) LC-C18 (250 x 4,6 mm, 5µm) 2) LC-C8/LC-CN	1) Eau/MeOH (50/50) 2) Eau/MeOH/ THF (70,7/27,8/1,5)	UV	[59]
1,3-DNB, **2,4,6-TNT, 1,3,5-TNB, 2,4-DNT**, **2,6-DNT**, 1,2-DNB, 1,4-DNB, 2,3-DNT**,** 2,5-DNT, 3,4-DNT, 3,5-DNT	PGC (hypercarb, 100 x 4,6 mm, 5 µm)	A : eau (3mM TFA, 3mM TEA) B : ACN/IPA (90/10, 3mM TFA, 3mM TEA)	UV (254 nm)	[52]
1,3-DNB, **2,4-DNT**, **2,6-DNT**, **2,4,6-TNT, 1,3,5-TNB,** 1,2-DNB, 1,4-DNB, 2,3-DNT**,** 2,5-DNT, 3,4-DNT, 3,5-DNT,	PGC (hypercarb,100 x 4,6 mm, 5 µm)	A : eau/ACN/ MeOH (50/40/10) B : MeOH/ACN/ Tol (73/25/2)	MS^2 (APCI)	[53]
HMX, RDX, PETN, 1,3-DNB, **2,4-DNT**, **2,6-DNT**, **2,4,6-TNT**, **1,3,5-TNB, Ty,** 1,2-DNB, 1,4-DNB, 2,3-DNT**,** 2,5-DNT, 3,4-DNT, 3,5-DNT**,** HNS, 4ADNT, 2ADNT, 2,4-DA6NT, 2,6-DA4NT	PGC (hypercarb, 250 x 4,6 mm, 5 µm)	A : eau/MeOH/ ACN/DCM (49,5/9,9/39,6/ 1,0) B : MeOH/ACN/ Tol (73/25/2) C : ACN/Tol (25/75)	MS (APCI) UV	[54]

Analytes	Type de colonne	Phase mobile	détection	ref
HMX, RDX, PETN, 1,3,5-TNB, Ty, 2,4,6-TNT, 1,3-DNB, 1,2-DNB, 1,4-DNB, 2ADNT, 4ADNT, 2,4-DA6NT, 2,6-DA4NT, 3,5-DNT	PGC (hypercarb, 100 x 3 mm, 5 µm)	A : eau/ACN/MeOH (50/40/10) B : MeOH/ACN/Tol (73/25/2)	MS (APPI)	[55]
RDX, HMX, NG, PETN, **2,4,6-TNT, 1,3,5-TNB, Ty, 2,6-DNT, 2,4-DNT**, **1,3-DNB**, 1,2-DNB, 1,4-DNB, 2,3-DNT, 2,5-DNT, 3,4-DNT, 3,5-DNT	PGC (hypercarb, 150 x 2,1 mm, 5 µm)	A : formiate d'ammonium 1 mM/ACN (70/30) B : ACN/IPA (40/60)	MS (APCI)	[56]

(2,4-DANT : 2,4-diaminonitrotoluène, 2,4-DNBA : acide 2,4-dinitrobenzoïque, 2,4-DNP : 2,4-dinitrophénol, 2,6-DANT : 2,6-diaminonitrotoluène, 2A4NT : 2-amino-4-nitrotoluène, 2A6NT : 2-amino-6-nitrotoluène, 2ADNT : 2-amino-4,6-dinitrotoluène, 3,5-DNA : 3,5-dinitroaniline, 3,5-DNP : 3,5-dinitrophénol, 4A2NT : 4-amino-2-nitrotoluène, 4ADNT : 4-amino-2,6-dinitrotoluène, APCI : ionisation chimique à pression atmosphérique, APPI : photoionisation à pression atmosphérique, DCM : dichlorométhane, ED : detection électrochimique, ESI : electrospray, HNS : 1,3,5-Trinitro-2-[2(2,4,6-trinitrophenyl)-vinyl]benzene, IPA : isopropanol, MS : spectrométrie de masse, MS^2 : spectrométrie de masse en tandem, NB : nitrobenzène, NH_4TFAc : trifluoroacétate d'ammonuim, PAED : détection électrochimique photoassistée, Ref : référence, SDS : Dodécysulfate de sodium, TEA : détecteur à chimiluminescence, THF : tétrahydrofurane, Tol : toluène, UV : ultraviolet)

Ces travaux témoignent de l'utilisation de colonnes de différentes longueurs (150 à 250 mm) et de différents diamètres (de 2,1 à 4,6 mm) sans que ces différentes dimensions n'aient été comparées en termes de pouvoir séparatif et de sensibilité. La phase mobile employée est le plus souvent composée d'un mélange eau/MeOH (50/50, v/v) ou de composition proche [31-37, 39-40] pour séparer différents nitroaromatiques, le RDX et parfois le HMX. Certaines de ces études sont réalisées en limitant le nombre d'isomères de position des NT, des DNT et des DNB [31] et il n'est pas possible de savoir si les conditions seraient adaptées à leur séparation. Lorsque la liste des analytes s'allonge avec l'ajout des isomères de position ou des esters nitrés notamment, il devient difficile de séparer l'ensemble des composés. En effet, la séparation des isomères est complexe sur C18 comme le montre la Figure I. 4.

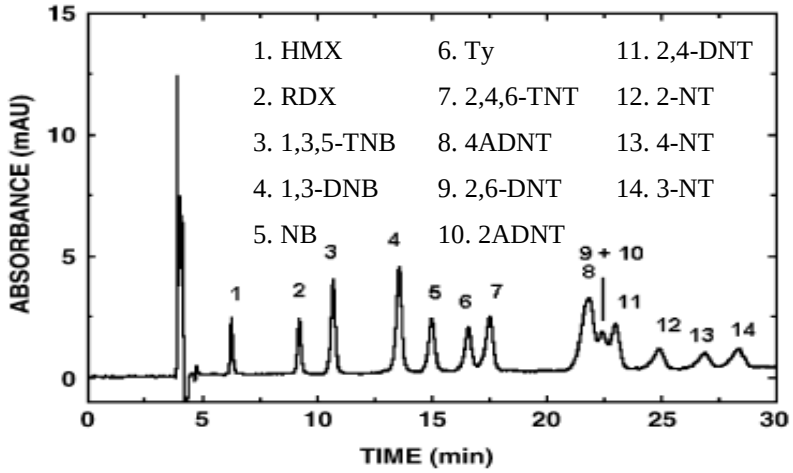


Figure I. 4. : Chromatogramme UV de composés étalons séparés sur colonne SelectaPore C18 (250 x 4,6 mm, 5 µm) avec une phase mobile eau/MeOH (50/50, v/v) [35].

L'utilisation de colonnes de grandes dimensions avec des phases de silice greffée C18 de chimie particulière ou un taux de greffage important, permet dans certains cas de séparer avec une résolution satisfaisante les isomères du DNT [36-37, 40]. Cependant, dans ces conditions d'autres composés ne sont alors plus séparés comme c'est le cas pour le 2,4,6-TNT et le 1,3-DNB en Figure I. 5. L'ajout des esters nitrés à la liste des explosifs ciblés peut compliquer encore la séparation car le Ty, le 2,4,6-TNT et la NG ont des polarités similaires [41].

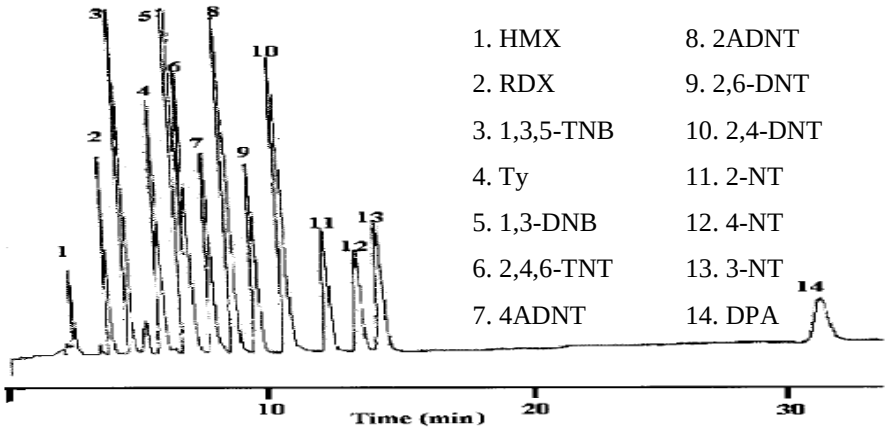


Figure I. 5. : Chromatogramme UV de composés étalons séparés sur colonne Spherisorb-ODS2 (250 x 4 mm, 5µm) avec une phase mobile eau/MeOH (45/55, v/v) [37].

Différentes approches ont donc été envisagées pour optimiser la séparation sur C18 par la suite tel que l'emploi d'un gradient binaire et même ternaire [36, 39] ou l'utilisation d'une précolonne de type CN [9, 45]. Le gradient n'apporte en fait pas réellement d'amélioration à la séparation, il permet en revanche de réduire le temps

d'analyse. Cependant, l'ajout d'une précolonne améliorerait la qualité de la séparation uniquement lorsqu'elle est couplée à une colonne C18 de type Bondesil, ce qui a été démontré après la comparaison de plusieurs type de C18 [45]. Le chromatogramme obtenu dans ces conditions est présenté sur la Figure I. 6 et il apparait que la séparation des composés nitroaromatiques ciblés et des nitramines est plutôt satisfaisante dans ce cas.

L'emploi de colonne de type C8 dans plusieurs études laisse apparaître qu'aucune séparation n'est obtenue, que les nitroaromatiques soient ciblés seuls ou avec les nitramines et les esters nitrés [46-47]. Cependant, une étude sur l'influence de l'ajout d'un agent de paires d'ions pour modifier la rétention des métabolites du 2,4,6-TNT (2ADNT, 4ADNT et 6ADNT) d'une part et de la température d'autre part a montré que l'utilisation d' une température adaptée et fixée à 50,5°C permet d'obtenir une bonne séparation des composés ciblés par la méthode EPA 8330 (nitroaromatiques et nitramines) [48].

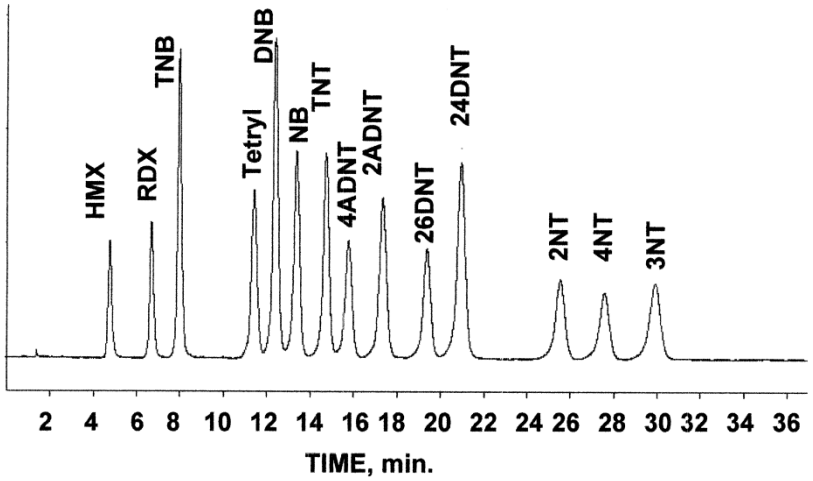


Figure I. 6. : Chromatogramme UV de composés étalons séparés grâce à l'association d'une précolonne CN et d'une colonne C18 avec un mélange d'eau/MeOH (50/50, v/v) [45].

Compte tenu des difficultés de séparation sur C18, d'autres études ont été réalisées dans le but de séparer des explosifs nitrés par partage inverse avec des colonnes de type greffée amide [51], cyanopropyle [50] ou bien phényle [49]. Pour le premier type de greffage les résultats exposés montrent une séparation satisfaisante des nitroaromatiques en moins de 25 min mais pour une solution contenant uniquement le 2,4-DNT sans autres isomères de position du DNT [51]. En ce qui concerne les analyses

sur la phase phényle, aucun isomère du DNT n'a été étudié et les temps de rétention reportés laissent penser que la résolution n'est pas très bonne pour les composés les plus proches [49]. Enfin, l'utilisation de la phase cyanopropyle ne permet pas de séparer l'ensemble des composés ciblés [50]. Ainsi, l'utilisation de deux colonnes avec des phases stationnaires différentes reste une alternative pour l'obtention d'une analyse des nitroaromatiques, des nitramines et des esters nitrés présents simultanément. La méthode EPA 8330 suit d'ailleurs cette stratégie. Ainsi, cette procédure d'analyse préconise l'utilisation dans un premier temps d'une phase C18 ou C8, pour indiquer la présence des cibles, et dans un second temps d'une phase CN ou phényl-hexyl, pour confirmer l'identification, avec les phases mobiles appropriées. Cette méthode a l'avantage de permettre l'identification de toutes les cibles grâce à l'injection de l'échantillon avec chacune des colonnes qui permettent des ordres d'élution différents [57-59]. Cependant, elle demande un changement de colonne fréquent voir l'utilisation de plusieurs appareils et beaucoup de temps puisqu'il faut entre 12 et 25 min d'acquisition par colonne chromatographique dans le meilleur des cas.

Dans le but d'obtenir des pics parfaitement séparés et éviter l'utilisation de deux colonnes pour l'identification des composés, une autre approche a été d'utiliser le Carbone Graphite Poreux comme phase stationnaire. La structure de cette dernière se présente sous la forme d'un empilement de feuillets d'atomes de carbone, comme cela est représenté Figure I. 7, qui permet au PGC d'avoir des propriétés uniques [60-62].

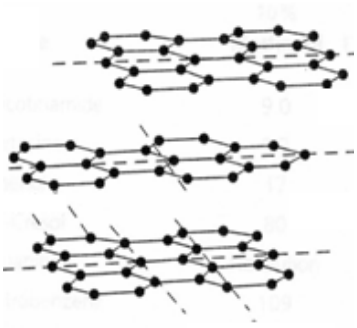


Figure I. 7. : Structure du PGC [62].

Ce type de phase stationnaire met en jeu un mécanisme d'interactions complexes comme de l'adsorption à la surface plane du PGC, qui dépend de la forme de la molécule, et des interactions électrostatiques entre les groupements polaires des

molécules ciblées et la surface polarisable du PGC. Compte tenu des différentes interactions développées et de la grande hydrophobie du PGC, la rétention de composés de polarité variée s'en trouve accrue [61, 63]. Les isomères de position peuvent être ainsi séparés [64]. Quelques études ont été menées pour obtenir la séparation des explosifs nitroaromatiques, notamment pour les isomères de position du DNT [52-53]. Cette famille est relativement bien adaptée pour une rétention sur PGC car elle est composée de molécules relativement planes et possédant des groupements électronégatifs. Il est alors nécessaire d'utiliser des phases mobiles plus éluantes que celles couramment utilisées sur C18 pour éluer les composés les plus retenus. A cet effet, l'isopropanol (IPA) [52] et le toluène [53-55, 65] ont été utilisés. La séparation sur PGC des nitroaromatiques, nitramines et esters nitrés a été récemment mise au point par différentes équipes mais pour cela un système de phase mobile particulièrement complexe a conduit à des méthodes fastidieuses à mettre en œuvre [54].

Un des travaux de la thèse de R. Tachon réalisée au Laboratoire Central de la Préfecture de Police de Paris (LCPP) a justement été de mettre au point une séparation chromatographique avec une colonne de PGC permettant de séparer les nitroaromatiques, les nitramines et les esters nitrés en effectuant une seule injection [2, 56]. Pour cela, il a mis au point un gradient de phase mobile à quatre solvants. Un mélange d'IPA et d'ACN pour une voie et un mélange de formiate d'ammonium et d'ACN pour l'autre ont été utilisés dans le but d'avoir une quantité d'ACN constante au cours de l'analyse pour ne pas avoir une viscosité de la phase mobile trop importante due à l'IPA. Grâce à une température du four de la colonne maintenue à 70°C, la séparation de l'ensemble des composés mis à part le 2,6-DNT et le 3,4-DNT (isomère minoritaire) est obtenue en moins de 36 min. Le chromatogramme obtenu dans ces conditions est présenté sur la Figure I. 8. Cependant, avec le rééquilibrage de la colonne, l'analyse d'un échantillon demande presque 1 heure.

Ces résultats obtenus sur PGC montrent néanmoins que ce type de colonne est une bonne alternative à l'utilisation de deux colonnes chromatographiques. Cependant, l'utilisation de ce type de phase pose des problèmes d'interaction, avec les interférents contenus dans les matrices réelles, notamment par paires d'ions [62], et peut donc impliquer l'utilisation de lavage conséquent afin de régénérer les colonnes.

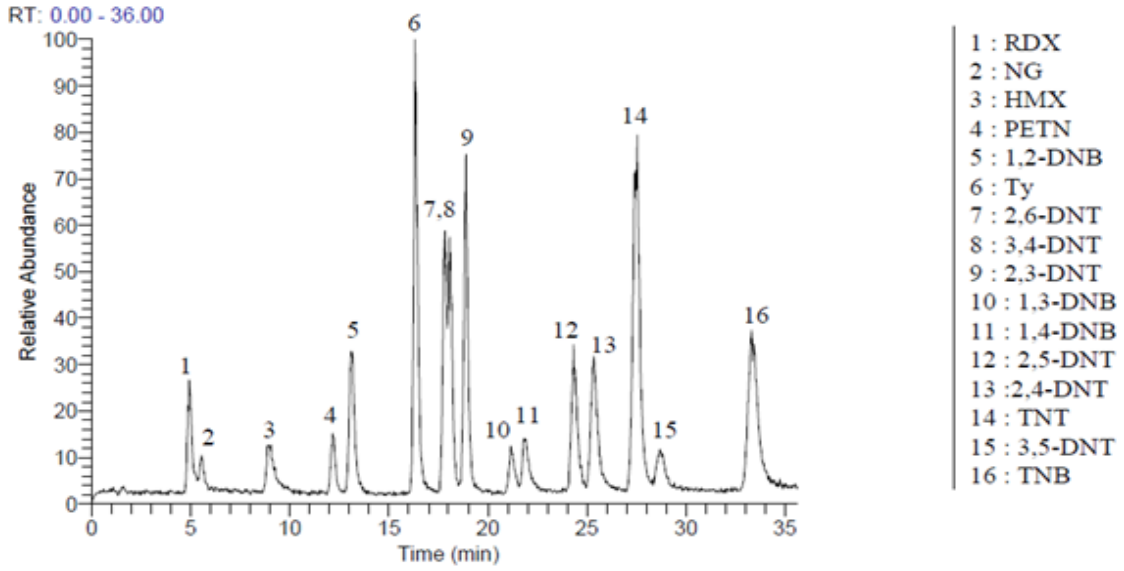


Figure I. 8. : Chromatogramme obtenu en LC/MS de composés étalons à 10 mg/L séparés en mode gradient sur une colonne PGC (hypercarb) à 70°C [2].

I. 3. 1. Modes de détection

La détection des explosifs organiques peut se faire suivant différents modes couplés à la chromatographie liquide. Les détections possibles, et déjà étudiées par le passé, sont l'UV, la spectrométrie de masse (MS) ou la détection électrochimique. Le détecteur UV est le plus couramment utilisé car il est simple d'utilisation, le plus stable et le moins cher. Ce détecteur est d'ailleurs privilégié lors d'analyses de routine des nitroaromatiques et des nitramines [45]. En effet, il permet même d'obtenir dans certains cas, de plus faibles limites de détection (LDD) lors de l'analyse des nitroaromatiques par comparaison avec la spectrométrie de masse après une séparation dans des conditions identiques [54]. Cependant, pour l'analyse des esters nitrés qui possèdent des coefficients d'extinction molaires (ε) faibles, ce détecteur conduira à de faibles sensibilités.

Les explosifs nitroaromatiques possèdent des groupements NO_2 qui peuvent être réduits en hydroxylamine puis en amine. Hilmi et al. ont exploité cette propriété pour mettre au point leur analyse des nitroaromatiques et des nitramines par chromatographie liquide couplée à une détection ampérométrique [43]. Marple et al. ont quant à eux employé une détection électrochimique photoassistée (PAED) [35, 38]. Cela consiste à faire circuler la phase mobile dans un photoréacteur avant son passage dans la cellule électrochimique dans le but d'irradier les analytes qui se décomposent pour former des

ions nitrite qui peuvent être oxydés en ions nitrate. La comparaison avec les résultats en UV montrent que le détecteur électrochimique apporte pour la plupart des composés ciblés (nitroaromatiques et nitramines), un gain en sensibilité.

Enfin, le détecteur émergent ces dernières années est le spectromètre de masse qui permet d'obtenir des chromatogrammes en fonction du rapport masse sur charge des composés. Ainsi, il n'est plus indispensable de séparer tous les analytes, puisque la détection est spécifique, exceptée lorsque les composés conduisent à des ions de même rapport masse sur charge comme c'est souvent le cas des isomères de position. De nombreuses études ont été réalisées pour la mise au point d'une méthode d'analyse la plus sensible possible. Plusieurs interfaces telles que le thermospray [47, 66], l'électrospray (ESI) [42, 49, 67], l'ionisation chimique à pression atmosphérique (APCI) [39, 53-56, 67] ou la photoionisation à pression atmosphérique (APPI) [40, 55] ont été étudiées.

Les groupements NO_2 sont particulièrement électronégatifs c'est pourquoi l'ionisation des explosifs nitrés s'effectue le plus souvent en mode négatif. L'ESI est peu utilisée pour les nitroaromatiques contrairement à leurs métabolites car ils sont difficiles à détecter par cette interface. Seul le 2,4,6-TNT donne un ion $[M-H]^-$ abondant [2]. Cassada a toutefois observé la formation d'adduits entre certains nitroaromatiques et des ions méthanolate issus de la phase mobile constituée d'eau, de MeOH et d'acétate d'ammonium [67]. Ainsi, les nitroaromatiques sont analysés le plus souvent en mode APCI et ne nécessitent pas l'emploi d'additifs [2, 39]. En revanche, l'analyse d'autres explosifs nitrés nécessitera d'ajouter un additif tel que l'acétate d'ammonium [2] qui permet de les détecter sous la forme d'un ion moléculaire $M^{\cdot-}$ abondant [39, 53, 56]. Les spectres de masse du 2,4,6-TNT et du 2,4-DNT sont également caractérisés par la présence d'ions fragments $[M-OH]^-$ et $[M-H]^-$. D'ailleurs, ce dernier est parfois l'ion fragment majoritaire du 2,4-DNT [68] obtenu. Le spectre de masse du tétryl est plus complexe car il se décompose thermiquement en N-méthylpicramide (P) pour donner un ion $[P-H]^-$.

En ce qui concerne la spectrométrie de masse en tandem (MS^2) en mode APCI, les ions fils formés pour les nitroaromatiques sont le plus souvent des $[M-OH]^-$ et des $[M-NO]^-$. Ainsi, le 2,4-DNT aura tendance à former le premier alors que les autres isomères formeront plutôt le second, c'est ainsi qu'il est possible de les distinguer en MS^2 [39].

Les différents travaux présentés précédemment montrent que la séparation des explosifs nitrés et plus particulièrement des isomères du DNT n'est pas si simple mais qu'il est possible de les séparer malgré tout dans certaines conditions souvent complexes. Ces composés sont le plus souvent détectés en UV après la séparation chromatographique bien que la spectrométrie de masse soit de plus en plus utilisée ces dernières années. Cependant, malgré les performances de l'analyse, le traitement des échantillons reste une étape indispensable au préalable pour permettre d'éliminer un maximum d'interférents pouvant rendre difficile l'identification des explosifs par des co-élution ou des phénomènes de suppression ou d'exaltation du signal en LC/MS.

I. 4. Procédures de traitement de l'échantillon appliquées aux explosifs

L'analyse des explosifs a été largement étudiée ces dernières années pour permettre de développer des procédures capables de mettre en évidence la présence d'un explosif, d'une famille ou de plusieurs familles d'explosifs dans l'eau ou dans les sols pour la plupart des études. En effet, depuis les deux guerres mondiales, de nombreux cours d'eau et terrains sont contaminés et présentent des teneurs importantes en composés explosifs. Il a donc été nécessaire de mettre au point des méthodes d'analyses permettant de les identifier et de les quantifier dans ces matrices. Ces méthodes sont, pour la plupart, composées d'une étape de purification et/ou de préconcentration de l'échantillon avant de réaliser les analyses chromatographiques proprement dites.

Ces dernières années, de nombreuses études ont été réalisées afin de mettre au point des procédures de purification et de préconcentration des explosifs présents dans des échantillons divers. Ces travaux témoignent de l'utilisation de différentes techniques d'extraction qui seront brièvement décrites ci-après.

I. 4. 1. L'extraction liquide-liquide

L'extraction liquide-liquide (ELL) est basée sur la distribution d'un soluté entre deux phases liquides en fonction de son affinité pour chacune d'elles [69]. Cette technique est très simple de mise en œuvre avec la possibilité d'utiliser un grand choix

de solvants d'extraction avec des propriétés de sélectivité et de solubilités différentes. Cependant, ce type d'extraction est relativement long et nécessite de grands volumes de solvants organiques, souvent toxiques, lorsqu'il est appliqué à des échantillons environnementaux pour obtenir des facteurs d'enrichissement élevés. Ce dernier est défini par le rendement d'extraction multiplié par le rapport entre le volume percolé et le volume de l'échantillon. A cela, s'ajoute un grand risque de contamination et de pertes lors des étapes de transfert qui peuvent être nombreuses en fonction du nombre de répétitions de l'extraction. Cette méthode est également difficilement automatisable et peut conduire à une mauvaise reproductibilité à cause du risque de formation d'émulsion à l'interface des deux liquides.

L'ELL est la méthode d'extraction proposée par la méthode EPA 8330 pour les explosifs nitroaromatiques et les nitramines en faible concentration présents dans les eaux résiduaires. Leggett a comparé la procédure d'ELL pour les nitroaromatiques et les nitramines avec différents solvants d'extraction : le dichlorométhane (DCM) avec ou sans ajout de sel dans l'échantillon et l'ACN avec ajout de sels pour limiter la solubilité de celui-ci avec l'eau [70]. Finalement, ce dernier solvant extracteur a donné les meilleurs rendements et a été également appliqué à une gamme plus large de nitroaromatiques ainsi qu'aux esters nitrés (NG et PETN). Les rendements obtenus sont supérieurs à 90 % pour l'ensemble des composés avec une seule étape d'extraction. La méthode EPA qui reprend l'utilisation d'ACN et de sels mentionne l'emploi d'un grand volume d'échantillon (770 mL d'eau) et d'un grand volume d'ACN (environ 200 mL). Quatre étapes d'extraction successives sont réalisées avec des temps d'agitation et de décantation de 15 et 10 mn respectivement pour chaque extraction. Cette procédure demande donc environ deux heures pour récupérer un faible volume d'ACN (environ 5 à 6 mL) qui est ensuite dilué par deux dans l'eau avant d'être injecté. Cette méthode longue et fastidieuse permet d'obtenir des rendements également supérieurs à 90 % et des limites de quantification comprises entre 0,020 et 0,84 µg/L pour les composés en commun avec notre étude excepté pour le HMX et le Ty dont les limites de quantification (LDQ) ne sont pas mentionnées. Dans la seconde version, la méthode EPA 8330B, la même procédure de ELL est toujours la technique décrite. Cependant, l'extraction sur phase solide est également mentionnée comme étant une possibilité qui se révèle souvent préférée lors des analyses.

Compte tenu des grands volumes d'échantillons et de solvants organiques nécessaires, de nombreux travaux ont récemment porté sur l'extraction des explosifs par ELL en format miniaturisé.

I. 4. 2. Extraction liquide-liquide en format miniaturisé

I. 4. 2. 1. *Microextraction par simple goutte*

La microextraction par simple goutte (Single Drop MicroExtraction, SDME) a été développée en 1996 par Jeannot et al. [71]. Ce système d'extraction liquide-liquide miniaturisé est fondé sur l'équilibre de partage des analytes entre l'échantillon aqueux et une goutte de solvant organique non-miscible à l'eau se trouvant à l'extrémité de l'aiguille d'une seringue d'injection de chromatographie gazeuse. Le transfert de masse a lieu par diffusion. Le principal avantage de cette technique est qu'une fois l'extraction faite, la goutte de solvant organique dans laquelle est contenue les analytes extraits est directement injectée en GC comme l'illustre la Figure I. 9.

Comme pour toute ELL, le solvant et le volume de la goutte doivent être convenablement choisis, et le temps d'extraction est généralement réduit en agitant l'échantillon. En revanche, l'agitation ne peut pas être trop vigoureuse compte tenu de la fragilité de la goutte. Néanmoins, cette technique est simple, nécessite peu d'équipement et une faible quantité de solvant.

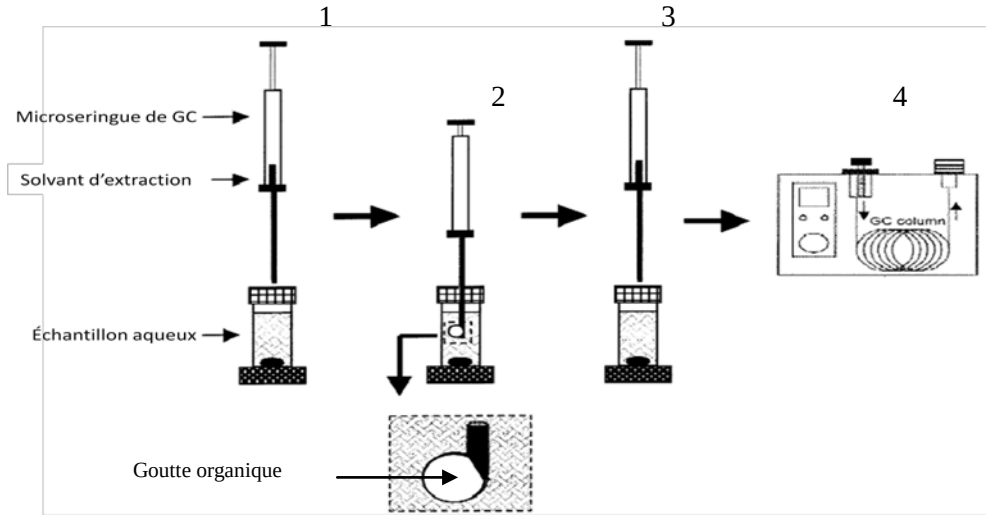


Figure I. 9. : schéma de la procédure de SDME, (1) introduction de la seringue dans l'échantillon, (2) formation de la goutte de solvant organique par pression sur le piston, (3) Prélèvement de la goutte dans la seringue, (4) injection en GC (adapté de [72]).

L'équipe de Psillakis a développé une procédure de SDME destinée initialement à l'extraction de 11 explosifs nitroaromatiques et de 2 nitramines, dont le 2,4-DNT, le 2,6-DNT, le 2,4,6-TNT, le 1,3-DNB, le 1,3,5-TNB, le RDX et le HMX présentés précédemment [72-73]. Cependant, le RDX et HMX ont rapidement été écartés de la liste des analytes ciblés en raison de leurs solubilités trop faible voir nulle dans le toluène, solvant donnant les meilleurs résultats pour les nitroaromatiques. Après optimisation des différents paramètres, une goutte de 1 µL de toluène avec seulement 15 min de temps d'extraction a permis d'atteindre des LDD de l'ordre du µg/L pour l'ensemble des nitroaromatiques ciblés en milieu aqueux pur.

Des échantillons simulés préparés à partir d'eau du robinet ou d'eau souterraine ont également été extraits par cette technique avec des rendements de 80 % par rapport au milieu pur. Malgré ces résultats prometteurs, aucune autre étude n'a été réalisée à ce jour pour ces composés à partir d'autres matrices. Il est ainsi difficile de conclure quant aux performances de cette technique. Enfin, cette technique présente comme avantage d'être facilement couplée à la GC alors qu'il est plus judicieux d'effectuer l'analyse des explosifs nitrés en LC.

I. 4. 2. 2. *Microextraction liquide-liquide par dispersion*

La microextraction liquide-liquide par dispersion (DLLME) a été mise au point par Rezaee et son équipe en 2006 [74]. Cette technique est une microextraction triphasique qui consiste à introduire dans l'échantillon liquide aqueux, un petit volume de solvant de dispersion dans lequel est dilué quelques microlitres (jusqu'à 100 µL) de solvant extracteur. La Figure I. 10 présente les différentes étapes de l'extraction. Après agitation et centrifugation, les fines gouttelettes du solvant d'extraction se retrouve alors au fond du tube et prélevées avec une seringue [74-75]. L'extrait peut être analysé directement en GC ou évaporé pour reprendre les analytes dans un solvant approprié pour une injection en LC.

Lors de l'extraction de composés contenus dans un échantillon aqueux, le solvant de dispersion est généralement du MeOH, de l'ACN, du tétrahydrofurane (THF) ou de l'acétone. Le solvant d'extraction doit quant à lui être non miscible à l'eau et de forte densité afin de le récupérer après la centrifugation. Ainsi le sulfure de carbone (CS_2), le tétrachlorométhane (CCl_4), le perchloroéthylène (C_2Cl_4), le chloroforme

($CHCl_3$) ou le dichloroméhtane sont généralement choisis. La DLLME présente plusieurs avantages dont la simplicité de la procédure, sa rapidité ainsi que de grands rendements d'extraction et de grands facteurs d'enrichissement.

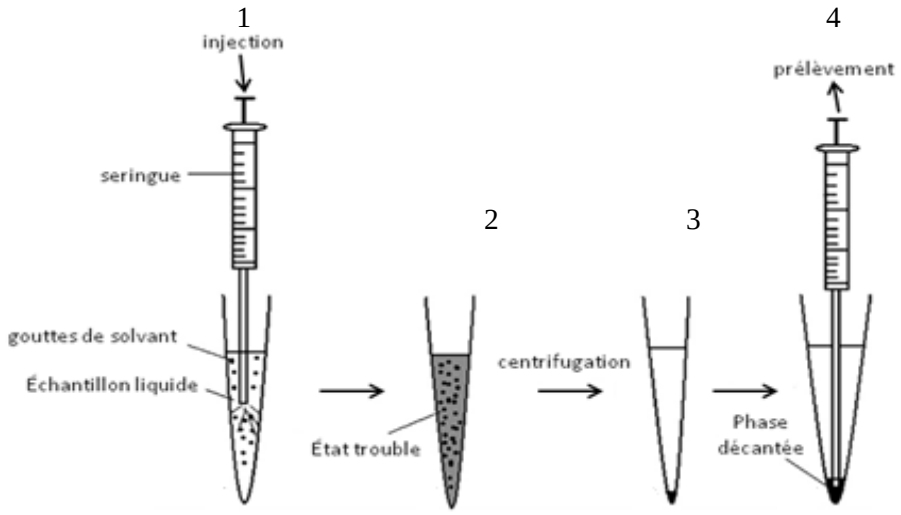


Figure I. 10. : Schéma de la procédure de DLLME, (1) injection du solvant de dispersion, (2) formation d'un état trouble après agitation, (3) séparation de phase après centrifugation, (4) prélèvement du solvant d'extraction (adapté de [75]).

Cette technique n'a été appliquée que très récemment par Ebrahimzadeh et son équipe, en 2009, pour extraire des composés aromatiques mono et dinitrés dont le 2,4-DNT et le 2,6-DNT dans les eaux usées [8]. Ainsi, 750 µL d'une solution de MeOH utilisé comme solvant de dispersion contenant 20 µL de CCl_4, solvant d'extraction, est rapidement injecté dans 9 mL d'échantillon aqueux contenant 3% de chlorure de sodium (NaCl). L'extraction a été réalisée par centrifugation en seulement 2 min, l'extrait a ensuite été analysé en GC couplée à un détecteur à ionisation de flamme (FID). Des LDD de 0,4 et 0,5 µg/L pour le 2,6-DNT et le 2,4-DNT ont été obtenues respectivement avec des facteurs d'enrichissement de l'ordre de 200 en eau pure. La procédure a ensuite été appliquée pour quantifier les analytes dans des eaux usées puis 50 µg/L de ces analytes ont été ajoutés pour vérifier la réponse après l'ajout. L'erreur faible présentée entre les deux quantifications montre que la matrice n'entraîne pas de mauvais résultats. Cependant, aucune autre étude ne permet de confirmer ces résultats et de les compléter avec l'analyse d'autres explosifs nitrés. Comme pour la SDME, il est donc difficile d'évaluer les performances réelles de cette méthode par laquelle un couplage à la GC reste, encore une fois, le plus intéressant.

I. 4. 2. 3. *Extraction au point trouble*

L'extraction micellaire de type extraction au point trouble (Cloud Point Extraction, CPE) a connu de nombreux développements ces vingt dernières années. Ce système d'extraction est basé sur l'utilisation de surfactants capables de s'agréger pour former des micelles qui vont alors piéger les composés ciblés hydrophobes présents dans l'eau. Comme l'illustre la Figure I. 11, l'augmentation de la température de la solution permet de dépasser la température de point de trouble, notée T_{CP}, ce qui diminue fortement la solubilité des micelles. Dans ces conditions, la solution démixe en une phase diluée en surfactant et une phase concentrée en micelles dans laquelle les analytes sont piégés [76].

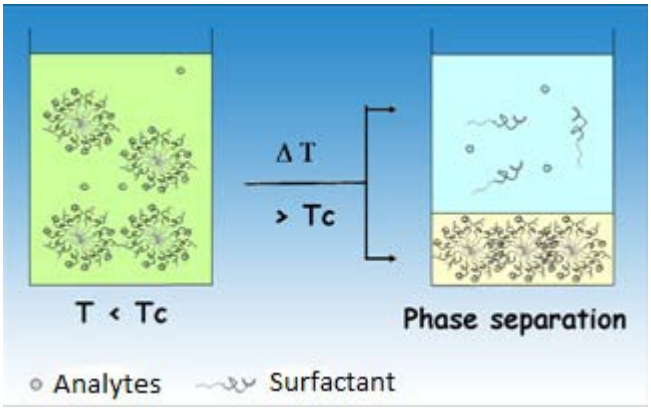


Figure I. 11. Image d'une solution avant et après séparation des phases grâce au point trouble [77].

L'extraction par point de trouble est donc le résultat de la séparation d'un soluté entre les deux phases aqueuses, en fonction de son affinité pour le surfactant. La température, le temps d'équilibre, le pH de la solution, la nature et la quantité de surfactant utilisé sont des facteurs déterminants, qu'il est nécessaire d'optimiser pour obtenir une extraction efficace et sélective. Le point de trouble, qui est un phénomène réversible, a été utilisé pour l'extraction de divers solutés notamment le nitrobenzène [78-82].

La CPE présente plusieurs avantages tels que son faible coût, l'obtention de bons facteurs de préconcentration, l'utilisation de composés non dangereux et qui permettent d'éliminer l'emploi de grands volumes de solvants organiques nécessaires pour une ELL classique.

Cette méthode d'extraction a été récemment utilisée pour l'extraction du RDX, du HMX, du 2,4,6-TNT et du PETN dans des eaux de rivière et de puits [83]. Après optimisation des conditions, une procédure simple a été obtenue en ajoutant à un échantillon d'eau (10 mL) deux surfactants (cetyl triméthylammonium bromide (CTAB) et Triton X-114), ainsi que du sel (sulfate de sodium) avant de procéder à une incubation à 40°C pendant 10 min. La phase extractante, riche en micelles et très visqueuse, a ensuite été diluée avec du MeOH pour être injectée en LC/UV. Le protocole de CPE ainsi mis au point permet d'obtenir des LDD de 0,08, 0,09, 0,14 et de 0,40 µg/L pour le 2,4,6-TNT, le HMX, le RDX et le PETN respectivement grâce à des rendements d'extraction compris entre 97 et 102 %. Ces bons résultats, pour des composés couvrant l'ensemble de la gamme de polarité des explosifs nitrés, sont prometteurs mais aucune autre étude ne permet de confirmer ces résultats et de les vérifier pour d'autres matrices éventuellement plus complexes que l'eau de rivière ou de puits.

I. 4. 2. 4. *Microextraction en phase liquide assistée par fibre creuse*

La microextraction en phase liquide assistée d'une fibre creuse poreuse (Hollow Fibre based on Liquid Phase MicroExtraction, HF-LPME) est fondée sur le partage des analytes entre un milieu donneur (échantillon) et un milieu accepteur situé dans une fibre en polypropylène. Le schéma de la fibre est illustré en Figure I. 12.

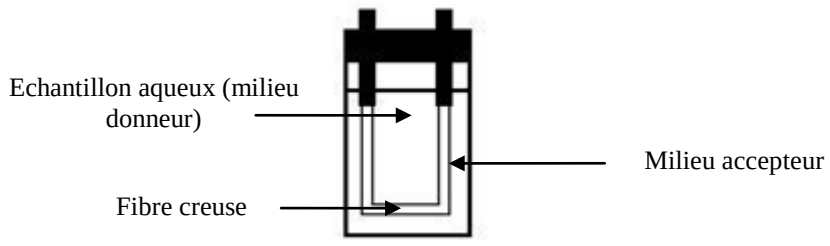


Figure I. 12. : Schéma du dispositif de microextraction à l'aide d'une fibre creuse (HF-LPME).

L'extraction peut être réalisée en mode biphasique avec un solvant organique contenu à la fois dans les pores et au centre de la fibre ou en mode triphasique, en remplissant le centre de la fibre d'une solution aqueuse et les pores d'un solvant organique. Suivant la nature de la phase acceptrice (aqueuse ou organique), l'extrait

peut être directement analysé par GC [84], LC [85-87] ou par électrophorèse capillaire [88].

L'avantage de cette technique, outre son format miniaturisé, est la présence de la fibre permettant une meilleure purification de l'échantillon par rapport à une ELL classique notamment vis-à-vis des macromolécules. Comme pour toutes les techniques de partage, la limitation de la HF-LPME réside dans l'extraction de composés polaires à partir de matrices aqueuses comme c'est le cas pour les composés de cette étude. Ainsi, la HF-LPME n'a été employée pour les explosifs nitroaromatiques que dans une seule étude référencée à ce jour. C'est à nouveau l'équipe de Psillakis qui a étudié l'extraction de 11 explosifs nitroaromatiques comme lors de sa précédente étude en SDME. Après optimisation des différents paramètres d'extraction (solvant d'extraction, agitation, concentration en sel, temps d'extraction), les explosifs ont pu être extraits en mode biphasique pendant 20 min à partir de 5 mL d'échantillon dopé d'eau pure, d'eau du robinet et de surface, avec l'assistance de la fibre remplie de toluène. Cette procédure a permis d'obtenir des LDD en milieu pur pour les composés ciblés également dans notre étude allant de 0,38 µg/L pour le 2,6-DNT à 0,87 µg/L pour le tétryl. Les estimations des concentrations d'explosifs dans les échantillons dopés montrent que ce système permet de quantifier les explosifs et qu'il n'y a pas d'effet de matrices d'après l'auteur. Cependant, les facteurs d'enrichissement et les rendements d'extraction ne sont pas présentés et ne permettent donc pas d'évaluer l'efficacité de cette méthode, notamment pour des échantillons réels.

I. 4. 2. 5. *Conclusion*

Des techniques d'extraction liquide-liquide variées en format miniaturisé (SDME, HF-LPME,…) ont très récemment été utilisées pour extraire les explosifs nitroaromatiques essentiellement à partir d'échantillons aqueux environnementaux. L'avantage de ces techniques par rapport à l'ELL classique est l'obtention de faibles volumes d'extrait ce qui permet généralement une injection directe dans le système d'analyse et un fort facteur d'enrichissement. Des résultats très prometteurs ont été obtenus avec des LDD de l'ordre du µg/L pour les composés ciblés. Malheureusement, une seule application est décrite pour chaque technique et en général par la même équipe. Des études complémentaires avec d'autres types d'échantillons réels sont bien évidemment nécessaires pour confirmer le potentiel de ces techniques miniaturisées.

L'extraction sur phase solide (SPE) a été développée comme une méthode alternative à l'extraction liquide-liquide. En effet, la SPE présente des performances bien meilleures que l'ELL classique, c'est pourquoi cette méthode est la plus utilisée pour le traitement des échantillons liquides avant analyse. De plus, la SPE a permis de fortement diminuer les volumes de solvant nécessaires à l'extraction des molécules cibles diminuant ainsi l'impact de l'extraction sur le coût d'une analyse, sur la santé du personnel et sur l'environnement.

I. 4. 3. L'extraction sur phase solide

I. 4. 3. 1. *Principe [89]*

La SPE est basée sur la distribution des composés entre l'échantillon liquide et la phase solide choisie et appelée adsorbant. En première approximation, cette technique s'apparente à un processus de chromatographie d'élution pour lequel l'adsorbant est utilisé comme phase stationnaire et l'échantillon percolé comme phase mobile. Le processus de rétention mis en jeu lors de la SPE est donc similaire à celui de la chromatographie en phase liquide.

La SPE se déroule en quatre étapes présentées en Figure I. 13. La première étape, appelée conditionnement de l'adsorbant, consiste à mouiller le support en solvatant les groupements fonctionnels présents à sa surface. Pour cela, plusieurs solvants peuvent être percolés successivement. Dans le cas d'un support hydrophobe, par exemple, celui-ci est tout d'abord mouillé par un solvant organique puis par des solvants de plus en plus polaires pour qu'il soit conditionné au final par un solvant de polarité similaire à celle du solvant constituant l'échantillon, généralement l'eau (ou un mélange hydro-organique) [89-90].

La deuxième étape est la percolation de l'échantillon liquide sur l'adsorbant. Durant cette étape, les composés ciblés présentant une forte affinité avec le support vont être retenus. Le volume d'échantillon percolé sur le support dépend de la nature de l'échantillon (eaux, plasma, extraits de sol, …), des composés à analyser et du facteur d'enrichissement recherché. Le volume de l'échantillon peut varier de quelques microlitres notamment pour les échantillons biologiques jusqu'au litre pour la recherche de micropolluants organiques dans les eaux. Après la percolation, une étape de lavage

est généralement réalisée afin d'éliminer les éventuels interférents retenus sur le support en maintenant la rétention des molécules cibles.

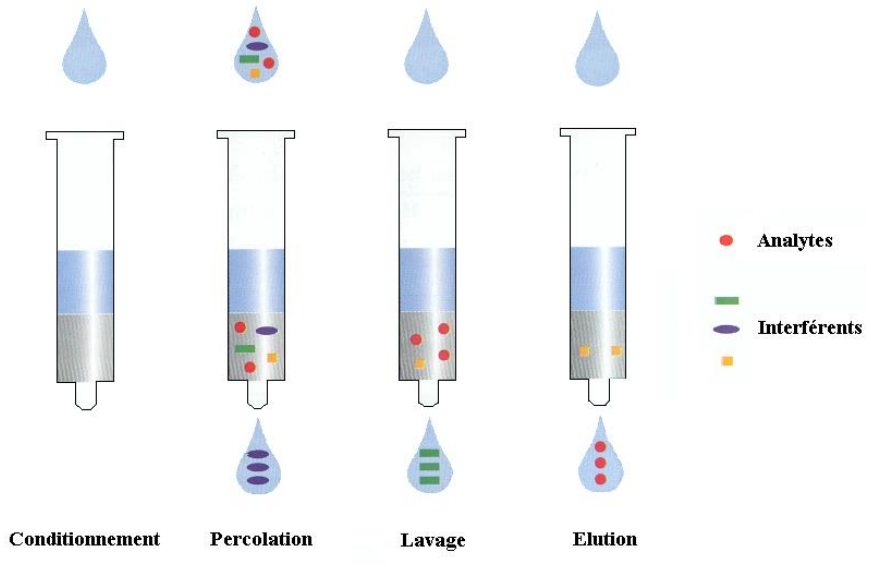


Figure I. 13. : Principe de l'extraction sur phase solide (adapté de [91]).

Enfin, la dernière étape, appelée élution, permet de rompre les interactions fortes entre le support et les composés d'intérêt par percolation d'une solution éluante, de nature organique si le support est hydrophobe. La fraction d'élution est ensuite analysée directement lorsque le système analytique le permet ou évaporer partiellement ou bien totalement lorsqu'il est nécessaire de concentrer d'avantages les analytes ou de changer de solvant pour être dans des conditions compatibles avec le système analytique.

Lors de la mise en place d'une SPE, il est utile de connaître le volume de fin de fixation (V_f). Ce paramètre représente le volume à partir duquel les solutés cibles sont élués par le solvant de l'échantillon, comme l'eau pour un échantillon aqueux. Ainsi, la percolation d'un volume supérieur au V_f entraîne la perte des composés sur le support et donc une diminution des rendements d'extraction. Ce volume est relié à l'affinité du soluté pour l'adsorbant. Un moyen pour estimer le V_f est d'exploiter l'analogie entre la SPE et la LC [92]. En effet, si une phase stationnaire similaire à l'adsorbant souhaité comme support de SPE est utilisée comme support chromatographique et qu'une phase mobile purement aqueuse est utilisée, il est possible de mesurer le volume de rétention (V_r) d'un soluté sur la colonne et donc de déterminer son facteur de rétention k qui traduit son affinité pour le système. Ensuite, si le volume mort (V_0) de la cartouche est pris en compte, le V_r de notre soluté pour le support d'extraction peut être calculé. Ce

volume peut en première approximation être considéré comme étant équivalent au V_f. Cela consiste à négliger l'étalement du front d'élution en SPE et donc les phénomènes cinétiques conduisant à un front en SPE ou l'élution du pic en chromatographie. Ce point est expliqué en détail en annexe 3.

Un second paramètre caractérisant le support est sa capacité. La capacité est la quantité maximale en analyte que peut retenir le support. Ainsi, au même titre que le V_f, un dépassement de la capacité entraîne une chute de rendement d'extraction. Cependant, ce phénomène reste assez rare pour les supports conventionnels utilisés en analyse de traces.

I. 4. 3. 2. *Formats des supports SPE et couplages aux techniques chromatographiques*

(a) *Formats pour l'analyse en différé*

Une extraction est dite en différé lorsque l'étape de SPE est totalement dissociée de l'étape d'analyse. Cela signifie que les différentes fractions issues de la procédure d'extraction (percolation, lavage et élution) sont collectées puis analysées.

Le principal avantage de l'approche en différé est sa grande flexibilité. De nombreux paramètres peuvent être modifiés et optimisés : la quantité d'adsorbant, la nature et le volume de la solution d'élution ou le format du dispositif d'extraction. De plus, l'équipement requis est très simple ce qui en fait une méthode peu coûteuse. Il est également possible d'automatiser la procédure d'extraction grâce à l'utilisation d'un robot.

Pour ce faire, plusieurs formats de phase SPE, représentés Figure I. 14, sont actuellement commercialisés : cartouches, plaque 96-puits, disques, seringue, cône de pipette.

L'extraction en différé est réalisée dans la plupart des cas à l'aide d'une cartouche d'extraction en polypropylène. L'adsorbant, dont la granulométrie est généralement comprise entre 40 et 60 µm, est confiné entre deux frittés. Cette granulométrie est choisie pour permettre l'écoulement de l'échantillon et des différents solvants sans que la perte de charge ne soit trop importante. Il existe des cartouches contenant de 20 mg à 1 g d'adsorbant. L'amélioration de la sensibilité des systèmes analytiques a permis de réduire nettement le volume d'échantillon nécessaire et par

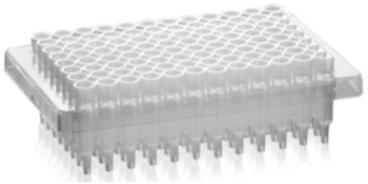
conséquent de diminuer la quantité d'adsorbant employée. Ainsi, les cartouches de 1 mL, contenant moins de 100 mg d'adsorbant, sont donc de plus en plus répandues [93].



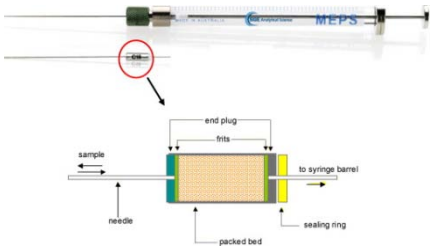
Cartouches



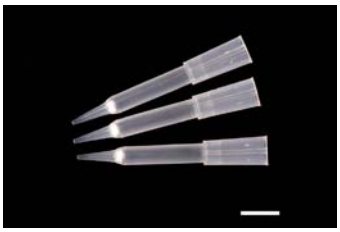
Disques



Plaque 96-puits [94]



MEPS [95]



pipette tips SPE [96]

Figure I. 14. : Formats disponibles pour l'extraction sur phase solide en différé.

Le disque d'extraction est également très utilisé pour l'analyse environnementale car il permet la percolation de grands volumes d'échantillon à haut débit. En effet, les particules d'adsorbants étant imprégnées dans une membrane de PTFE d'environ 0,5 mm d'épaisseur pour un diamètre de l'ordre de 47 mm, des débits de percolation jusqu'à 200 mL/min peuvent être appliqués sans induire une perte de charge trop élevée.

Le format de plaques à 96 puits est apparu pour répondre aux besoins de haut débit d'analyse d'échantillons de faibles volumes par un processus automatisé. Sur chacun des 96 puits se trouve une cartouche SPE de 1 ou 2 mL contenant 5 à 100 mg d'adsorbant. Des plaques de 384 puits sont également disponibles et très utilisées pour l'analyse de fluides biologiques à haut débit.

Des formats de SPE miniaturisée ont été récemment développés par l'équipe d'Abdel-Rehim avec l'utilisation de seringue [97-99] ou de cône de pipette [100-102] comme support de l'adsorbant. Ainsi, environ 1 à 2 mg de phase se trouve entre l'aiguille et le corps de la seringue piégé entre deux frittés dans le premier cas et porte le nom de MEPS (microextraction by packed sorbent) [95]. Dans le second cas, l'adsorbant se trouve à la pointe d'un cône de pipette et cela est appelé tips [103]. Ces

formats permettent de diminuer fortement le volume d'échantillon nécessaire puisque la quantité de phase est divisée d'un facteur 50 à 100 par rapport à une cartouche classique. Cependant, le comportement de ces formats de SPE diffère par la procédure qui consiste à prélever l'échantillon dans la seringue ou le cône de pipette puis à repousser le solvant de percolation hors du support ce qui s'apparente à une première fraction de lavage car la solution a déjà été appauvrie en analytes lors du prélèvement. Le développement de la procédure s'effectue donc un peu différemment des autres formats pour lesquels l'échantillon et les différents solvants sont percolés à travers l'adsorbant et récupérés en sortie.

Le choix du format de l'absorbant sera conditionné par le volume de l'échantillon de sorte à s'assurer que les analytes soient suffisamment retenus sur le support, tout en permettant de les éluer avec le minimum de volume d'élution afin d'obtenir un facteur d'enrichissement maximal. Avec ces types de format, seul un faible volume de l'éluat sera injecté dans le système chromatographique directement après l'extraction si les composés sont suffisamment concentrés et si le milieu est compatible avec le système de séparation. Dans le cas contraire, la fraction d'élution est évaporée à sec et reprise dans un petit volume d'un mélange hydro-organique. Outre la perte en sensibilité induite par l'injection partielle de l'éluat, l'extraction en différé implique une étape manuelle qui peut être source de pertes de composés et de pollution de l'échantillon, notamment lors de l'évaporation. L'utilisation de méthodes d'extraction en ligne permet d'éviter ces inconvénients.

(b) *Couplage en ligne*

L'extraction en ligne est réalisée grâce à un système dans lequel est placé une précolonne contenant l'adsorbant, servant à l'étape de SPE, sur une vanne de commutation à six voies, sur laquelle sont également connectées une pompe de préconcentration permettant la percolation de l'échantillon et l'étape de lavage, une pompe analytique et la colonne analytique. Le montage nécessaire pour réaliser une extraction en ligne est présenté Figure I. 15.

Généralement, le montage est réalisé de sorte à effectuer une élution en mode rétro-balayage (back flush), c'est-à-dire en procédant à l'élution en sens contraire du sens de percolation. Ceci permet de limiter les phénomènes d'élargissement de pics chromatographiques en transférant simultanément tous les solutés vers la colonne

analytique. Ainsi à la différence de l'extraction en différé, où seule une fraction de l'éluat est injectée, la totalité des composés retenus sont analysés. Ce gain en sensibilité permet une réduction du volume d'échantillon percolé. D'autre part, l'approche en ligne minimise le nombre d'interventions à effectuer ce qui permet une réduction des risques de perte ou de contamination. De plus, cette méthode possède l'avantage de consommer moins de solvant organique, l'élution étant assurée par la phase mobile. Enfin, les systèmes totalement automatisés permettent l'obtention d'analyses très reproductibles.

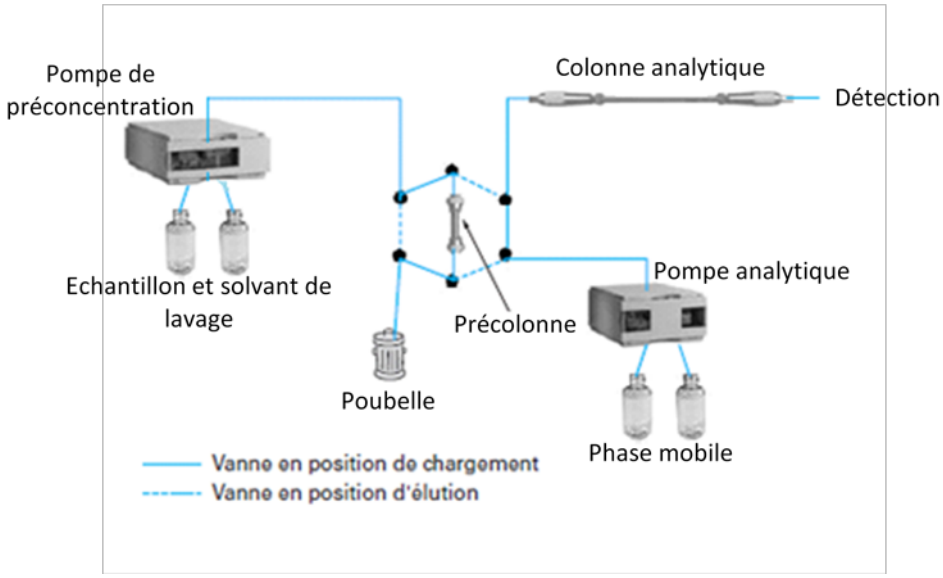


Figure I. 15. : Couplage en ligne de l'extraction sur phase solide avec la chromatographie en phase liquide [104].

Il existe, cependant, quelques contraintes dans le fait que la colonne soit placée en série avec le système chromatographique. En effet, il est nécessaire que la nature du support contenu dans la précolonne soit compatible avec celle de la colonne analytique afin de permettre un transfert spontané des analytes par la phase mobile en éliminant les phénomènes d'élargissement de pics. Il en est de même au niveau des dimensions, l'utilisation de précolonne de diamètre supérieur à celui de la colonne conduisant à un élargissement des pics. Ainsi, les dimensions des précolonnes utilisées par les automates sont comprises entre 5 et 10 mm de longueur pour 2 à 4 mm de diamètre interne [105]. Ces précolonnes sont généralement destinées à un usage unique, même si certaines d'entre elles peuvent être réutilisées.

(c) *Diversité des supports*

Avant de commencer l'élaboration d'une procédure d'extraction, il est nécessaire de choisir le support SPE en fonction du type de matrices à analyser et de la nature des analytes à extraire. Une très grande diversité de phase est disponible auprès de nombreux fournisseurs. La connaissance des mécanismes de rétention des composés sur ces supports permet une optimisation plus facile de l'extraction. Pour cela, les adsorbants peuvent être classés en fonction de la nature et de l'intensité des interactions qu'ils développent avec les analytes (polaires, hydrophobes, ioniques).

- Supports polaires

La silice vierge, l'alumine, le Florisil (silicate de magnésium) et les silices greffées par des fonctions diol, nitrile ou amine primaire sont les principaux supports polaires proposés en SPE. Un des grands domaines d'application de ces supports est l'extraction de composés contenus dans des matrices organiques comme les huiles. En effet, les solvants hydrophobes présentent une faible force éluante pour ces supports conférant ainsi aux analytes une forte rétention. Ces adsorbants sont également dédiés à la purification de matrices solides suite à une première étape en solvant organique.

- Supports hydrophobes

Pour l'analyse des échantillons aqueux (eaux, fluides biologiques…), les supports les plus couramment utilisés sont de nature hydrophobe car l'eau présente, sur ce type de support, une très faible force éluante. Ils mettent alors en œuvre un mécanisme de polarité de phase inversée. Comme en LC, il est possible d'utiliser un support hydrophobe de silice greffée C18 pour la SPE. Cependant, le volume d'échantillon pouvant être percolé pour obtenir de grands rendements d'extraction avec ce type de support décroît très vite avec l'augmentation de la polarité des analytes ciblés. Un support SPE plus rétentif sera donc nécessaire pour des composés moyennement polaires tels que les explosifs organiques ciblés dans cette étude dans des volumes d'échantillons élevés.

Pour répondre aux limitations des supports de silice greffée C18, de nouveaux supports polymériques constitués principalement de copolymères apolaires de polystyrène-divinylbenzène (PS-DVB) ont été développés. Ces derniers développent à la fois des interactions hydrophobes et des interactions du type donneur-accepteur d'électrons π avec les analytes grâce aux noyaux aromatiques qui les composent. Ils présentent également l'avantage d'être stables sur toute la gamme de pH (0-14) contrairement aux supports de silice (pH 2-8). De plus, ces supports polymériques

commercialisés présentent des hautes surfaces spécifiques comprises entre 800 à 1200 $m^2.g^{-1}$. Le support Oasis HLB (*Hydrophilic Lipophilic Balance*, Waters) est un support polymérique très utilisé car il permet l'extraction d'une large gamme de composés en terme de polarité compte tenu de sa surface spécifique intermédiaire de l'ordre de 800 $m^2.g^{-1}$ [106]. Le motif du réseau polymérique est représenté en Figure I. 16.

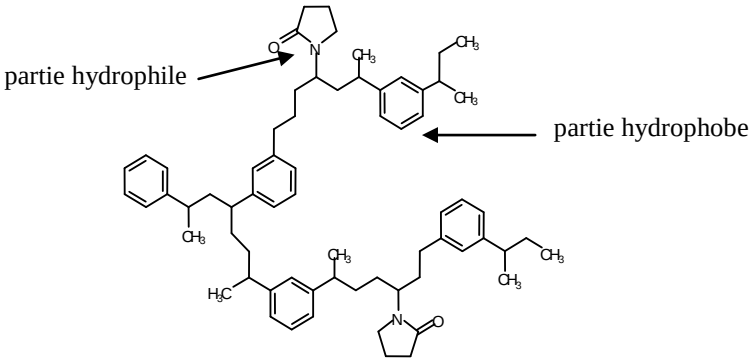


Figure I. 16. : Motif de la phase Oasis HLB.

Cette phase est constituée d'un monomère hydrophobe permettant la rétention des composés par interactions hydrophobes et d'un monomère hydrophile assurant une bonne mouillabilité lors de la percolation de l'échantillon aqueux et permettant le développement d'interactions polaires qui s'ajoutent aux mécanismes par interactions hydrophobes. Néanmoins, la surface spécifique reste le facteur prépondérant influençant la rétention ce qui amène les analystes à choisir des supports de haute surface spécifique pour l'extraction des composés les plus polaires.

La rétention peut néanmoins être insuffisante avec les supports polymériques, il convient alors d'utiliser du PGC qui développe des interactions supplémentaires avec les composés comme lorsqu'il est utilisé pour la séparation en LC [60, 107]. En effet, ce support met en jeu des interactions hydrophobes et de natures électroniques qui permettent de retenir les composés apolaires mais également certains composés très polaires dans des échantillons aqueux.

- Echangeurs d'ions

Dans le cas de composés ionisables, les interactions mises en jeu lors de l'extraction peuvent être de nature ionique en adaptant le pH de la solution. Le

mécanisme de rétention est alors fondé sur un mécanisme d'échange d'ions. Les supports d'extraction sont similaires aux phases utilisées en chromatographie d'échange d'ions c'est-à-dire que des groupements acides (acides carboxylique ou sulfonique) ou basiques (amines) sont greffés sur de la silice ou des résines polymériques. Les groupements acides ou basiques utilisés jouent alors le rôle d'échangeurs de cations ou d'échangeurs d'anions respectivement. Le principe de l'extraction consiste alors à retenir les composés par interactions électrostatiques sous leurs formes ionisées lors de la percolation puis le pH du solvant d'élution est ajusté pour que les composés se retrouvent sous leurs formes moléculaires. Dans l'impossibilité de se placer dans une zone où le composé est neutre, l'élution peut être réalisée par une solution de grande force ionique. Cependant, ce mécanisme de rétention est rarement mis en œuvre pour l'analyse directe de traces de composés dans les échantillons complexes car ces derniers contiennent de trop fortes teneurs en ions inorganiques saturant la capacité de l'échangeur.

- Supports à mécanismes mixtes

Jusqu'à présent les supports décrits sont fondés sur une rétention des composés par le développement d'interactions d'une seule nature ce qui peut engendrer l'extraction de nombreux interférents ayant des propriétés proches de celles des analytes ciblés. Ainsi, pour augmenter la sélectivité de l'extraction, des supports à mécanismes mixtes ont été développés.

Les premiers supports mixtes ont été fondés sur une rétention hydrophobe assurée par une silice greffée C18 associée à un greffage avec des fonctions échangeuses d'ions ou par un support polymérique hydrophobe possédant des motifs échangeurs d'ions grâce à l'association de différents monomères neutres et ayant des propriétés acido-basiques lors de la synthèse. Par conséquent, l'utilisation de ce type de support n'est possible que si les composés sont suffisamment hydrophobes et surtout ionisables. Ainsi, les composés sous leur forme neutre sont d'abord retenus par interactions hydrophobes permettant d'éliminer les composés les plus polaires et la grande majorité d'ions inorganiques. Ensuite, une solution dont le pH permet d'ioniser les composés cibles est ensuite percolée pour retenir les analytes par interactions électrostatiques, en plus des interactions hydrophobes déjà formées. Un solvant organique tel que l'ACN ou le MeOH permet d'éliminer les composés hydrophobes

avant l'élution avec un solvant organique contenant un acide ou une base pour rompre les deux types d'interactions.

Une autre phase permet également d'associer deux mécanismes de rétention pour rendre l'extraction plus sélective et est appelée phase à accès restreints (RAM, *Restricted Access Material*). Ce concept a été introduit en 1986 par T.C. Pinkerton [108] et repose sur un mécanisme d'exclusion stérique associé à une rétention par interactions hydrophobes (groupements alkyles) ou par échange d'ions. Un schéma de ce type de phase est présenté Figure I. 17.

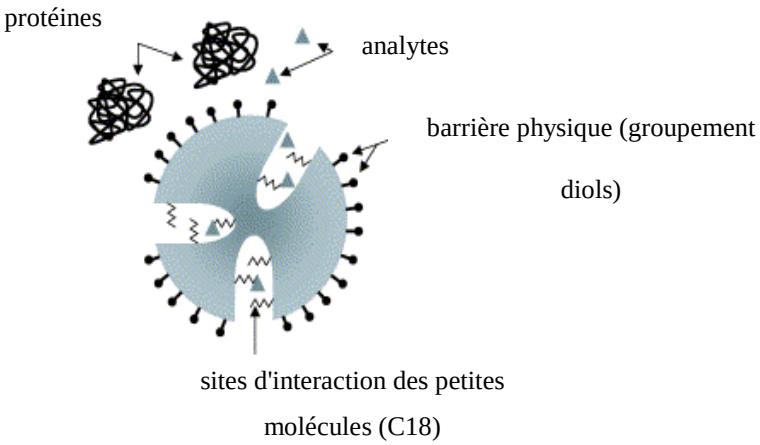


Figure I. 17. : Principe de fonctionnement d'une phase à accès restreint (RAM). Adapté de [109].

Ces phases ont été spécialement conçues pour l'extraction de composés de faibles poids moléculaires dans des matrices complexes renfermant des macromolécules interférentes que l'on souhaite éliminer. Ces colonnes sont donc typiquement utilisées pour l'analyse d'échantillons biologiques, tels que le plasma ou le sérum, pour l'élimination des protéines [109]. Les sites d'interaction se trouvent à l'intérieur des pores des particules de silice et ne sont pas accessibles aux macromolécules par la présence d'une barrière physique ou chimique. Ainsi les petites molécules peuvent être retenues à l'intérieur des pores alors que les plus grosses molécules sont exclues le revêtement extérieur polaire ne permettant pas leur rétention [110].

I. 4. 3. 3. *Extraction sur phase solide des explosifs*

L’extraction sur phase solide d’explosifs organiques a suscité un grand intérêt ces trente dernières années et les recherches ont suivi l’évolution des phases SPE disponibles. Ainsi, le nombre d’études portant sur le développement d’une méthode SPE est important devant le nombre de publications sur le développement de systèmes d’extraction liquide-liquide précédemment présentés. Les procédures mises au point dans ces différentes études portent sur l’extraction des explosifs présents dans des extraits organiques ou aqueux. En effet, la majorité des études est encore une fois liée à l’environnement et destinée à la purification et la préconcentration d’échantillons pour vérifier la présence d’explosifs polluant les eaux. Il y a néanmoins quelques études qui portent sur des échantillons post-attentat. Le Tableau I. 3 présente les conditions d’extraction développées dans les différentes études réalisées à ce sujet.

Tableau I. 3. Présentation des études d'extraction sur phase solide des explosifs organiques (les rendements présentés sont ceux obtenus pour les composés en gras également ciblés dans notre étude).

Analytes ciblés	échantillon	Volume percolé	Composition	Qté ou Dim	Rendements d'extraction	analyses	Ref
HMX, RDX, 1,3,5-TNB, 1,3-DNB, Ty, 2,4,6-TNT, 2,6-DNT, 2,4-DNT, NB, 4ADNT, 2ADNT, 2-NT, 3-NT, 4-NT	Eaux souterraines	2 mL	C18 (MetalSil)	75 x 4,6 mm	77 à 103%	LC/UV/ PAED	[35]
HMX, RDX, NG, PETN, 1,3,5-TNB, 1,3-DNB, Ty, 2,4,6-TNT, 2,4-DNT, 2,6-DNT, NB, 4ADNT, 2ADNT, 2-NT, 3-NT, 4-NT, 3,5-DNA	Eaux environnementales	1 L	Sty-DVB sulfonate (SDB-RPS) PVP-DVB (Porapak R)	n.r.	n.r.	LC/UV	[57, 111]
RDX, TNT	Eau de mer	160 mL	Sty-DVB sulfonate (SDB-RPS membrane)	47 x 0,5 mm	80 à 100%	LC/UV	[112]
HMX, RDX, 1,3,5-TNB, 1,3-DNB, Ty, 2,4,6-TNT, 2ADNT, **2,4-DNT**, 2-NT, 3-NT, 4-NT	Eaux souterraines	500 mL	PVP-DVB (Porapak R)	500 mg	80 à 133%	LC/UV	[59]
RDX, HMX, NG, PETN, 2,4,6-TNT, 2,4-DNT, 2,6-DNT, TAX, SEX	Eaux environnementales	500 mL	MA-DVB (Amberlite XAD-4)	1,1 g	≤ 39%	LC/UV LC/ED	[41]
RDX, TNT	Eaux environnementales	10 mL	PVP-DVB (Porapak RDX)	37 x 3,7 mm	≥ 90%	LC/UV	[113]
RDX, 1,3,5-TNB, 2,4,6-TNT, DNT, DNB, nitroso-RDX	Eaux souterraines	400 mL		500 mg	n.r.	LC/MS	[67]

RDX, HMX, 2,4,6-TNP, 1,3-DNB, 1,3,5-TNB, 2,6-DNT, 2,4-DNT, 2,4,6-TNT, Ty, 4A2NT, 2A6NT, 2A4NT, 2ADNT, 4ADNT, 2-NT, 4-NT, 3-NT, diphenylamine, hexyl	Eaux environnementales	50 mL	Sty-DVB (PolyF à 35% de Lichrolut EN)	60 mg	63 à 153%	LC/UV	[58]
2,4,6-TNT, 1,3,5-TNB, Ty,	Eau de mer	40 mL	(Lichrolut)	1 mg	n.r.	EC	[25]
HMX, RDX, 2,4,6-TNT, 2,4-DNT, 2,6-DNT,2,4,6-TNP, 2,4-DNBS	Sites contaminés (échantillons aqueux à différents pH)	n.r.	Sty-DVB (Lichrolut EN)	n.r.	≥ 80%	LC/MS	[66]
HMX, RDX, NG, PETN, 2,4,6-TNP, 2,4,6-TNT, 2,6-DNT, 2,4-DNT, 1,3-DNB, 1,3,5-TNB, Ty, hexyl, EGDN, DEGN, 4ADNT, 2ADNT, 2-NT, 3-NT, 4-NT, diphenylamine	Eau dopée	1 L	Sty-DVB (Lichrolut EN)	200 mg	88 à 101%	LC/UV	[114]
RDX, 1,3,5-TNB, 2,4,6-TNT, 2,4-DNT, 2-NT, 4-NT, 3-NT	Eau de rivière ou de mer	20 mL		25,4 x 0,75 mm	Moins de 20%	LC/UV	[34]
HMX, RDX, 2,4,6-TNT, 1,3,5-TNB, 2,4-DNT, 2,6-DNT, 1,3-DNB, 4ADNT, 2A6NT, 2ADNT, hexyl, nitrophénols, acide nitrobenzoïques	Eaux contaminées	400 mL		200 mg	n.r.	LC/UV	[42]
Nitrobenzène, nitrotoluène, nitrophénol, acide nitrobenzoïque	Eaux souterraines	1 L		n.r.	n.r.	LC/UV LC/RMN	[115]
HMX, RDX, PETN, 2,4,6-TNT, 1,3,5-TNB, 2,4-DNT, 2,6-DNT, Ty, 1,3-DNB	Extraits de sol (échantillon aqueux)	n.r.	MA-DVB (Abselut Nexus)	30 mg	n.r.	LC/MS	[54]

RDX, HMX, NG, PETN, 2,4,6-TNT, 2,6-DANT, 4ADNT	Eau de lac et de rivière	50 mL	Sty-DVB modifié chimiquement (Strata X)	30 mg	n.r.	LC/MS	[49]
RDX, HMX, PETN 2,4,6-TNT, 2,4-DNT, 2,6-DNT, Ty, 1,3-DNB, 1,3,5-TNB, 2,3-DNT, 3,5-DNT, 2,5-DNT, 1,2-DNB, 1,4-DNB, 2,4-DANT, 2,6-DANT, 2ADNT, 4ADNT	Eaux environnementales	10 mL	RP18 (RAM 500MS) PGC	n.r.	RAM : ≥ 73% PGC : ≥ 70%	LC/MS	[55]
EGDN, **NG, 2,4,6-TNT, RDX, Ty**, NB, **1,3,5-TNB, 2,4-DNT, PETN, HMX**, NC	Extraits de prélèvements (pentane)	3 mL	MA-DVB (Amberlite XAD-7)	10 mg	19 à 80%	GC/ECD	[11]
EGDN, **NG, 2,4,6-TNT, RDX, Ty**, NB, **1,3,5-TNB, 2,4-DNT**	Extraits de prélèvements (pentane)	1 mL		18 mg	n.r.	GC/TEA-ECD	[12]
RDX, NG, PETN, 2,4,6-TNT, 2,4-DNT, 2,6-DNT, 3,4-DNT, EGDN, NB, 2-NT, 3-NT, 4-NT	Extraits de prélèvements (EtOH/eau, 50/50)	n.r.	AN-DVB (Chromosorb 104)	n.r.	21 à 56%	GC/TEA ou GC/MS	[116]
HMX, RDX, 2,4,6-TNP, NG, PETN, Ty, 2,4,6-TNT, 2,6-DNT, 2,4-DNT, EGDN, NB, 2-NT, 3-NT, 4-NT	Extraits de prélèvements (eau/MeOH, 3/1)	n.r.	Sty-DVB (Porapak T) AN-DVB (Chromosorb 104)	n.r.	35 à 105%	LC/ED	[117]
RDX, NG, PETN, Ty, 2,4,6-TNT, 2,4-DNT, 2,6-DNT, EGDN, 2-NT, 3-NT, 4-NT, NB	Extraits de prélèvements (eau/MeOH, 3/1)	500 µL	Sty-DVB (Porapak T) AN-DVB (Chromosorb 104)	5 à 8 mg	50 à 92%	LC/ED	[118]

RDX, 2,4,6-TNT, Ty, PETN	Extraits de prélèvements (eau/acétone, 10/1)	11 mL	Cyclohexyl (Bond Elut CH) puis Cyanopropyl (Bond Elut CN)	500 mg	HMX : 24% Autres explosifs ≥ 95%	LC/UV	[119]
HMX, RDX, PETN, NG, 2,4,6-TNT, Ty, 2,4-DNT, EGDN	Extraits de prélèvements (extrait aqueux)	25 mL	Sty-DVB (Porapak RDX) **PVP-DVB (Oasis HLB)** Sty-DVB (SDB-XC disk)	**60 mg**	**80 à 110%**	LC/UV, LC/MS, GC/MS et GC/TEA	[120]
RDX, HMX, NG, PETN, 2,4,6-TNT, 2,6-DNT, 2,4-DNT, 1,3,5-TNB, 1,3-DNB, EGDN	Extraits de prélèvements (eau/MeOH, 90/10)	50 mL	Sty-DVB (SDB-1) Sty-DVB (Lichrolut EN) C18 (Lichrolut RP18) **PVP-DVB (Oasis HLB)**	200 mg	**86 à 102%**	LC/UV LC/MS	[2, 121]

2,4-DANT : 2,4-diaminonitrotoluène, 2,4-DNBS : 2,4-dinitrobenzoïque, 2,6-DANT : 2,6-diaminonitrotoluène, 2A4NT : 2-amino-4-nitrotoluène, 2A6NT : 2-amino-6-nitrotoluène, 2ADNT : 2-amino-4,6-dinitrotoluène, 3,5-DNA : 3,5-dinitroaniline, 4A2NT : 4-amino-2-nitrotoluène, 4-ADNT : 4-amino-2,6-dinitrotoluène, AN : acrylonitrile, DEGN : diéthylène glycol dihydrate, dim : dimensions, ECD : détecteur à capture d'électron, ED : détection électrochimique, EGDN : ethylène glycol dintrate, EtOH : éthanol, MA : méthacrylate, NB : nitrobenzène, NC : nitrocellulose, n.r. : non renseigné, PVP : polyvinylpyridine, Qté : quantité, Ref : référence, RMN : Résonance magnétique nucléaire, SBB-RPS : copolymère de poly(styrènedivylbenzène), SEX : 1-acetyloctahydro-3,5,7-tétrazocine, Sty : styrène, TAX : 1-acetylhexahydro-3,5-dinitro-1,3,5-triazine, TEA : détecteur à chimiluminescence, UV : ultraviolet

Les explosifs nitrés sont compris dans une gamme de polarité assez large puisque leurs log P varient de 0,82 à 2,38. Il est donc nécessaire d'utiliser des adsorbants très rétentifs, capables de retenir des composés polaires et des composés relativement apolaires jusqu'à l'élution.

De nombreux travaux ont été réalisés avec des adsorbants de natures différentes sur lesquels une procédure d'extraction a été appliquée mais le manque de données ne permet pas toujours de conclure sur les performances des supports. Par exemple, la méthode EPA qui récapitule la procédure SPE destinée aux explosifs propose deux supports qui sont des polymères de styrène-DVB d'un côté et PVP-DVB de l'autre sans donner aucune information sur la quantité de phase et les rendements d'extraction obtenus grâce à cette procédure.

Dans la plupart des études des adsorbants hydrophobes tels que des polymères, de la silice greffée C18, du PGC ont été utilisés dans le but de percoler des échantillons aqueux. Certains travaux, qui ont été réalisés à l'aide du MA-DVB, ont conduit à de faibles rendements d'extraction ($\leq$ 39 %) lors de la percolation de 500 mL d'eau sur 1,1 g de phase [41]. Cette phase a également été utilisée pour des échantillons de faibles volumes de pentane et les rendements obtenus sont compris entre 19 et 80 % pour des nitroaromatiques et des nitramines [11-12]. Les phases hydrophobes semblent donc plus adaptées.

Il est important de noter que dans la plupart des études, il n'y a pas d'étape de lavage [25, 42, 49, 59, 67, 110, 113-115] ou alors celle-ci est réalisée avec le même solvant que le solvant de percolation [11-12, 41, 55, 58, 117-118]. Ces différentes procédures sont donc très peu éluantes et par conséquent difficilement applicables à des matrices complexes. En effet, dans ces conditions, des phénomènes de coélution sont à prévoir.

Kruppa et al. ont réalisé l'extraction de l'ensemble des explosifs nitrés ciblés dans notre étude à partir d'1 L d'eau dopée sur 200 mg d'un support composé de Sty-DVB avec des rendements supérieurs à 88 % [114]. Ces bons résultats ont néanmoins été obtenus sans étape de lavage et n'ont pas été répétés pour un échantillon réel. D'autres travaux réalisés par Jenkins et al. présentent aussi de bons rendements d'extraction pour 500 mL d'eaux souterraines contenant des nitroaromatiques et des esters nitrés avec 500 mg de PVP-DVB [59]. Cependant, cette fois encore, il n'y a pas d'étape de lavage.

Des adsorbants en silice greffée C18 et de PGC ont également permis d'obtenir de bons rendements d'extraction, supérieurs à 70 %, lorsqu'ils ont été utilisés en ligne pour des eaux environnementales [35, 55]. Cependant, les volumes d'échantillon n'excédaient pas 10 mL.

Enfin, deux études réalisées par Thompson et al. et Tachon et al. dans le but d'analyser des échantillons prélevés post-attentat ont d'avantage attiré notre attention [2, 120-121]. Dans ces études, plusieurs adsorbants ont été comparés et elles ont montré que le support en PVP-DVB (Oasis HLB) a permis d'obtenir les meilleurs résultats en termes de rétention avec des rendements d'extraction supérieurs à 80 % pour des volumes d'échantillon allant jusqu'à 50 mL et une quantité de phase ne dépassant pas 200 mg.

Pour conclure, la SPE a été largement étudiée au cours des trente dernières années pour des échantillons essentiellement aqueux. Elle permet d'extraire simultanément les explosifs nitroaromatiques, nitramines et esters nitrés comme l'a par exemple montré R. Tachon [121]. De plus, cette technique peut à la fois être réalisée en amont de l'analyse ou bien en ligne selon les besoins. Cependant, les supports de SPE conduisent à la coextraction de composés de polarité similaire à celle des analytes ciblés et donc des problèmes de coélution lors de l'analyse chromatographique. Ces coélutions génèrent des problèmes de quantification aussi bien en détection UV qu'en détection par spectrométrie de masse. En effet, si cette dernière est performante en termes de spécificité du signal, il a été souvent rapporté que l'analyse quantitative était sujette à des phénomènes de suppression ou d'exaltation du signal généré par la présence des composés coélués. L'utilisation de la SPE pour des échantillons complexes ne permet donc pas de résoudre tous les problèmes d'identification et de quantification. L'étude de R. Tachon a d'ailleurs mis en évidence ces différentes difficultés [2, 121]. En effet, lors de l'analyse en LC/UV, des interférents compliquent l'identification et la quantification malgré une étape de lavage optimisée dans la procédure de SPE, comme cela est représenté sur la Figure I. 18. Il a aussi été confronté aux difficultés d'analyse en LC/MS.

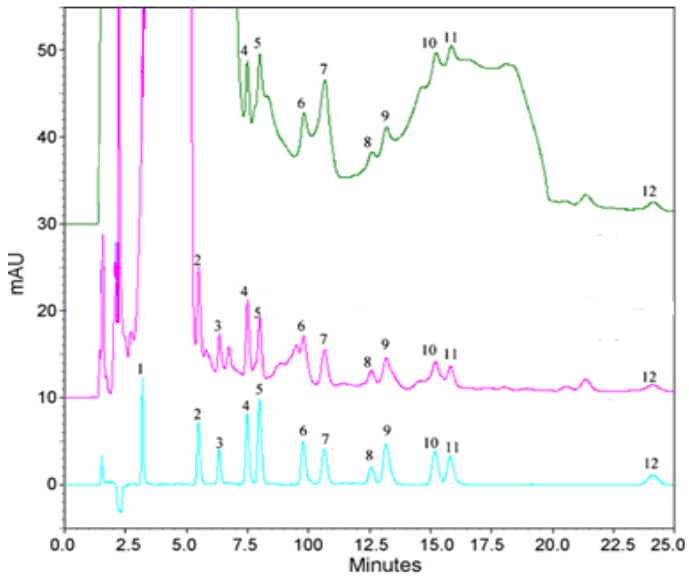


Figure I. 18. : Chromatogramme obtenu par R. Tachon pour un étalon (en bleu), après extraction d'un échantillon complexe sur un support Oasis HLB après percolation d'eau pure dopée suivi d'un lavage composé d'un mélange eau/MeOH (50/50) et d'un élution à l'ACN (en rose) et sans extraction (en vert) (adapté de [2, 121]).

Afin de diminuer encore l'emploi de solvant organique et de tendre vers des méthodes de terrain, des techniques d'extraction sur phase solide miniaturisées telles que la microextraction sur phase solide ont été développées.

I. 4. 4. La microextraction sur phase solide

La microextraction sur phase solide a été employée par de nombreuses équipes dans le but de mettre au point une méthode de traitement de l'échantillon miniaturisée pour extraire les explosifs nitrés. Le format de cette méthode en fait une méthode facilement utilisable sur le terrain ce qui peut facilement expliquer l'intérêt porté à cette technique.

I. 4. 4. 1. *Principe*

La méthode de microextraction sur phase solide (Solid Phase MicroExtraction, SPME) a été développée en 1989 par Pawliszyn et al. [122]. Cette technique miniaturisée, dérivée de la SPE, est simple, rapide et ne nécessite aucun solvant. De plus, elle est utilisée dans de nombreux domaines tels que l'environnement,

l'agroalimentaire, la biologie, la toxicologie, la pharmacie [123-128] car elle peut être utilisée pour des échantillons de nature variée (solide, liquide ou gazeuse) [129].

Le dispositif de SPME, présenté sur la Figure I. 19, est composé d'une aiguille creuse dans laquelle se trouve une fibre de silice fondue de 110 µm dont la surface est recouverte d'un polymère d'une épaisseur allant de 7 à 100 µm sur une longueur d'environ 1 cm. Le polymère le plus utilisé est le polydiméthylsiloxane (PDMS). Cependant, il existe également des revêtements plus polaires pour l'extraction des composés les plus polaires.

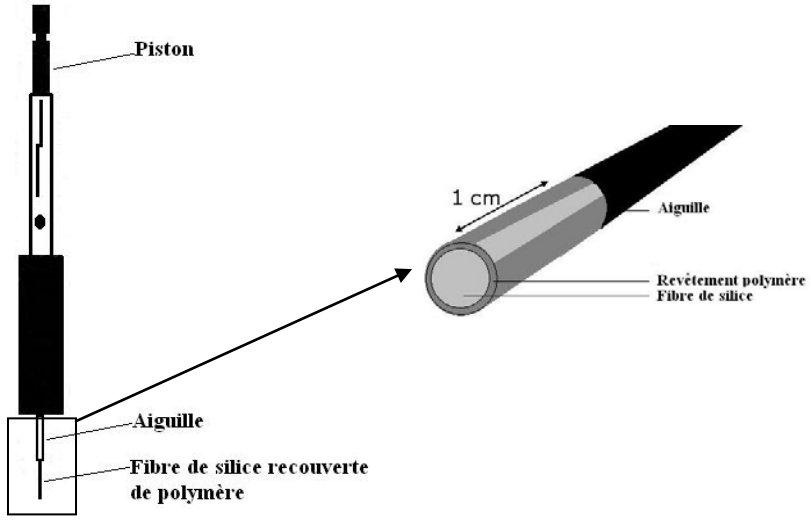


Figure I. 19. : Représentation du dispositif de SPME (adapté de [130]).

L'extraction repose sur un équilibre de partage entre la phase liquide ou gazeuse de l'échantillon et le polymère recouvrant le barreau de silice. Pour cela, la fibre est immergée dans l'échantillon liquide pour les composés peu volatils, ou disposée dans l'espace de tête du flacon lorsque les composés sont volatils ou lorsque la matrice de l'échantillon est complexe [128]. Ce processus de partage qui conduit à une extraction partielle des composés est influencé, principalement, par la nature et l'épaisseur de la fibre, ainsi que par la durée de l'extraction [128, 131].

La constante de partage peut varier d'une matrice à l'autre conduisant alors à une analyse semi-quantitative, la quantification nécessitant de travailler par ajout dosé ou avec un étalon interne dont la nature doit être proche des analytes ciblés. De plus, cette technique présente d'autres limitations. En effet, la quantité extraite dépend principalement de la constante de partage (K) de l'analyte entre l'échantillon et le revêtement ainsi que du volume de revêtement disponible très faible (inférieur à 0,5

µL). Ainsi, les taux d'extraction obtenus par cette méthode sont faibles, inférieurs ou égaux à 20 %. Les substances polaires qui présentent, de faibles valeurs de K, semblent donc mal adaptées à cette technique et le faible volume du revêtement limite la sensibilité [132].

Enfin, cette méthode a tout de même l'avantage d'être transportable, ce qui élimine les problèmes liés au transport tels que la conservation et la perte de matière. En effet, les échantillons environnementaux peuvent être traités sur site. De plus, le couplage avec la GC est aisé et très souvent utilisé en mode headspace pour l'analyse de composés volatils grâce à la désorption thermique des composés de la fibre directement dans l'interface de l'injecteur.

I. 4. 4. 2. *Applications*

La SPME a été largement utilisée dans des procédures d'analyse d'explosifs organiques. Le Tableau I. 4 présente de manière synthétique des applications concernant l'utilisation de la SPME pour l'extraction d'explosifs organiques. Cette technique, comme les précédentes, a été employée pour la plupart des applications recensées, dans le but d'extraire les explosifs d'échantillons d'eaux issues de différentes natures telles que les rivières, les océans, les eaux souterraines… ainsi que dans des échantillons de sols. Leur présence démontre la pollution des eaux suite à des guerres même très anciennes par leur pénétration dans les sols et dissolution dans les eaux souterraines.

La gamme de polarité de l'ensemble des composés ciblés (nitroaromatiques, nitramines et esters nitrés) est relativement large avec des log P compris entre 0,82 et 2,38. De plus, ce sont des composés peu volatils c'est pourquoi l'immersion a été choisie plutôt que l'extraction en espace de tête pour des échantillons liquides lorsque les résultats de ces deux méthodes ont été comparés [13, 16-17, 21, 31-32, 44, 51, 72, 133-135].

Tableau I. 4. : Résumé des études portant sur les procédures de SPME destinées à l'extraction des explosifs organiques (les conditions optimums sont présentés en rouge lorsque plusieurs conditions ont été testées, *LDD des composés en gras).

Analytes	**Echantillon**	**Fibre (épaisseur en µm)**	**mode**	**Analyses**	**LDD* (µg/L)**	**Ref**
vNB, isophorone, **2,4-DNT, 2,6-DNT**	Eau de lac	PDMS (100)	immersion	GC/FID	15	[134]
2,4,6-TNT, Ty, 1,3,5-TNB,1,3-DNB, 2,4-DNT, 2ADNT, 4ADNT, 2-NT, 3-NT, 4-NT	Eaux usées, de rivière, de lac et potable	PDMS/DVB (60)	immersion	LC/UV	0,17-0,92	[51]
3-NT, 4-NT, NB, 2-NBA, 3-NBA, 4-NBA, 2,4-CNT, 1,2-DNB, **1,3-DNB,** 1,4-DNB**, 2,4-DNT**, 2,5-DNT**, 2,6-DNT,** 3,4-DNT**, 2,4,6-TNT,** 5-NIPA-DME	Eaux usées	PDMS (7, 100 PA (85) **PDMS/DVB (65)**	**Immersion** espace de tête	GC/ECNI/ MS	5.10^{-5}-$3,6.10^{-2}$	[13]
NB, 2-NT, 4-NT, **1,3-DNB, 2,4-DNT, 2,6-DNT, 2,4,6-TNT**	Eau de mer, souterraine	PPESK coated (30)	immersion	GC/ECD GC/TSD	$2,2.10^{-2}$-$1,26.10^{-1}$ (GC/TSD) 5.10^{-5}-$4,3.10^{-4}$ (GC/ECD)	[133]
2,4,6-TNT, 2ADNT, 4ADNT**, 2,4-DNT,** NB, 2-NT	Eau pure dopée Extraits de sol	Copolymère de silicone/poly carbonate (61,2)	n.r.	GC/IR	50 (2,4,6-TNT) 80 (2,4-DNT)	[136]
RDX, HMX, 1,3-DNB, 1,3,5-TNB, 2,4,6-TNT, 3,4-DNT**, 2,4-DNT,** 4ADNT	Eaux de mer	**Cw/TPR (50)** PDMS/DVB (60) PA (85)	immersion	LC/UV	1,3-10,1	[31]

2,4,6-TNT, RDX, 2ADNT, 4ADNT, **2,4-DNT**	Eau d'océan	PDMS (100) PA (85) PDMS/DVB (65) **Cw/DVB (65)**	immersion	GC/MS	0,010 (2,4,6-TNT) 0,325 (RDX)	[17]
Nitroaromatiques, Nitramines (liste méthode EPA 8330)	Eau pure	Cw/TPR (50)	immersion	LC/UV	n.r.	[44]
2-NT, 3-NT, 4-NT, NB**, 2,6-DNT, 1,3-DNB, 2,4-DNT, 2,4,6-TNT, 1,3,5-TNB,** 4ADNT, 2ADNT**, Ty, nitramines**	Extrait aqueux post explosion	PDMS (100) **PDMS/DVB (65)** PA (85) Cx/PDMS (75) Cw/DVB (65) Cw/TPR (50)	**Immersion** espace de tête	GC/ECD LC/UV	SPME/GC :0,09-0,61 SPME/LC : 0,6-110	[32]
2,4,6-TNT, 2,4-DNT, 2,6-DNT, 1,3-DNB	Air (vapeurs)	PDMS/DVB (65)	Espace de tête	GC/ECD	n.r.	[137]
2-NT, 3-NT, 4-NT, NB, **2,6-DNT, 1,3-DNB, 2,4-DNT,2,4,6- TNT, 1,3,5-TNB,** 4ADNT, 2ADNT, **Ty, nitramines**	Eau du robinet ou de rivière	PDMS/DVB (65)	immersion	GC/MS	0,03-1,1	[72]
2,6-DNT, 1,3-DNB, 2,4-DNT, 2,4,6-TNT, 1,3,5-TNB, 4ADNT, 2ADNT**, Ty, nitramines**	Eau d'océan	**Cw/DVB (65)** PDMS/DVB (65) PA (85)	immersion	GC/ECD	0,05-0,81	[21]

2-NT, 4-NT, DMNB, NC, **2,4-DNT, 2,6-DNT,2,4,6-TNT, RDX, PETN**	Air (vapeurs)	PDMS	Espace de tête	IMS	n.r.	[138]
2,4,6-TNT, 2,4-DNT, Ty, RDX	Air (vapeurs)	La(dihed)-coated (7) PDMS (30)	Espace de tête	GC/MS	n.r.	[139]
HMX, RDX	Aqueuse (potable, rivière…) + SDS 0-1 mM (**0,5**)	Cw/TPR (50)	immersion	LC/UV	0,05 (HMX) 0,1 (RDX)	[135]
EGDN, NB, 2-NT,3-NT, 4-NT, **NG, 1,3-DNB, 2,6-DNT, 2,4-DNT, 1,3,5-TNB, 2,4,6-TNT, PETN, RDX,** 4ADNT, 2ADNT, **Ty, HMX**	Extrait aqueux post explosion	PDMS (100) Cx/PDMS (75) **PDMS/DVB (65)** PA (85)	immersion	GC/ECD	n.r.	[16]
2-NT, 3-NT, 4-NT, NB, **NG, 2,6-DNT, 1,3-DNB, 2,4-DNT, 2,4,6-TNT, 1,3,5-TNB,** 4ADNT, 3,5-DNA, 2ADNT**, Ty**	Extraits de sol (50-250µL d'eau)	PDMS/DVB (65)	Espace de tête	GC/MS	n.r.	[22]

2,4-CNT : 2-chloro-4-nitrotoluène, 2ADNT : 2-amino-4,6-dinitrotoluène, 2-NBA : 2-nitrobenzaldéhyde, 3,5-DNA : 3,5-dinitroaniline, 3-NBA : 3-nitrobenzaldéhyde, 4ADNT : 4-amino-2,6-dinitrotoluène, 4-NBA : 4-nitrobenzaldéhyde, 5-NIPA-DME : acide diméthyle ester 5-nitroisophtalique, Cw : carbowax, Cx : carboxen, DMNB : 2, 3-diméthyl-2,3-dinitrobutane, ECD : détecteur à capture d'électron, ECNI : détecteur à capture d'électron par ionisation négative, EGDN : ethylène glycol dintrate, IMS : spectrométrie de mobilité d'ion, IR : infrarouge, NB : nitrobenzène, NC : nitrocellulose, n.r. : non renseigné, PA : polyacrylamide, PDMS polydiméthylsiloxane, PPESK : poly(phtalazine ether sulfone ketone), Ref : référence, SDS : Dodécysulfate de sodium, TPR : résine , TSD : détecteur thermoionique spécifique, UV : ultraviolet.

La majorité des mises au point d'extraction par SPME ont eu comme objectif la concentration des nitroaromatiques et des nitramines (RDX et/ou HMX) simultanément dans des échantillons aqueux. Furton et al. ainsi que Calderara et al. ont également ajouté les esters nitrés à leur liste d'analytes [16, 32]. De nombreuses fibres ont été testées et souvent comparées et il ressort que la fibre la plus utilisée est le PDMS/DVB. En effet, cette dernière permet à la fois de retenir les nitroaromatiques et les esters nitrés moyennement polaires et les nitramines plus polaires.

Les procédures de SPME des différentes publications sont difficilement comparables puisque les techniques d'analyses sont très différentes les unes des autres avec des analyses en GC couplées à différents détecteurs ou en LC. Cependant, lorsque les LDD sont données, elles sont souvent autour du µg/L tel que c'était le cas pour les précédentes méthodes d'extraction. Deux études se démarquent avec des LDD de l'ordre du ng/L voir du pg/L [13, 133] avec des analyses en GC/ECNI/MS, GC/ECD et GC/TSD. Les explosifs peu volatils comme le RDX, le HMX, le Ty et le PETN entraînent des gammes de LDD plus importantes car ils sont plus difficiles à extraire en SPME. Ces composés font néanmoins parties de notre étude, il est donc nécessaire de mettre au point une méthode de préconcentration et de purification de l'échantillon qui permette de faciliter leur analyse.

I. 5. Procédure du LCPP concernant les composés organiques

Le Laboratoire Central de la Préfecture de Police de Paris est composé d'une équipe chargée d'analyser les preuves relevées sur les lieux d'une explosion. L'objectif est de pouvoir reconstituer la composition des bombes utilisées pour proférer des attaques terroristes ce qui permet d'aider les services de police dans leur enquête pour retrouver les auteurs des faits.

L'analyse des preuves récupérées après un attentat s'effectue en suivant les nombreuses étapes d'un protocole permettant de retrouver une partie de la composition initiale de l'explosif. Le mode opératoire suivi a été développé lors de la thèse de R. Tachon [1] et est présenté Figure I. 20.

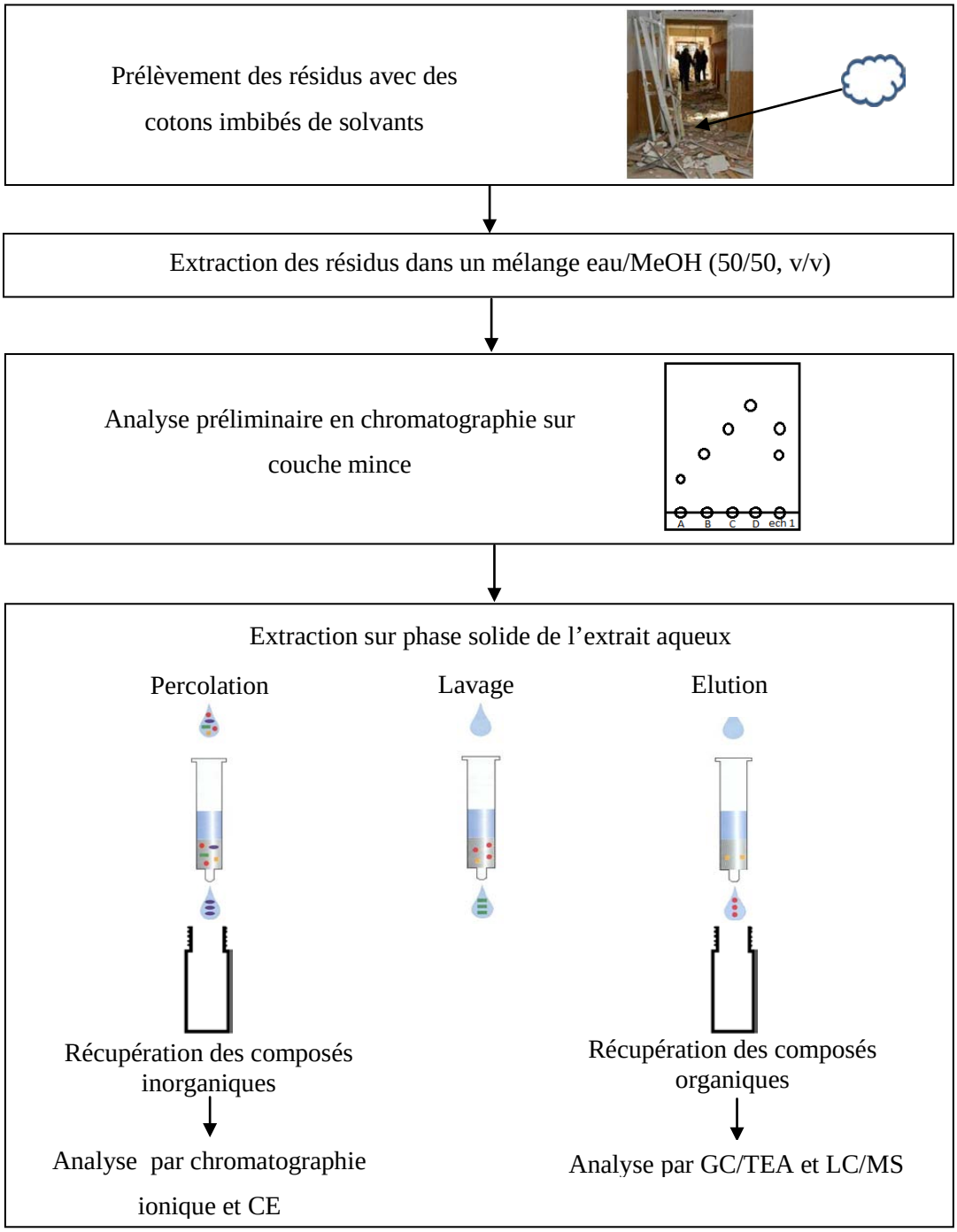


Figure I. 20. : Schéma global d'analyse des résidus d'explosifs.

La première étape consiste à récolter les objets susceptibles de contenir des traces d'explosifs en surface. Dans le cas où ces objets seraient trop encombrants, le prélèvement des explosifs est réalisé sur le lieu de l'attentat. La récupération des traces est effectuée avec un coton qui est imbibé d'un mélange d'eau et de solvant organique (eau/MeOH, 50/50, v/v). L'extraction des composés du coton est ensuite réalisée avec

ce même mélange hydroorganique permettant d'obtenir un extrait a contenant à la fois les composés organiques et inorganiques.

Une pré-analyse de l'extrait obtenu peut déjà être effectuée en chromatographie sur couche mince (CCM). Cette dernière, de mise en œuvre simple, permet de savoir d'une part si l'échantillon est très sale, c'est-à-dire s'il y a des interférents, et d'autre part de savoir s'il y a bien des explosifs dans l'extrait. Pour cela, la plaque de silice obtenue est observée sous UV, l'apparition de nombreux spots démontrant la présence de nombreux composés. Puis le réactif de Bratton-Marshall qui réagit uniquement avec les nitroaromatiques, est introduit sur la plaque qui est de nouveau observée sous UV lorsque qu'ils sont suspectés ou la potasse alcoolique + réactif de Griess sont déposés sur la plaque lorsque les esters nitrés sont suspectés. Cette dernière observation permet de savoir s'il y a des composés nitrés sur la plaque avec la présence de spots colorés dus à la réaction entre les composés nitrés et le produit utilisé. Si la présence de composés nitrés est vérifiée, une analyse par chromatographie gazeuse et/ou liquide est effectuée.

Cependant, compte tenu de la complexité des échantillons et de faibles teneurs en explosifs, une étape de préconcentration et de purification est préalablement réalisée en SPE. Pour cela, R. Tachon a développé une procédure de traitement de l'extrait aqueux sur un support Oasis HLB pour l'extraction des explosifs nitroaroamatiques, des nitramines et des esters nitrés simultanément. Les composés inorganiques sont alors récupérés dans le percolat pour être analysés en chromatographie ionique (IC) et par électrophorèse capillaire grâce à l'étude de C. Sarazin [140-141]. Ce sont essentiellement des ions issus des réactions d'oxydoréduction produites lors de l'explosion. Contrairement aux composés organiques qui produisent lors de l'explosion des gaz qui sont présents naturellement dans l'atmosphère tel que le diazote, le dioxyde de carbone, les composés inorganiques conduisent, après explosion, à des ions qui sont identifiables et s'ils sont présents en forte quantité et il sera possible d'affirmer qu'ils proviennent de l'attentat.

Après une étape de lavage du support en milieu hydroorganique, l'élution des composés organiques fixés sur le support est réalisée avec de l'ACN. L'éluat est alors collecté puis analysé par deux techniques. Il est tout d'abord analysé par chromatographie gazeuse couplée à un détecteur à chimiluminescence (GC/TEA), qui permet l'analyse des molécules les plus volatils renfermant un groupement NO_2. Cette détection spécifique permet de limiter très fortement les erreurs d'identification mais elle ne permet pas l'analyse des composés les moins volatils, c'est pour cela qu'une

analyse en LC/MS est effectuée par la suite. Le spectromètre de masse permet alors d'identifier chaque pic d'élution grâce à son rapport masse sur charge [3]. Cependant, les échantillons sont souvent complexes et la présence des interférents ne permet pas toujours d'identifier aisément les explosifs utilisés comme cela a été montré précédemment sur la Figure I. 18.

I. 6. Conclusions

Les différentes études menées jusqu'à présent sur l'analyse des explosifs se sont essentiellement tournées vers les matrices aqueuses environnementales et les sols. Peu d'études telles que celles de Thompson et de Tachon entrent dans l'objectif d'analyser des échantillons issus de prélèvements sur une scène d'attentat. Ce contexte est d'autant plus important que l'analyse de ces échantillons est très complexe de par la diversité des échantillons retrouvés sur une scène d'attentat et les faibles teneurs des composés recherchés. En effet, ce sont les molécules qui n'ont pas subi l'explosion qui sont recherchées dans le cas des explosifs organiques. Il n'est pas possible de rechercher les produits résultant de l'explosion car ce sont des gaz naturellement présents dans l'atmosphère tels que O_2, N_2…

Dans ce contexte, la procédure permettant l'identification de la charge explosive doit être mise au point minutieusement. Pour cela, l'analyse chromatographique couplée à la spectrométrie de masse permet l'identification des composés à la fois grâce au temps de rétention et au spectre de masse des composés recherchés à conditions que les isomères de position soient séparés ce qui peut être obtenu grâce à l'utilisation d'une colonne de type PGC en plus de la MS. Cependant, la spécificité de la spectrométrie de masse ne suffit pas dans le cas d'échantillon complexe c'est pourquoi une étape de traitement de l'échantillon est indispensable dans ce cas. La SPE est la technique mise au point et utilisée au LCPP pour permettre de purifier les échantillons et de préconcentrer les explosifs organiques.

La rétention sur les supports conventionnels présentés dans ce chapitre est principalement liée à la polarité des molécules et donc tous les composés de même polarité que les analytes ciblés sont coextraits avec ces derniers rendant ainsi leur identification difficile. Pour remédier à ce manque de sélectivité, des supports sélectifs basés sur un mécanisme de reconnaissance moléculaire ont été développés comme les

immunoadsorbants, utilisant des anticorps spécifiques des molécules cibles, ou bien les polymères à empreintes moléculaires.

Chapitre II
Supports à empreintes moléculaires pour le traitement de composés à l'état de traces dans des échantillons complexes

II. 1. Introduction

L'analyse chromatographique d'explosifs présents dans des échantillons complexes obtenus lors de prélèvements après attentat présente encore dans de nombreux cas des difficultés d'identification. En effet, l'application d'une méthode de purification des échantillons grâce à un support conventionnel n'est pas toujours suffisante et des interférents peuvent encore être coélués avec les explosifs ciblés ce qui peut gêner leur identification et leur quantification en LC/UV et fausser la quantification en LC/MS par des phénomènes de suppression ou d'exaltation du signal. Pour remédier à ces difficultés, des supports d'extraction sélectifs ont vu leur apparition il y a quelques années et ont fait l'objet de nombreuses études.

Ces supports sélectifs sont synthétisés pour l'extraction d'une molécule ciblée ou une famille de molécules de structures proches. La rétention est alors basée à la fois sur des interactions, le plus souvent non covalentes, entre le support et des groupements spécifiques de la cible, et sur une reconnaissance de forme de celle-ci, ce mécanisme portant le nom de reconnaissance moléculaire. Une première approche consiste à développer et produire des anticorps spécifiques des composés ciblés dans le but de les intégrer dans des cartouches de SPE. Une approche plus récente repose sur la synthèse et l'utilisation de supports polymériques imprimés qui sont considérés comme des anticorps synthétiques. Enfin, les aptamères, simples brins d'ADN ou d'ARN, spécifiquement sélectionnés pour développer une forte affinité avec un ligand, et immobilisés sur un support solide ont été récemment mis au point pour le domaine de la SPE.

Ces différents supports sélectifs vont être ainsi présentés de sorte à mettre en évidence leurs avantages et leurs inconvénients en fonction des caractéristiques recherchées. Enfin, les travaux réalisés sur l'utilisation de supports sélectifs à des fins d'extraction d'explosifs nitrés seront également décrits. Cependant, jusqu'à présent peu

d'études ont été réalisées sur le développement de supports sélectifs destinés aux explosifs car ces derniers sont principalement recherchés dans des matrices environnementales, souvent moins complexes que les échantillons post-attentat qui nous intéressent.

II. 2. Les immunoadsorbants

II. 2. 1. Principe

L'immunoextraction consiste à utiliser des anticorps immobilisés sur un support solide, appelés alors immunoadsorbants (IS). Ces derniers permettent d'extraire sélectivement le composé ciblé par l'exploitation de la forte affinité de l'interaction anticorps-antigène. En effet, il en résulte des constantes d'affinité élevées, d'environ 10^8 à 10^{12} $mol.L^{-1}$. Les anticorps sont également capables de fixer, plus ou moins fortement, des analytes de structures proches de celui utilisé pour l'immunisation. Ce phénomène est alors appelé réactivité croisée.

L'immunoextraction a été la première méthode d'extraction sélective développée et basée sur la reconnaissance moléculaire. Elle est réalisée à l'aide d'IS sur lesquels une procédure de type SPE est appliquée. Lors de la percolation de l'échantillon, les composés ciblés sont retenus de manière spécifique par les anticorps. Une étape de lavage peut être réalisée pour éliminer les composés interférents, retenus par interactions non spécifiques. Enfin, l'élution consiste à rompre l'interaction antigène-anticorps afin de récupérer un extrait contenant uniquement les molécules d'intérêt.

L'échantillon percolé doit être aqueux pour se placer dans des conditions proches du milieu physiologique dans lesquelles les anticorps ont été produits. Une solution purement aqueuse ou avec un faible pourcentage de solvant organique est généralement utilisée comme solution de lavage [142]. L'élution est réalisée en modifiant la conformation de l'anticorps ce qui modifie alors la géométrie du site de reconnaissance qui n'est alors plus complémentaire à celle de l'antigène. Concernant les petites molécules, une solution hydro-organique, comportant jusqu'à 80 % de solvant organique, permettra l'élution des analytes sans induire la dénaturation irréversible des anticorps. Dans un contexte de développement, il est possible de réutiliser l'IS après une étape de régénération des anticorps dans une solution de tampon salin durant 48h à 4°C [143]. Lorsque l'IS est utilisé pour un usage unique les solvants organiques sont

fréquemment utilisés purs, la dénaturation irréversible des anticorps n'étant, dans ce cas, pas une limite.

II. 2. 2. Immunoextraction des explosifs

Les propriétés des anticorps ont été exploitées dans la conception de plusieurs bioessais destinés aux explosifs [144-152]. Smith et son équipe ont publié une revue en 2008 présentant le grand nombre de publications portant sur les bioessais et les immunocapteurs destinés aux explosifs [153]. Cependant, les études publiées ne présentent que des anticorps anti-TNT [144, 151-152], anti-DNT [144] et anti-RDX [144]. De plus, ils ont pour la plupart été mis au point dans le but de pouvoir analyser des eaux souterraines ou des extraits de sols *in situ* et être plus rapides et plus sensibles que la méthode EPA 8330. Ces méthodes bio-analytiques présentent l'avantage d'être simples à utiliser et plus mobiles que les méthodes chromatographiques conventionnelles. Cependant, des phénomènes d'effets de matrices, perturbant la réponse du bioessai et conduisant à des résultats erronés, ont cependant été observés [112].

Finalement, une seule immunoextraction a été décrite en 2001 pour l'extraction du 2,4,6-TNT par immobilisation d'anticorps anti 2,4,6-TNT par voie sol-gel [154]. Pour cela, une solution de tampon phosphate salin (PBS) dopée avec du 2,4,6-TNT peut alors être percolée suivi d'un lavage avec du PBS et d'une élution à l'éthanol absolu. La quantification du 2,4,6-TNT est ensuite réalisée avec un test ELISA pour lequel la fraction d'élution est diluée pour ne pas dépasser 10 % de solvant organique. La procédure d'extraction présente des rendements d'environ 100 %. L'étude des interactions non spécifiques a également été réalisée en parallèle de l'étude de la capacité des supports. Dans ce but, deux supports de contrôle ont été réalisés, le premier avec des anticorps non spécifiques du 2,4,6-TNT greffés sur la matrice sol-gel, et le second sans aucun greffage. En revanche, aucune application en milieu réel n'a été réalisée et la réactivité croisée n'a pas été évaluée. A ce titre, plusieurs anticorps anti-TNT sont actuellement disponibles et ont été comparés lors de leur utilisation en tests ELISA [146]. Ces derniers ont des réactivités croisées variables mais l'un d'entre eux présente une forte affinité vis-à-vis du 1,3,5-TNB qui peut donc également être détecté.

L'immunoextraction des explosifs n'a pas suscité d'intérêt depuis cette étude. Cela peut s'expliquer par le coût élevé de production des anticorps mais peut être également parce que jusqu'à présent la majorité des développements a porté sur l'extraction de plusieurs explosifs simultanément dans des matrices environnementales pour lesquelles la méthode EPA 8330 semble être satisfaisante. De plus, ces dernières années des alternatives à l'utilisation des anticorps pour développer des supports d'extraction sélectifs ont émergé comme les polymères à empreintes moléculaires et les oligoadsorbants.

II. 3. Les oligoadsorbants

II. 3. 1. Présentation des aptamères

Les oligoadsorbants sont basés sur l'utilisation d'aptamères immobilisés sur un support solide. Les aptamères sont des oligonucléotides artificiels de longueur généralement comprise entre 20 et 60 nucléotides capables de se lier spécifiquement à un ligand avec une affinité qui peut atteindre celle des anticorps pour leur antigène. Ces acides nucléiques sont sélectionnés parmi une banque très complexe d'acides nucléiques par un procédé itératif appelé SELEX c'est-à-dire « Systematic Evolution of Ligands by EXponential enrichment ». Les aptamères peuvent être conçus pour différentes cibles comme les ions métalliques divalents [155], les petites molécules organiques [156], les protéines [157] et les cellules [158].

A l'heure actuelle, les aptamères peuvent avoir plusieurs applications. En effet, ils peuvent être utilisés sur des capteurs, dans des bioessais, sur des supports chromatographiques et dernièrement sur des supports d'extraction destinés à la SPE [159]. D'ailleurs, quelques études ont été menées très récemment dans notre laboratoire pour développer des supports destinés à la SPE à base d'aptamères sélectifs vis-à-vis de la cocaïne [160-161] et de l'ochratoxine A [162].

Les aptamères constituent une sérieuse alternative aux IS. En effet, une fois la séquence identifiée par le SELEX, l'aptamère est synthétisé chimiquement. C'est donc un mode de synthèse peu coûteux et entraînant peu de variation lot à lot. De plus, il est possible d'introduire des modifications lors de leur synthèse pour améliorer leur stabilité, leur spécificité, leur immobilisation ou la détection du dispositif final lors de leur utilisation en bioessais. La taille plus réduite des aptamères, qui représente environ

un dixième de celle des anticorps [163], doit aussi permettre un greffage plus dense sur le support d'immobilisation.

La principale limitation actuelle des aptamères est le nombre encore limité de cibles pour lesquelles les aptamères ont été sélectionnés. Cependant, cette technologie est très jeune et en plein essor, la multiplication des applications et les récentes avancées du procédé SELEX démontrent leur grand potentiel.

II. 3. 2. Reconnaissance des explosifs par les aptamères

A l'heure actuelle, seules deux études ont été publiées sur l'utilisation d'un aptamère capable de retenir sélectivement le 2,4,6-TNT [164-165]. Ces aptamères ont été immobilisés pour réaliser des capteurs du 2,4,6-TNT avec une détection par fluorescence pour des extraits de sols [164] et par microbalance à quartz (QCM) pour des échantillons aqueux [165]. Cette dernière présente également une séquence capable de retenir sélectivement le DNT, mais sans préciser quel est l'isomère ciblé. La rétention du 2,4,6-TNT et du DNT a été comparée dans cette étude avec la rétention sur le support d'immobilisation sans greffage d'aptamère et la sélectivité du support a ainsi été démontrée.

Il est donc maintenant envisageable de concevoir des supports de SPE avec des aptamères immobilisés ciblant le 2,4,6-TNT ou le DNT puisque la séquence a été publiée très récemment [165] et cela à moindre coût. Cependant, les aptamères sont en général très spécifiques de la cible utilisée et il est fort probable qu'ils ne présentent pas de réactivité croisée vis-à-vis des autres explosifs organiques ciblés dans notre étude. Ainsi, devant la nécessité de faire fabriquer les aptamères pour nos différentes cibles et la grande réactivité croisée souhaitée dans notre étude, l'utilisation de support aussi sélectif que les aptamères a semblé difficile. C'est pourquoi, une autre approche de reconnaissance moléculaire a été envisagé en tant que support de SPE pouvant être synthétisé rapidement et à moindre coût. Il s'agit des supports à empreintes moléculaires.

II. 4. Les supports à empreintes moléculaires

II. 4. 1. Principe de l'impression moléculaire

L'impression moléculaire consiste à synthétiser un polymère renfermant des cavités spécifiques d'une molécule empreinte, appelée *template*. Le monomère est choisi de façon à développer de fortes interactions, le plus souvent non covalentes, avec le *template*. La polymérisation va ensuite s'effectuer dans un solvant porogène entre les monomères complexés avec le *template* et un agent réticulant de façon à former des cavités spécifiques. Les liaisons entre le *template* et les monomères sont ensuite rompues à l'aide de solvants adéquats pour extraire le *template* du support polymérique. Les cavités sont alors complémentaires de la molécule empreinte en forme et en taille et renferment des sites d'interactions spécifiques à cette même molécule comme le montre la Figure II. 1.

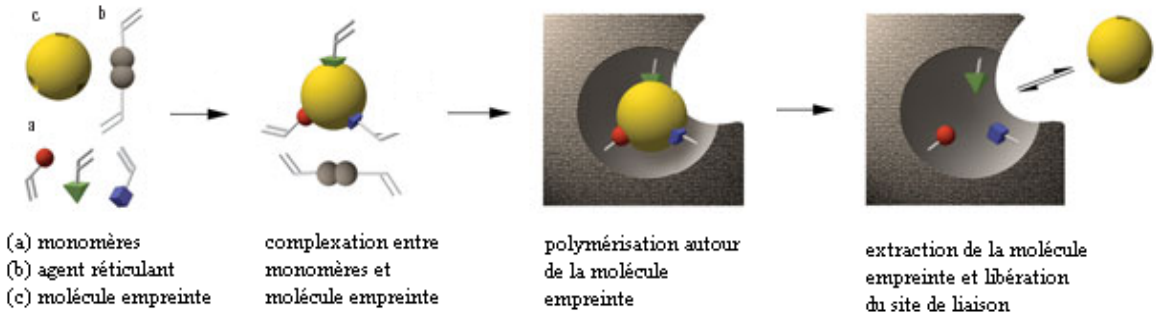


Figure II. 1. : Principe de l'impression moléculaire, adapté de [166].

Au même titre que les IS et les oligoadsorbants, la rétention de la molécule cible est fondée sur un mécanisme de reconnaissance moléculaire.

Le choix de la molécule empreinte est très important. Cette dernière peut être la molécule cible ou encore une molécule de structure proche de la cible. Un analogue structural peut être employé lorsqu'il est difficile d'obtenir la molécule cible en quantité suffisante pour réaliser une synthèse avec un coût raisonnable. Son utilisation permet également d'éviter le phénomène de relargage tardif de la molécule utilisée pendant l'impression qui fausserait alors la quantification des analytes lors de l'extraction.

II. 4. 2. Synthèse de polymères à empreintes moléculaires par voie radicalaire

II. 4. 2. 1. *Introduction*

Les supports imprimés sont le plus souvent synthétisés par polymérisation radicalaire et alors appelés polymères à empreintes moléculaires (Molecularly Imprinted Polymers, MIP). Pour cela, la synthèse du polymère est réalisée à l'aide de monomères organiques capables de former des interactions stables avec la molécule empreinte. Il est donc nécessaire de comprendre le principe de la polymérisation radicalaire classique pour pouvoir l'appliquer à la conception des MIP, mais également de savoir choisir convenablement les réactifs pour pouvoir former les cavités et les interactions permettant la rétention de la cible.

II. 4. 2. 2. *Principe de la polymérisation radicalaire*

La réaction de polymérisation par voie radicalaire, ou polymérisation en chaîne, est une réaction au cours de laquelle une molécule est additionnée sur un centre actif porté par la chaîne macromoléculaire en cours de croissance. La polymérisation s'effectue en plusieurs étapes appelées amorçage, propagation et terminaison.

(a) *L'amorçage*

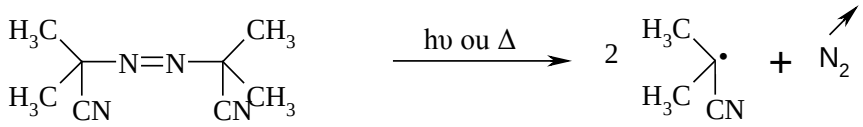
Cette étape est aussi appelée initiation et comprend deux réactions successives : dans un premier temps, des radicaux libres sont générés dans le mélange réactionnel à partir de l'amorceur ou initiateur radicalaire introduit, et dans un second temps, le radical est additionné à la première unité de monomère pour former le début de la chaîne du polymère en croissance. La première réaction constitue l'étape lente de ce processus d'amorçage et déterminera donc la vitesse globale du processus d'amorçage.

Les radicaux libres doivent être capables de réagir avec le monomère et l'agent réticulant. Ils sont formés par rupture homolytique intramoléculaire d'une liaison chimique labile de l'initiateur radicalaire permettant d'avoir un ou plusieurs électrons non appariés sur leur couche externe. L'énergie nécessaire pour rompre cette liaison est apportée lors de la synthèse d'un MIP soit par voie thermique, en générant des radicaux

par décomposition thermique, soit par voie photochimique, en générant les radicaux sous l'action du rayonnement lumineux ou UV.

Les peroxydes et les dérivés azoïques tels que l'azobisisobutyronitrile (AIBN) constituent les deux familles d'initiateur radicalaire les plus utilisées pour concevoir des MIP. Les peroxydes présentent une liaison oxygène-oxygène faible permettant d'obtenir facilement des radicaux libres. Dans le cas de l'AIBN, la rupture homolytique de la liaison peut avoir lieu sous UV à 345 nm en utilisant une lampe à vapeur de mercure ou par voie thermique à environ 60-65 °C. Les réactions ayant lieu à l'amorçage sont présentées sur la Figure II. 2 dans le cas de l'AIBN et de l'acide méthacrylique (MAA), monomère le plus couramment utilisé lors de la synthèse de MIP.

1) Réaction de décomposition de l'AIBN



2) Réaction d'addition du radical sur le monomère

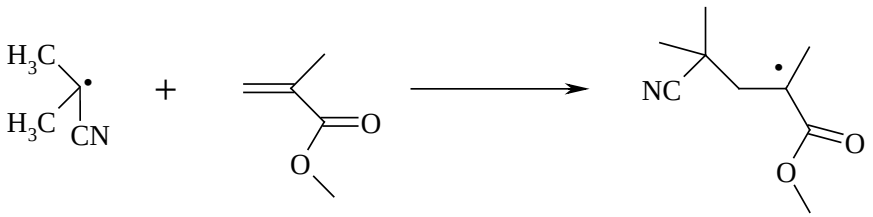


Figure II. 2. : Schéma de l'amorçage de la polymérisation radicalaire du MAA avec l'AIBN (adapté de [167]).

(b) *La propagation*

La propagation (ou croissance) est l'étape principale de la polymérisation radicalaire durant laquelle le réseau polymérique se forme. C'est également l'étape la plus fréquente, au cours de laquelle la chaîne macromoléculaire se forme par additions successives d'unités de monomères sur le centre actif en croissance. Le radical porté au bout de la chaîne polymérique attaque un monomère insaturé encore présent en solution et l'associe à la macromolécule. En raison de la grande réactivité des radicaux libres qui propagent la réaction et la faible énergie d'activation nécessaire, la formation des chaînes est très rapide.

La figure II.3 présente la propagation conduisant à la formation d'un polymère à partir du MAA.

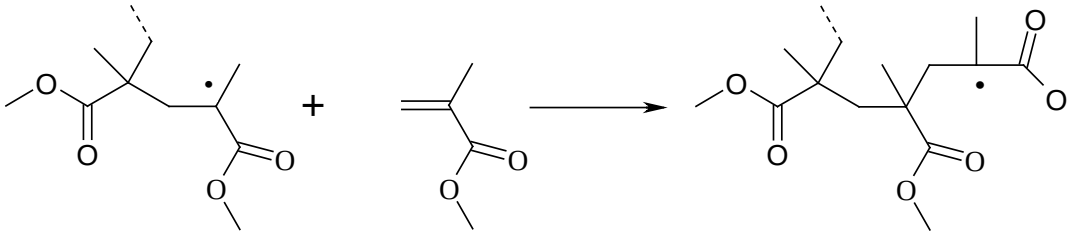


Figure II. 3. : Réaction de propagation lors de la polymérisation du MAA [167].

(c) *La terminaison*

La terminaison est l'arrêt de la propagation de la chaîne par réaction des radicaux libres pour former une liaison covalente. Le plus souvent, l'interaction entre deux extrémités de chaîne en croissance termine la formation du polymère soit par combinaison (addition) des deux macromolécules actives pour former une liaison entre les électrons célibataires, soit par dismutation avec le passage d'un hydrogène d'une des macromolécules actives à l'autre formant ainsi deux macromolécules distinctes.

(d) *L'inhibition*

Certains réactifs ont une tendance marquée à réagir avec les radicaux (polymères ou non) pour donner des substances très stables et incapables, par conséquent, de réamorcer une nouvelle macromolécule, et la chaîne réactionnelle est ainsi interrompue. Ce phénomène est appelé inhibition de la réaction de polymérisation. Ces substances, appelées inhibiteurs, sont d'ailleurs utilisées pour stabiliser les monomères et éviter leur polymérisation intempestive, notamment lors de leur stockage ou de leur transport.

Le mécanisme d'inhibition est complexe car, si certaines substances sont capables de bloquer la polymérisation, d'autres sont simplement des agents retardateurs. Par exemple, l'hydroquinone est un inhibiteur commun de la polymérisation des monomères vinyliques et il est d'une grande importance pratique. En effet, les monomères vinyliques sont très réactifs. Ainsi, l'hydroquinone est souvent ajoutée pour pouvoir les stocker et les transporter en toute sécurité.

L'oxygène résiduel dissout dans le mélange réactionnel se comporte comme un diradical en perturbant aussi fortement les réactions de polymérisation. Son rôle est

complexe : l'oxygène se comporte à la fois comme un inhibiteur ou retardateur, comme un co-monomère et même dans certains cas comme un initiateur. En effet, il y a compétition entre la réaction d'addition de l'oxygène et la réaction de propagation qui est beaucoup plus lente. La réaction de polymérisation ne démarre pas avant que tout l'oxygène ne soit consommé. La sensibilité des réactions de polymérisation radicalaire à l'oxygène pose un problème, c'est pourquoi il est indispensable d'éliminer l'oxygène dissout du mélange de polymérisation car il bloque les radicaux libres et il retarde, voir même arrête, la polymérisation. Dégazer le mélange de polymérisation à l'argon ou à l'azote avant l'initiation est alors primordial.

II. 4. 2. 3. *Application aux MIP*

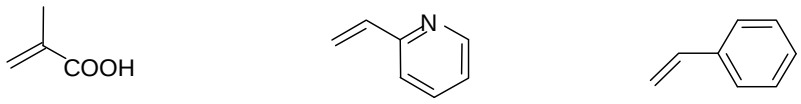
Lors de la synthèse d'un MIP, la polymérisation radicalaire va avoir lieu de la même façon que lors d'une synthèse de polymère classique mais le choix des réactifs va dépendre des interactions à développer avec les analytes ciblés. Il faut donc porter une attention très particulière aux réactifs employés.

(a) *Choix des réactifs*

Le choix des réactifs va conditionner totalement la structure et la nature chimique des sites d'interaction et la capacité de reconnaissance moléculaire. Tout d'abord, le *template* peut être soit la molécule cible, soit une molécule de structure proche pouvant former les mêmes interactions que la molécule cible avec le monomère. Il doit être stable chimiquement dans les conditions de polymérisation et être soluble dans le solvant de synthèse [168-169].

Concernant le choix du monomère, il doit être capable de former des interactions avec le *template*. En vue de l'utilisation des MIP en SPE, des interactions *template*-monomère non covalentes sont le plus souvent développées lors de la polymérisation comme les liaisons hydrogène, les interactions électrostatiques, les interactions de nature hydrophobe, les liaisons de type π–π ou les interactions métal-ligand. Ainsi, l'acide méthacrylique est le monomère le plus utilisé si la molécule empreinte présente des propriétés basiques. En effet, des interactions de type liaisons hydrogène et/ou électrostatiques pourront se développer suivant la nature du solvant. La vinylpyridine sera privilégiée si la molécule empreinte est acide. En revanche, dans le cas où la

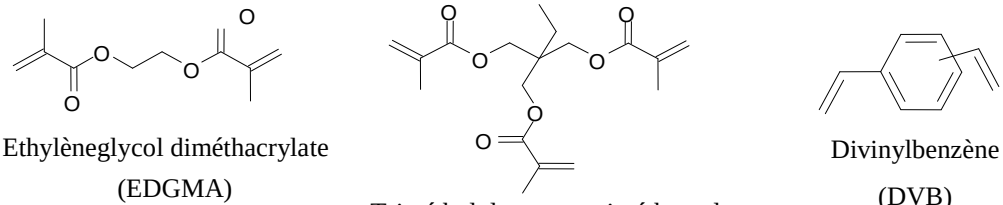
molécule ne présente pas de sites acido-basiques marqués, il sera préférable de choisir le styrène capable de former des interactions de nature hydrophobe ou de type $\pi-\pi$ [169]. La Figure II. 4 présente les trois monomères cités précédemment et qui sont couramment utilisés pour la synthèse des MIP. D'autres monomères utilisés dans des synthèses de MIP sont également présentés en annexe 2.



acide méthacrylique (MAA) | 2-vinylpyridine (2-VP) | Styrène (Sty)

Figure II. 4. : Monomères fréquemment utilisés lors de la synthèse de MIP.

L'agent réticulant est choisi en fonction du monomère, tous deux doivent avoir une réactivité semblable pour que la copolymérisation s'effectue aléatoirement. De plus, il confère au polymère ses propriétés mécaniques et fige la structure des sites de reconnaissance moléculaire. Les agents réticulant les plus utilisés sont présentés en Figure II. 5 et une liste plus importante d'agents réticulant est également présenté en annexe 2.



Ethylèneglycol diméthacrylate (EDGMA) | Triméthylolpropane triméthacrylate (TRIM) | Divinylbenzène (DVB)

Figure II. 5. : Agents réticulant fréquemment utilisés lors de la synthèse de MIP.

Le choix du type d'initiation dépend quant à lui entre autre du *template* et de la structure du matériau souhaitée. Si ce dernier n'est pas stable à la température, il faudra procéder à une initiation photochimique alors que, s'il est photodégradable, on préfèrera une initiation thermique. Cependant, le type d'initiation dépend également de la vitesse de polymérisation et de la résolution spatiale souhaitée. En effet, l'initiation par voie photochimique permet d'obtenir une meilleure résolution spatiale que l'initiation

thermique. L'AIBN est l'initiateur le plus couramment utilisé car il fonctionne aussi bien pour les deux types d'initiation.

Enfin, le solvant de synthèse, ou porogène, doit permettre la solubilisation de tous les réactifs. De celui-ci va aussi dépendre la nature et la force des interactions entre le *template* et le monomère car il doit permettre la stabilisation du complexe *template*-monomère. C'est pour cela que des solvants aprotiques et peu polaires tels que l'ACN ou le DCM sont généralement utilisés afin de favoriser le développement d'interactions polaires entre le *template* et le monomère telles que les liaisons hydrogène et/ou électrostatiques. A l'inverse, un solvant polaire sera utilisé pour le développement d'interactions de nature hydrophobe [169].

La proportion relative de l'ensemble des réactifs est également un facteur très important car il joue un rôle majeur dans la sélectivité. L'agent réticulant doit se trouver en excès molaire par rapport aux autres réactifs pour permettre l'obtention de cavités bien définies. Cependant, il ne faut pas que l'agent réticulant soit en trop large excès car dans ce cas la sélectivité peut être moins importante. Il faut donc que la quantité d'agent réticulant permette l'obtention d'une structure rigide avec des cavités régulières en forme et en taille. La proportion de monomères fonctionnels est quant à elle déterminée par rapport à la quantité de *template*. Pour favoriser les interactions, le monomère sera introduit en plus grande quantité par rapport au *template*.

Le ratio molaire utilisé le plus souvent lors de synthèse de MIP est 1/4/20 (*template*/monomère/agent réticulant ou T/M/AR) [169-170]. Cette proportion semble être la plus favorable pour la réalisation de la plupart des polymères en bloc. En effet, elle permet de pouvoir former plusieurs interactions monomère-*template* lorsque plusieurs groupements de même nature constituent la molécule empreinte pour avoir davantage de rétention. Il sera alors plus difficile de rompre ces interactions au sein de la cavité. Enfin, cette dernière sera alors mieux formée autour de la molécule empreinte et donc plus sélective.

(b) *Polymérisation par voie radicalaire en bloc des MIP*

La voie de synthèse la plus utilisée pour préparer des supports imprimés de SPE est la polymérisation en bloc par voie radicalaire que nous avons réalisée à plusieurs reprises dans le cadre de cette étude. Elle se déroule en plusieurs étapes qui peuvent prendre de 4 à 5 jours.

Lors de la première étape, tous les réactifs nécessaires à la synthèse sont introduits dans un flacon : le *template*, le monomère fonctionnel, l'agent réticulant, le solvant et l'initiateur. Les réactifs sont mélangés par agitation du flacon pour obtenir une solution limpide. Puis cette dernière est transvasée dans un tube à sceller plongé dans de la glace et dégazée sous un léger flux d'azote pendant 10 min environ. Ceci permet d'éliminer l'oxygène dissout, capable de produire des radicaux libres qui perturberaient la polymérisation. Le tube est ensuite bouché pour que l'air ne puisse plus pénétrer à l'intérieur. Enfin, il est placé au bain-marie pendant 24 heures, pour procéder à une initiation thermique, ou sous une lampe UV pour une initiation photochimique. L'étape suivante est le broyage et le tamisage du polymère obtenu alors sous forme de bloc (monolithe). Le but est d'obtenir des particules dont la granulométrie est généralement comprise entre 25 et 36 µm. Le broyage peut être effectué à la main dans un mortier ou à l'aide d'un broyeur automatique. De même, le tamisage peut être effectué manuellement ou automatiquement. La troisième étape est la sédimentation qui sert à éliminer les fines particules encore présentes après le tamisage. Pour cela, les particules sont introduites dans un mélange hydroorganique. L'étape est répétée plusieurs fois jusqu'à ce que le surnageant devienne limpide, les particules de grande taille ayant décanté au fond du flacon. Ces particules de polymère sont ensuite laissées à l'air libre pour être séchées. La dernière étape consiste à éliminer le *template* du MIP. Pour ce faire, une quantité donnée de polymère peut être introduite dans une cartouche d'extraction entre deux frittés afin de percoler une grande quantité de solvant, très éluant par rapport aux interactions privilégiées au cours de la synthèse, afin d'entraîner la molécule empreinte avec lui. Les différentes étapes de la synthèse sont récapitulées sur le schéma présenté sur la Figure II. 6. Il est important de noter que ce procédé a un rendement total souvent inférieur à 50 %, cela est notamment dû à la perte des particules très fines lors du tamisage et de la sédimentation.

Les MIP, ainsi synthétisés, présentent un grand potentiel et sont très développés à l'heure actuelle pour servir de support de SPE. Cependant, ce type de support peut être limitant pour une utilisation en milieu aqueux compte tenu de la nature des matériaux spécifiques développés qui privilégient souvent le développement d'interactions polaires difficiles à mettre en œuvre dans ce milieu. Un autre procédé de synthèse de support imprimé synthétisé par voie sol-gel peut être une alternative intéressante dans ces conditions puisque la synthèse est réalisée dans l'eau.

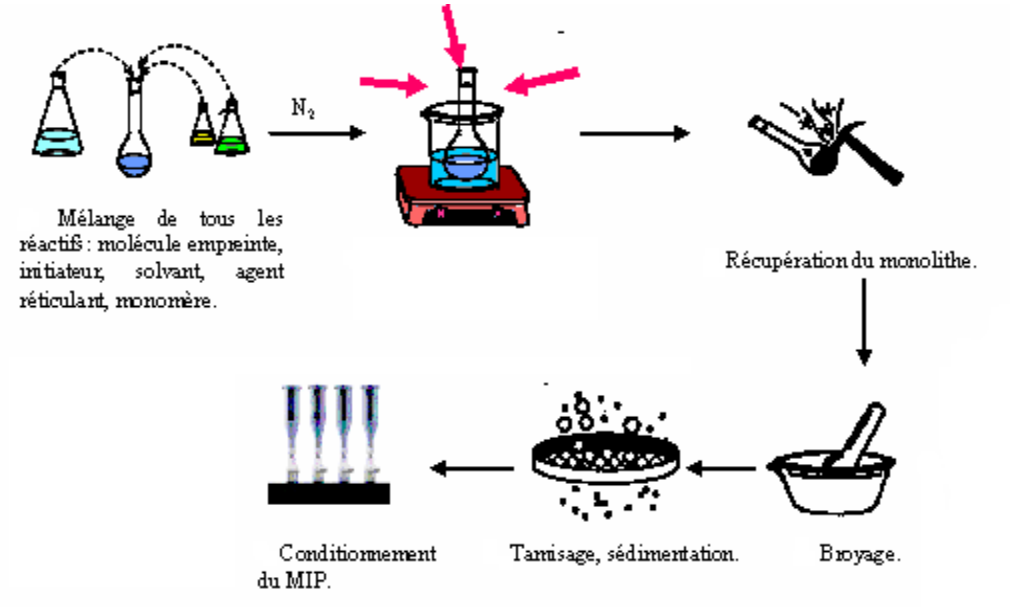


Figure II. 6. : Récapitulatif des différentes étapes de la synthèse d'un MIP, adapté de [170].

II. 4. 3. Synthèse de support à empreintes moléculaires par voie sol-gel

II. 4. 3. 1. *Introduction*

Le sol-gel est une technique qui connaît un nouvel essor ces dernières années avec un champ d'application qui s'est considérablement agrandi car il permet de concevoir des surfaces fonctionnalisées pour faire des supports chromatographiques, des capteurs mais aussi pour faire des supports imprimés. En effet, le sol-gel a montré qu'il présentait de nombreux avantages au cours de son utilisation.

Les supports à empreintes moléculaires synthétisés par voie-sol gel sont à base d'organosilanes et appelés MIS (Molecularly Imprinted Silicas). Ces derniers constituent une alternative très intéressante aux MIP pour permettre l'impression de molécules difficilement réalisable par voie radicalaire. Pour illustration, des supports à empreintes moléculaires ont déjà été conçus pour des molécules hydrophiles telles que les saccharides, les phosphates, les phosphonates, les organophosphonates, les sulphonates, les drogues et les protéines… [171-172].

II. 4. 3. 2. *Principe du procédé sol-gel*

Le procédé sol-gel permet de fabriquer un « polymère » inorganique par des réactions chimiques simples et à des températures comprises entre 20 et 150 °C. De manière générale, la synthèse est effectuée à partir d'alcoolates de formule $M(OR)_n$ où M est un métal ou le silicium et R un groupement organique alkyle C_nH_{2n+1}. Un des intérêts de ce procédé est que ces précurseurs existent pour un grand nombre de métaux et non-métaux. Ils sont soit sous forme liquide soit sous forme solide et soluble, pour la plupart, dans des solvants usuels. Il est donc possible de préparer des mélanges homogènes de monomères (précurseurs) ou oligomères. En ce qui concerne les MIS, ils sont conçus à partir de silanes, c'est-à-dire que le monomère utilisé est composé de silice ($Si(OR)_4$).

La formation de ce polymère est réalisée à partir de réactions chimiques simples déclenchées lorsque les réactifs sont mis en présence d'eau et d'un catalyseur: l'hydrolyse des groupements alkoxide intervient tout d'abord, puis la condensation des produits hydrolysés conduit à la gélification du système [167].

(a) *L'hydrolyse*

L'hydrolyse est la réaction au cours de laquelle les groupements alkoxyde (OR) des silanes réagissent en présence d'eau pour donner des fonctions hydroxyles (OH) et ainsi obtenir des silanols. L'utilisation d'un catalyseur permet une réaction plus rapide et plus complète.

L'hydrolyse des alkoxysilanes s'effectue comme suit :

$$Si(OR)_4 + H_2O \longrightarrow HO\text{-}Si(OR)_3 + ROH$$

Selon la quantité d'eau et de catalyseur employée, l'hydrolyse se poursuit pour obtenir :

$$Si(OR)_4 + 4\,H_2O \longrightarrow Si(OH)_4 + 4\,ROH$$

ou une hydrolyse partielle avec $Si(OR)_{4-n}(OH)_n$.

(b) *La condensation*

L'étape de condensation est celle qui permet d'obtenir un « polymère ». En effet, les silanols formés lors de l'hydrolyse vont réagir entre eux pour former des ponts siloxanes et ainsi se lier en libérant une molécule d'eau ou d'alcool. Cette étape débute

dans la plupart des conditions avant que l'étape d'hydrolyse ne soit terminée. La condensation peut donc se produire entre des molécules partiellement ou complètement hydrolysées et des molécules qui peuvent ne pas avoir été encore hydrolysées.

Les réactions suivantes présentent la condensation entre des molécules partiellement hydrolysées :

$$(OR)_3Si\text{-}OH + HO\text{-}Si(OR)_3 \longrightarrow (OR)_3Si\text{-}O\text{-}Si(OR)_3 + H_2O$$

Ou

$$(OR)_3Si\text{-}OR + HO\text{-}Si(OR)_3 \longrightarrow (OR)_3Si\text{-}O\text{-}Si(OR)_3 + ROH$$

Pendant la transformation du milieu réactionnel, la viscosité augmente passant du sol, qui est défini comme la suspension colloïdale de très petites particules, à un réseau rigide et poreux appelé gel.

La densité de réticulation, la porosité et l'homogénéité des sites fonctionnels dépendent du pH, de l'âge du polymère, de la méthode d'évaporation du solvant, de la solubilité des réactifs avec l'eau et du type de catalyseur. Ces conditions sont donc celles qui doivent être étudiées en vue d'une optimisation [172].

Le sol-gel nécessite des conditions douces pour préparer un support réticulé et robuste. La structure du gel dépend énormément du catalyseur et du pH auquel se fait la polymérisation. En effet, le pH détermine l'étape limitante de la réaction des silanes dans le sol. L'utilisation d'un catalyseur acide entraîne une étape d'hydrolyse lente et une condensation rapide donc c'est la croissance du « polymère » qui est favorisée devant la réticulation. Le polymère formé est alors plutôt homogène, avec de petits pores et une grande surface spécifique. Avec un catalyseur basique, c'est l'inverse qui se produit, l'hydrolyse est l'étape rapide et la condensation est lente. Dans ce cas, la chaîne polymérique va se réticuler rapidement et former des particules pour former une structure hétérogène, obtenue plus rapidement qu'en catalyse acide. La surface spécifique est plus faible et les pores sont plus grands donc la densité du « polymère » en catalyse basique sera plus faible [167]. Cependant, ce type de catalyse permet une plus forte réticulation, ce qui est très important pour concevoir un support de SPE.

II. 4. 3. 3. *Propriétés*

De nombreux livres et revues ont été écrits sur les propriétés des matériaux sol-gel avec plus de détails sur cette technique [174-176]. Les sol-gel sont des matériaux très rigides qui offrent une très grande surface ainsi qu'une grande porosité. La forte densité de réticulation conduit à un gonflement négligeable dans tous les solvants même à température élevée. Cette propriété est celle recherchée lors de la conception d'un support imprimé destiné à la SPE car cela permet de préserver la structure des cavités et la distribution spatiale des groupements fonctionnels.

De plus, les matériaux sol-gel sont stables vis-à-vis du vieillissement mais aussi de l'oxydation [167, 173]. Leur propriété la plus importante reste tout de même d'être synthétisable en solution aqueuse. Contrairement aux MIP organiques, où l'eau rivalise avec les petites molécules pour se fixer dans les cavités, il y a une grande affinité et une amélioration des liaisons dans les sites imprimés. Les matériaux sol-gel apparaissent donc comme un environnement intéressant pour concevoir des supports imprimés en milieu aqueux [172].

II. 4. 3. 4. *Application aux MIS*

Le procédé sol-gel apparait comme une méthode de choix pour réaliser un support imprimé inorganique. En effet, comme il est réalisé à une température proche de la température ambiante, il est idéal pour former des complexes monomères-*template* stables à l'aide d'interactions faibles telles que les liaisons non covalentes (liaisons hydrogène, interactions de Van Der Waals…).

Pour synthétiser un MIS, il suffit d'utiliser des précurseurs qui sont composés à la fois de fonctions hydrolysables générant le réseau silicaté et des fonctions organiques qui restent greffées au squelette minéral. Les fonctions organiques vont ainsi pouvoir interagir avec le *template* au cours de la synthèse et aider à la formation des cavités dans ce réseau. Un catalyseur basique et un large excès d'eau peuvent être utilisés car ce sont les conditions permettant d'obtenir une réticulation importante. En effet, le catalyseur basique associé à l'excès d'eau permet une hydrolyse complète des silanes. La réticulation est d'autant plus importante que les silanes utilisés comme agent réticulant sont en général le tétraéthoxysilane (TEOS) ou le tétraméthoxysilane (TMOS) qui ont quatre fonctions hydrolysables favorisant la formation d'un réseau multidimensionnel. Le silane utilisé comme monomère possède quant à lui deux ou trois fonctions

hydrolysables. Les groupements fonctionnels restant sont des groupements susceptibles de former les interactions non covalentes avec la molécule empreinte.

Une fois le support synthétisé, un monolithe est obtenu. Les étapes suivantes sont les mêmes que pour la polymérisation en bloc c'est-à-dire broyage, tamisage et sédimentation suivi de la mise en cartouche et de l'élimination du *template.*

Quelques MIS ont déjà été réalisés selon ce procédé, notamment pour extraire la caféine [174], le bisphenol A [175], et également des composés pharmaceutiques tels que le lisinopropyl dihydrate [176], les méthylxantines [174] et l'ibuprofen [177]. Cependant cette voie de synthèse de supports imprimés destinés à la SPE n'est pas encore très répandue comparée à la voie radicalaire.

II. 4. 4. Caractérisation des supports imprimés comme supports d'extraction

Un support imprimé utilisé comme support sélectif de SPE doit être capable d'extraire les analytes d'un échantillon grâce à la présence de cavités spécifiques. Différentes méthodes peuvent être utilisées pour caractériser ces supports c'est-à-dire pour mettre en évidence la présence de cavités :

- l'étude de rétention en chromatographie d'élution après introduction du support imprimé dans une colonne,

- l'étude de la fixation à l'équilibre par mise en contact du support imprimé avec la molécule cible dans un solvant donné,

- l'étude des profils d'élution après percolation de la molécule empreinte dans un solvant donné sur le support imprimé de manière analogue à une procédure d'extraction sur phase solide.

Si ces techniques diffèrent par leur mise en œuvre mais aussi par le type d'informations obtenues, elles sont cependant toutes réalisées en étudiant en parallèle le comportement de la molécule cible vis à vis d'un support non imprimé. Ce support est synthétisé en parallèle du support imprimé en suivant exactement le même protocole de synthèse sans introduire la molécule empreinte au moment du mélange des réactifs. Il permet ainsi de comparer la rétention des composés ciblés en présence et en l'absence de cavités.

II. 4. 4. 1. *Caractérisation par chromatographie d'élution*

Cette méthode d'évaluation des supports s'appuie sur la détermination du facteur de rétention chromatographique (k) de la molécule cible sur support imprimé et sur support non imprimé après introduction de ces adsorbants dans des colonnes. Pour une phase stationnaire, un soluté et une phase mobile donnée, le temps de rétention (t_r) et le facteur de rétention sont liés par l'équation suivante (t_0 étant le temps de rétention nulle souvent évalué par injection d'acétone) :

$$t_r = (1+k)t_0 \quad \text{ou} \quad k = (t_r - t_0)/t_0$$

Ces études se font généralement en utilisant une phase mobile peu éluante proche du solvant de synthèse, ce dernier étant le solvant le plus favorable au développement des interactions spécifiques au sein des cavités. La détermination des facteurs de rétention de l'analyte cible pour le support imprimé (k_I) et pour le support non imprimé (k_{NI}) permet de calculer le facteur d'impression (*Imprinting factor*, IF) équivalent au rapport des facteurs de rétention d'un composé sur les deux supports selon la formule suivante :

$$IF = k_I / k_{NI}$$

Un facteur d'impression élevé traduira une plus forte affinité du support imprimé que du support non imprimé vis-à-vis de la molécule cible et donc l'existence de cavités.

Cette méthode présente cependant des inconvénients puisque l'irrégularité des particules obtenues après le broyage génère des pics chromatographiques dissymétriques parfois difficiles à exploiter. De plus, le remplissage de la colonne nécessite de grandes quantités d'adsorbant. Pour éviter ces désagréments, d'autres méthodes de caractérisation existent telles que l'étude de fixation.

II. 4. 4. 2. *Caractérisation par étude de fixation*

Pour effectuer des tests de fixation, des quantités variables de la molécule cible sont mises en contact avec une quantité fixe de support imprimé ou non imprimé dans le solvant de synthèse ou un solvant proche de celui-ci, toujours dans le but de favoriser

les interactions développées lors de la synthèse. Après un temps nécessaire pour atteindre l'équilibre, la solution surnageante est dosée afin de déterminer la quantité de molécules cibles libres en solution ([T]) et d'en déduire la quantité fixée par l'adsorbant ([T-S_I]), ce principe des tests de fixation est présenté Figure II. 7.

Il est ainsi possible de déterminer la constante thermodynamique traduisant l'affinité de la molécule cible pour le support à empreintes moléculaires (ou le support non imprimé) appelée constante de dissociation relative à cet équilibre :

$$T\text{-}S_I \rightleftharpoons T + S_I$$

$$K_{dI} = [T][S_I]/[T\text{-}S_I]$$

La constante de dissociation peut être déterminée lorsque l'analyte est introduit en large excès, la saturation est alors observée.

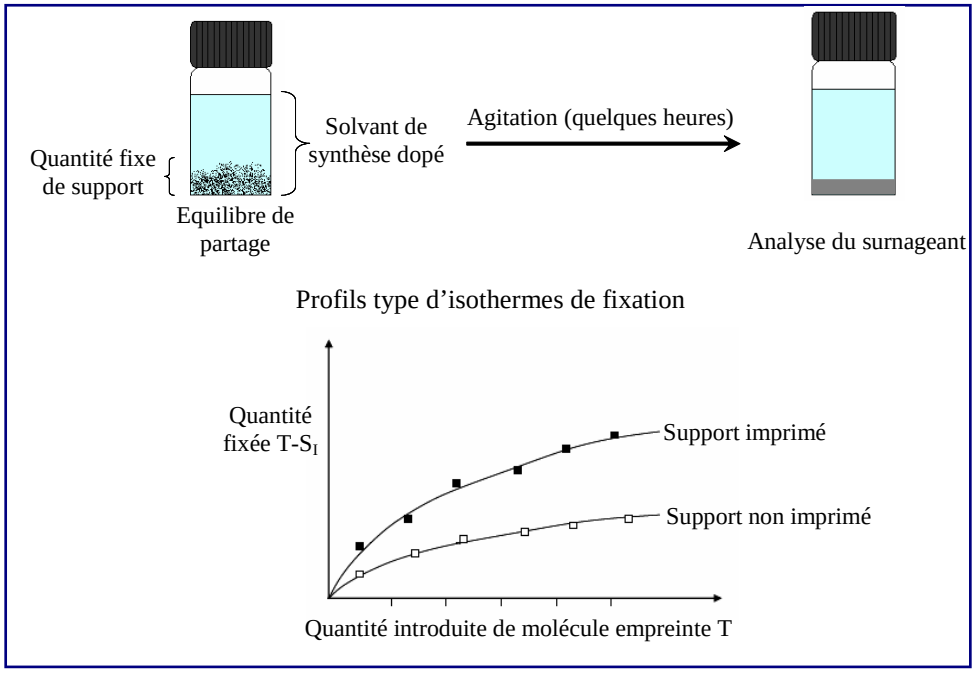


Figure II. 7. : Principe des tests de fixation et profil type d'isothermes de fixation (adapté de [169]).

Le tracé d'isothermes de fixation correspondant à la quantité fixée de molécule empreinte en fonction de la quantité introduite sur le support imprimé et le non imprimé, comme illustré sur la Figure II. 7 permet de vérifier la différence de comportement entre les deux supports. Une croissance plus rapide de l'isotherme du support imprimé par rapport au support non imprimé permet de démontrer la présence

de cavités dans le support imprimé. L'isotherme de fixation du support imprimé va également permettre d'obtenir une information supplémentaire si celui-ci présente un plateau de saturation. En effet, ce dernier traduit la saturation des sites spécifiques et permet de déterminer la capacité du support c'est-à-dire le nombre de cavités les mieux définies qui sont impliquées dans la rétention.

La caractérisation par étude de fixation présente l'avantage d'être facilement automatisable. Cependant, les résultats obtenus par cette méthode dans le solvant de synthèse, différents des milieux réels, sont difficilement transposables pour l'utilisation des supports imprimés en tant que support d'extraction c'est pourquoi dans ce cas, la caractérisation par profil d'élution est privilégiée.

II. 4. 4. 3. *Caractérisation par profil d'élution ou SPE*

La caractérisation peut également être réalisée en appliquant une procédure d'extraction similaire à celle de la SPE en utilisant le support imprimé comme adsorbant. Pour cela, la procédure est composée des quatre étapes appelées conditionnement, percolation, lavage et élution, comme pour la SPE. Le schéma de la Figure II. 8 présente ces étapes.

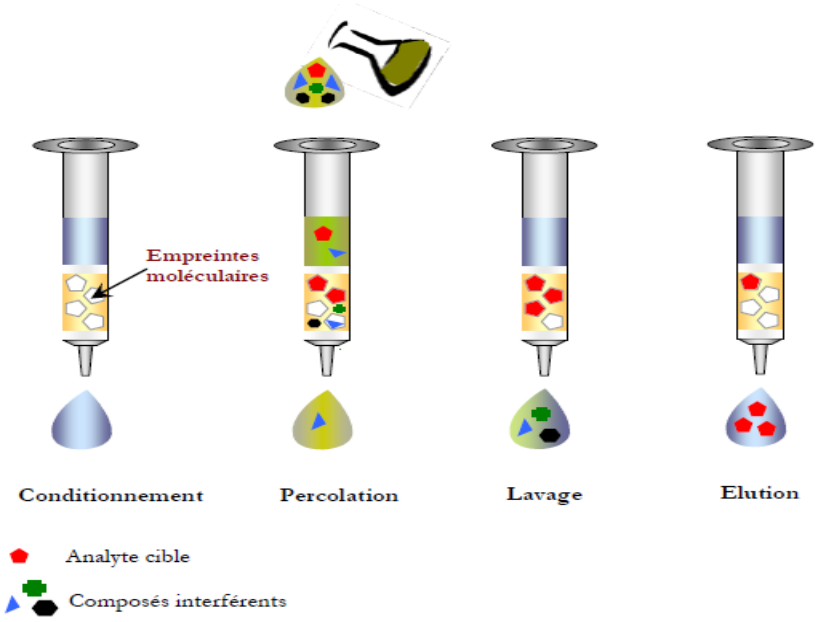


Figure II. 8. : Principe de l'extraction sur MIP [169].

Le conditionnement consiste à mouiller le support en solvatant les groupements fonctionnels en surface. Un solvant de nature proche de celle du solvant de polymérisation est le plus souvent utilisé, pour réaliser cette étape.

Au cours de la percolation de l'échantillon, les molécules cibles vont se fixer dans les cavités du support imprimé grâce aux interactions formées avec les monomères. Les analytes peuvent également être retenus sur le support imprimé comme sur le support non imprimé par interactions non spécifiques. Le solvant constituant l'échantillon est encore le plus souvent un solvant de nature proche de celle du solvant utilisé pour la synthèse pour générer les mêmes types d'interactions que celles qui ont permis la formation des cavités.

Ensuite, une ou plusieurs étapes de lavage peuvent être effectuées avec des solutions de force éluante croissante dans le but de rompre les interactions non spécifiques entre l'analyte et les supports, à savoir en dehors des cavités, et donc permettre l'élution de l'analyte du support non imprimé. L'utilisation en parallèle de ce dernier permet donc d'évaluer la contribution des interactions non spécifiques dans le processus de rétention sur le support imprimé et ainsi de les minimiser et de montrer l'apport en rétention des cavités spécifiques. Enfin, l'étape d'élution est réalisée avec un solvant de forte force éluante pour permettre de rompre les interactions entre les analytes et le support au sein des cavités.

Cette démarche expérimentale doit, si le support imprimé possède des cavités, conduire au profil d'élution idéal présenté Figure II. 9.

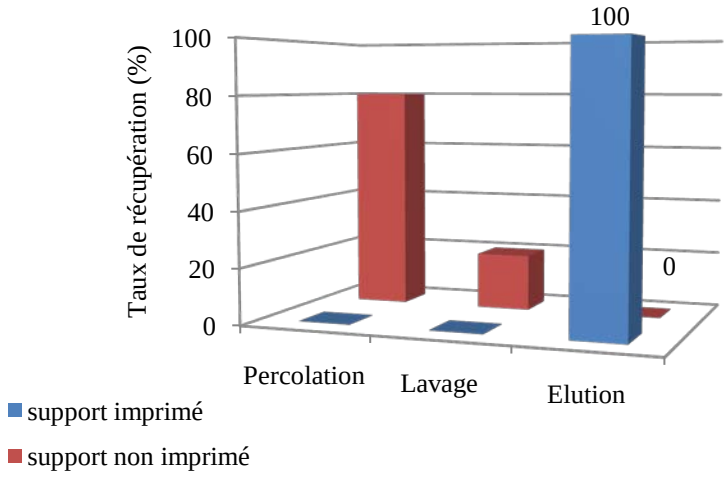


Figure II. 9. : Type de profil idéal après une procédure d'extraction réalisée sur un support imprimé et un support non imprimé.

Ce profil correspond à la récupération de la totalité des analytes dans les fractions précédant l'élution pour le support non imprimé et dans la fraction d'élution pour le support imprimé ce qui se traduit par un rendement d'extraction de 100 % sur le support imprimé et de 0 % sur le support non imprimé. L'obtention d'un profil de ce type démontre clairement que la rétention de l'analyte provient uniquement de la présence de cavités spécifiques au sein du support imprimé.

Par cette approche, il est également possible de déterminer la capacité du support imprimé dans le but de connaître le nombre de cavités qui interviennent dans ces conditions, dans le processus de rétention. Pour cela, il suffit d'appliquer la procédure d'extraction présentée ci-dessus à des échantillons contenant des quantités croissantes d'analytes. En effet, tant que la capacité n'est pas atteinte, la courbe est caractérisée par une partie linéaire dont le coefficient directeur correspond au rendement d'extraction. La rupture de cette droite représente alors la valeur de la capacité comme cela est représenté pour un MIP destiné à l'alfuzosine sur la Figure II. 10. Cette valeur s'exprime le plus souvent en milligramme d'analytes par gramme de support et est généralement trente fois supérieur à la capacité des IS [178]. Le nombre de sites spécifiques correspond alors à la différence entre les deux courbes.

En conclusion, pour être utilisé un support imprimé doit être à la fois rétentif comme tout support de SPE mais aussi sélectif grâce aux interactions spécifiques apportées par les empreintes au sein du support. La comparaison avec un support non imprimé est primordiale lors de la caractérisation du support imprimé.

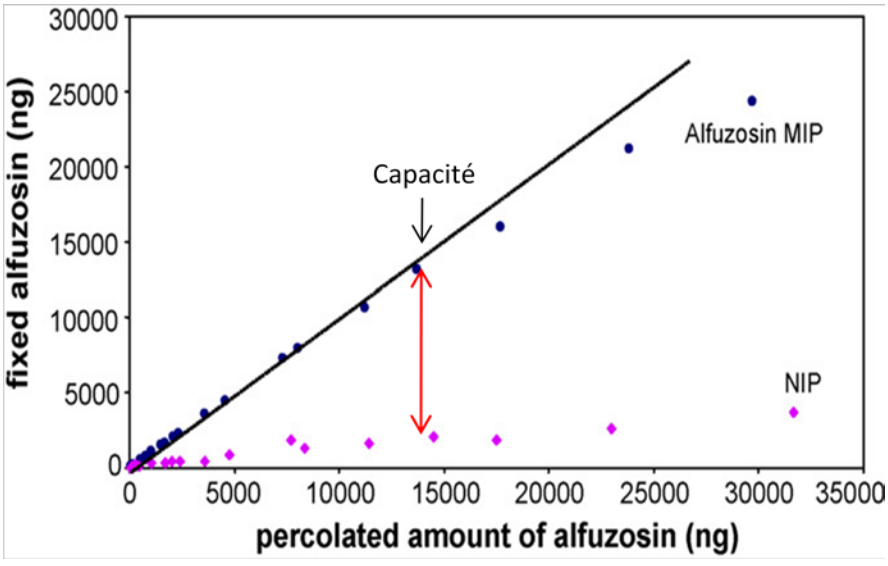


Figure II. 10. : Représentation d'une courbe de capacité pour un support imprimé pour la rétention sélective de l'alfusozine et un support non imprimé [179].

II. 4. 5. Applications des supports imprimés aux explosifs nitroaromatiques

Quelques équipes se sont déjà penchées sur la synthèse de supports à empreintes moléculaires destinés à des explosifs nitrés. Dans la plupart des travaux décrits Tableau II. 1, les supports imprimés sont destinés à des capteurs en phase gazeuse ou en milieux aqueux purs. Une seule étude, réalisée en 2008, a été réalisée pour le développement de supports à empreintes moléculaires comme support d'extraction [180]. Les synthèses ont été réalisées, pour la plupart, par polymérisation radicalaire de monomères organiques [181-188] mais l'approche sol-gel a également été employée [180, 189-192].

Tableau II. 1. : Conditions de synthèses des supports imprimés pour les explosifs nitrés publiées.

Molécule empreinte	Monomères	A.R.	Solvant de polymérisation	Initiation	Mode de polymérisation	Utilisation	Matrices	Ref.
2,4,6-TNT* 2,4-DNT**	MAA AA* MAAM**	EGDMA	$CHCl_3$* ACN DMF	AIBN / thermique	Radicalaire (suspension ou dépôt de film)	capteurs	Phase gazeuse	[181-182]
2,4,6-TNT	AA	EGDMA	ACN	AIBN/ thermique	Radicalaire	Nanowires nanotubes	EtOH/ACN (80/20)	[183]
2,4,6-TNT	AA	EGDMA	ACN	AIBN/ thermique	Radicalaire	Nanoparticules	EtOH/ACN (80/20)	[184]
1,3-DNB	AA	EGDMA	ACN	AIBN/ thermique	Radicalaire	capteurs	eau	[185]
2,4,6-TNT 2,4-DNT	MAA	EGDMA	$CHCl_3$* ACN toluène	1-hydroxy cyclohexyl phenyl ketone/ UV (365 nm)	Radicalaire	capteurs	Eau pure	[186]
2,4,6-TNT	MAA	EGDMA	$CHCl_3$	Irguacure 819/ UV	Radicalaire (dispersif)	microréacteurs	Phase gazeuse	[188]
2,4,6-TNT	MAA	EGDMA	$CHCl_3$	AIBN/ thermique	Radicalaire	capteurs	Eaux du robinet, souterraine, extraits de sols	[187]
2,4,6-TNT	APTES	TEOS	EtOH	Acétate de sodium	Sol-gel	nanotubes	EtOH/ACN/AcAc	[189]
2,4,6-TNT	APTES	C1-triEOS MPTMS	EtOH	HCl	Sol-gel	nanocapteurs	solution	[190]

2,4,6-TNT	BTEB BTEB : TMSE-Pyr	THF ACN	TBAF	Sol-gel	capteurs	phase gazeuse	[191]
2,4,6-TNT	BTEB : polyHFBA	THF eau	TBAF	Sol-gel	capteurs	phase gazeuse	[192]
2,4,6-TNT	4-DATNB Brij76	eau	HCl	Sol-gel	SPE	Extraits aqueux de sols	[180]

*donne les meilleures conditions obtenues pour le 2,4,6-TNT,**donne le meilleurs résultats pour le 2,4-DNT

4-DATNB : 4-décylaminetrinitrobenzène, AA : acrylamide, AcAc : acide acétique, APTES : aminopropyltriethoxysilane, BTEB : bis(trimethoxysilylethyl)benzene, C1-triEOS : méthyltriméthoxysilane , $CHCl_3$: chloroforme, DMF : diméthylformamide, EtOH : éthanol, HCl : acide chloridrique, MAAM : méthacrylamide, MPTMS : 3-mercaptopropyltriméthoxysilane, n.r. : non renseigné, polyHFBA : poly(2,2,3,4,4,4-hexafluorobutyl acrylate), Qté : quantité, Ref : référence, TBAF : tetrabutylammonium fluoride, TMSE-Pyr : 2-(trimethoxysilylethyl)pyridine.

Les études présentées montrent que l'objectif est chaque fois la synthèse de support sélectif vis-à-vis du 2,4,6-TNT [180-184, 186-192] auquel s'ajoute parfois la synthèse de support destinés au 2,4-DNT [181-182, 186]. Seule une étude porte sur le développement de supports imprimés pour un autre nitroaromatique, le 1,3-DNB [185].

Concernant les MIP préparés à l'aide de monomères organiques, le MAA [181-182, 186-188] et l'acrylamide (AA) [181-184, 186] sont les monomères fonctionnels qui ont été les plus utilisés en présence de solvants non protiques, le chloroforme ou l'ACN. L'objectif est donc de former des liaisons non covalentes de type liaisons hydrogène. Très récemment, une étude de modélisation a montré en phase gazeuse qu'il était effectivement théoriquement possible de former un complexe monomère-*template* entre le 2,6-DNT et le MAA [193] puis de former des cavités dans un polymère synthétisé avec 2,4,6-TNT, l'AA et l'EGDMA en présence de chloroforme comme solvant de synthèse [194].

Les conditions de l'étude sur le 2,4,6-TNT ont d'ailleurs déjà été utilisées lors de synthèses de MIP par Bunte [181-182]. Ce sont effectivement les conditions de synthèse optimales qu'il a obtenu après comparaison de MIP synthétisés avec trois monomères différents (le MAA, l'AA et le méthacrylamide (MAAM)), trois solvants différents (le chloroforme, l'ACN et le diméthylformamide) par deux voies de synthèses pour le 2,4,6-TNT ou le 2,4-DNT comme *template*. La rétention sélective sur les MIP a été démontrée par exposition du MIP et du NIP pendant un temps donné à des vapeurs de 2,4,6-TNT ou de 2,4-DNT en comparant les quantités fixées respectivement sur les deux supports. Cette étude a montré la faisabilité des MIP pour concevoir des capteurs détectant la présence de 2,4-DNT ou de 2,4,6-TNT en phase gazeuse [181-182]. Les meilleurs résultats pour le 2,4,6-TNT sont obtenus avec le MAA pour la synthèse en suspension dans le chloroforme alors que pour le dépôt de film, les meilleurs sont ceux obtenus avec l'AA dans le même solvant [181-182]. Ces derniers sont d'ailleurs les meilleurs résultats tous solvants confondus pour les dépôts de films. Pour le 2,4-DNT, c'est la synthèse avec le MAAM qui a été préférée dans le chloroforme [181-182].

En outre, la synthèse de MIP avec l'emploi d'AA comme monomère fonctionnel a également été mise en œuvre par une autre équipe à deux reprises [183-184] en présence d'ACN. L'objectif était cette fois de montrer la possibilité de concevoir des matériaux sélectifs qui peuvent, selon les auteurs, avoir par la suite différentes applications comme la conception de capteurs. La sélectivité de ces MIP synthétisés à la surface de nanotubes ou de nanoparticules a été démontrée par des tests de fixation dans

un mélange constitué d'éthanol/ACN (80/20, v/v) en comparaison avec un NIP. Enfin, ces conditions de synthèse ont été mises œuvre pour concevoir un MIP avec le 1,3-DNT comme *template* [185]. La sélectivité a également été démontrée par des tests de fixation sur MIP et sur NIP du 1,3-DNB en solution. Ensuite, ce MIP a été déposé à la surface d'une électrode de carbone modifiée pour en faire un capteur électrochimique. Cela n'a pas permis d'améliorer la réponse de l'électrode vis-à-vis du 1,3-DNB. Cependant, le signal pour d'autres nitroaromatiques tels que le 2,4-DNT, le 1,3,5-TNB et le 2,4,6-TNT a été réduit ce qui permet d'apporter de la sélectivité à l'électrode.

Le MAA a également été employé dans trois autres études que celles de Bunte. Pour cela, l'EGDMA est utilisé comme agent réticulant en présence de chloroforme [186-188]. Stringer mentionne qu'il a expérimenté différents solvant et que ce dernier a permis l'obtention des meilleurs résultats sans pour autant présenter la comparaison des résultats obtenus [186]. De plus, celui-ci a été étudié à la fois pour un MIP synthétisé avec le 2,4,6-TNT et pour un autre avec le 2,4-DNT, qui ont été marqués pour détecter les nitroaromatiques par fluorescence. Ainsi, leur but est d'utiliser à terme ces supports dans des capteurs de ces nitroaromatiques en phase gazeuse. La différence de réponse entre un capteur avec le MIP et un autre avec le NIP démontre la sélectivité de ce premier dans l'eau pure vis-à-vis de la molécule utilisée pour former les cavités. Roeseling, quant à lui, a optimisé les conditions de synthèse de ce MIP en microréacteur puis a démontré sa sélectivité par exposition au 2,4,6-TNT en phase gazeuse en comparant les résultats entre MIP et NIP [188]. En effet, la quantité de 2,4,6-TNT adsorbé sur le MIP est environ sept fois plus importante que sur le NIP. La dernière étude de MIP se démarque puisqu'elle présente la conception d'un capteur électrochimique pour lequel un MIP est synthétisé et utilisé comme surface d'une électrode pour détecter le 2,4,6-TNT [187]. Après fixation du 2,4,6-TNT, la procédure intègre un lavage de l'électrode, avant d'appliquer un potentiel, dans le but d'éliminer un maximum d'interférents au préalable. De plus, cette étude est la seule qui présente des résultats en échantillons réels aqueux qui sont comparés à ceux obtenus dans une autre étude utilisant la méthode électrochimique comme détection. Cette technique apporte une purification de l'échantillon supplémentaire en comparaison avec un NIP. Cependant, cette fois encore, cela n'apporte pas d'amélioration en termes de réponse avec des résultats comparables à une électrode de carbone.

Les MIP synthétisés avec l'AA et le MAA ont donc été conçus pour des applications très différentes de l'application en SPE, qui nécessite des interactions fortes

entre le monomère et le *template* afin de le retenir au cours des différentes étapes de purification. Seule la dernière application avait pour objectif de purifier l'échantillon pour une meilleure identification du 2,4,6-TNT. Cependant, la procédure basée sur un simple partage reste très différente et il est difficile de prévoir les résultats en SPE pouvant être attendus avec des MIP issus de ces conditions de synthèse.

Concernant l'approche sol-gel, le 2,4,6-TNT [189-190] ou un TNT fonctionnalisé [191-192], pour former des liaisons non covalentes dans le premier cas et covalentes dans le second, ont été utilisés pour développer des capteurs sélectifs. Les différents travaux sont à nouveaux très différents les uns des autres.

L'équipe de Xie et al., déjà auteurs de plusieurs publications sur la synthèse de MIP, a également synthétisé un support imprimé par voie sol-gel sur des nanotubes avec des tests de fixation à l'équilibre dans un mélange éthanol/ACN/acide acétique pour en démontrer la faisabilité [189]. Pour cela, l'APTES a été utilisé comme monomère fonctionnel pour développer le même type d'interactions qu'avec le MAA ou l'AA, à savoir des liaisons polaires. La comparaison entre le support imprimé et le support non imprimé permet de montrer une fixation plus importante de 2,4,6-TNT en présence de cavité mais celle-ci est similaire pour le DNT démontrant l'absence de réactivité croisée. Dernièrement, une publication fait l'objet d'une synthèse de MIS pour un nanocapteur avec le même monomère fonctionnel mais dans laquelle le TEOS classiquement utilisé a été remplacé par un mélange de C1-triEOS et de MPTMS dans l'éthanol [190]. D'autres monomères ont précédemment été testés et l'APTES a donné les meilleurs résultats d'après l'auteur. Le MIS permet de retenir le 2,4,6-TNT présent dans l'ACN pour une détection par analyse RAMAN qui permet d'identifier le composé puisque le MIS retient également le 1,4-DNT, 1,3-DNB et le 2,6-DNT mais avec une réponse plus faible. De plus, la comparaison avec deux supports de contrôle, un synthétisé sans 2,4,6-TNT (contrôle A) et l'autre sans 2,4,6-TNT et sans APTES (contrôle B) a été réalisée et est représentée Figure II. 11. Ce profil montre que la présence d'APTES suffit à apporter de la rétention avec l'augmentation de la hauteur du pic lorsque la quantité de 2,4,6-TNT est augmentée jusqu'à ce qu'un plateau soit atteint et que la présence de cavités ne fait qu'augmenter la hauteur du pic de 2,4,6-TNT d'un facteur deux environ. La sélectivité du support n'est donc pas très importante.

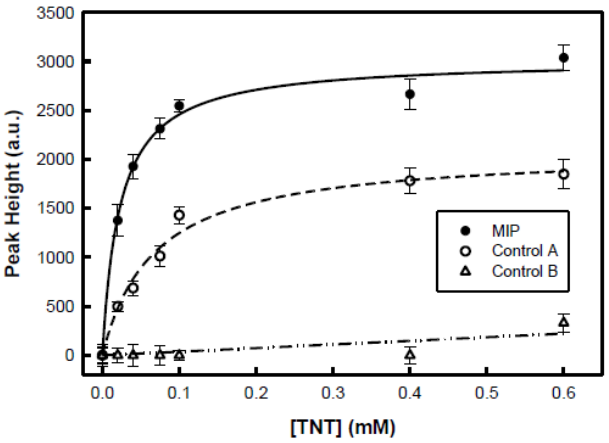


Figure II. 11. : Profil de la réponse obtenue pour le support imprimé et ses supports de contrôle [190].

Les études d'Edmiston et al. décrivent la réalisation de MIS dans le but de faire des films reconnaissant sélectivement les vapeurs de 2,4,6-TNT sur des capteurs [191-192]. Leurs approches sont complexes car elles impliquent la dérivation préalable d'un analogue du *template* avec un monomère, ce qui est difficile à mettre en œuvre. De plus, les interactions *template*-monomère formées ainsi sont covalentes, elles sont donc difficiles à rompre ce qui peut rendre complexe l'étape d'élimination du *template*. De nombreuses synthèses avec différents précurseurs, solvants et catalyseurs ont été testées. Celles qui ont permis d'obtenir un MIS ont par la suite subi des tests de fixation avec le 2,4,6-TNT et des molécules de structure proche telles que le 2,4-DNT et le 3-NT. Les MIS de chacune des études ont montré de la sélectivité seulement vis-à-vis du 2,4,6-TNT. L'apport en sélectivité du dispositif global, a été renforcé par la transformation chimique du 2,4,6-TNT lors de sa détection. Les résultats présentés dans les publications sont prometteurs mais cette approche est délicate et complexe pour la synthèse de support dédié à la SPE pour lesquels l'élimination de la molécule empreinte est impérative.

Récemment, un MIS a été synthétisé via l'emploi d'un surfactant possédant un groupement nitroaromatique jouant le rôle de *template*, cette approche favorisant la génération d'une structure macroporeuse [180]. A notre connaissance, ce travail correspond à la première synthèse et utilisation de supports imprimés comme support de SPE pour l'extraction de 2,4,6-TNT dans des extrait de sol aqueux dont le volume est compris entre 0,5 et 10 mL. Pour cela, 10 mg du support imprimé sont introduits dans une micro colonne capillaire suivi directement d'une détection électrochimique sans

séparation préalable. Ce support a montré une grande sélectivité vis-à-vis du 2,4,6-TNT avec une rétention 7 fois plus importante sur le support imprimé et elle est 4,5 fois plus importante pour l'autre composé présenté, le RDX. Cependant, aucun rendement d'extraction n'est mentionné dans cette étude ce qui ne permet pas de conclure sur les performances du support.

Pour conclure, des approches de synthèse très différentes ont été abordées pour concevoir des supports imprimés grâce à des interactions non covalentes, via des liaisons polaires, ou des liaisons covalentes. Ces supports imprimés sont destinés à être utilisés comme capteurs pour déterminer la présence d'un unique composé dans la plupart des cas. La majorité des évaluations a été réalisée en phase gazeuse ou par des études de fixation dans des milieux purs. Ces études sont donc très éloignées de notre objectif et il est donc difficile d'exploiter ces résultats en termes d'interaction. Cependant, ces publications sont encourageantes par rapport au projet que nous souhaitions mener.

II. 5. Conclusion

Différents supports sélectifs peuvent être utilisés comme support de SPE pour apporter de la sélectivité à l'extraction. Selon le type de composés à extraire, les immunoadsorbants, les oligoadsorbants ou les supports imprimés peuvent être employés.

Au cours de ce chapitre, il apparait que les anticorps anti-TNT ainsi que les aptamères ont déjà été synthétisés mais ils n'ont pas été employés dans les conditions de SPE. De plus, des supports polymériques imprimés ont été synthétisés dans des conditions de synthèse très différentes pour des applications en tant que capteurs dans la majorité des cas. Seules deux publications montrent l'utilisation de ces supports en milieu réel qui sont dans ces études des eaux potables, souterraines ou des extraits de sols.

Compte tenu de la littérature, il apparait clairement que les supports imprimés paraissent être la meilleure option pour permettre l'extraction simultanée et sélective d'explosifs nitrés dans des matrices très complexes. En effet, ils présentent plusieurs avantages comme leur faible coût de production et la possibilité de synthétiser

rapidement des supports très variés grâce à un grand nombre de monomères disponibles (présentés en annexe 2) afin de développer au final un support performant.

Chapitre III
Synthèse et caractérisation de MIP pour l'extraction sélective des explosifs nitroaromatiques

III. 1. Introduction

L'objectif de ces travaux est de développer des supports d'extraction sélectifs, à reconnaissance moléculaire, pour l'analyse d'explosifs nitroaromatiques à l'état de traces dans des matrices complexes. Comme décrit précédemment, plusieurs types de supports peuvent être utilisés tel que les immunoadsorbants, les oligoadsorbants ou encore les MIP. Cependant, aucun anticorps ou aptamères n'est disponible pour retenir l'ensemble des nitroaromatiques. En conséquence, le développement de MIP a été envisagé car ils sont peu coûteux, rapides à synthétiser et sont potentiellement capables de présenter une réactivité croisée suffisamment large pour l'extraction de tous les composés nitroaromatiques ciblés simultanément.

Le 2,4,6-TNT fait parti des explosifs organiques les plus employés pour fabriquer des engins explosifs, il est donc régulièrement prélevé et analysé. A cet effet, l'objectif principal de l'étude a été de concevoir un MIP destiné à l'extraction sélective des explosifs nitroaromatiques incluant le 2,4,6-TNT mais également les 2,4-DNT et 2,6-DNT, intermédiaires de formation majoritaires du 2,4,6-TNT, qui permettent de confirmer l'utilisation de celui-ci et qui peuvent également être utilisés en tant qu'explosif. Le tétryl, explosif utilisé également, complète la liste des explosifs à extraire sur ce support, auquel il peut être ajouté d'autres nitroaromatiques moins fréquemment rencontrés tel que le 1,3-DNB et le 1,3,5-TNB.

Pour chaque synthèse de MIP, un NIP a été synthétisé en parallèle. Son utilisation dans les mêmes conditions que le MIP permet d'évaluer la part des interactions non spécifiques pouvant se développer à l'extérieur des cavités sélectives et participer ainsi au mécanisme de rétention. Seule une rétention plus forte sur le MIP que sur le NIP, lorsqu'il est employé dans des conditions favorables au développement d'interactions au sein des cavités, permet de conclure quant à la sélectivité du MIP. L'évaluation des supports a été réalisée par le tracé de profils d'élution en analysant

chaque fraction d'extraction (percolation, lavage et élution). A cet effet, une méthode d'analyse chromatographique des composés ciblés a été préalablement mise au point.

III. 2. Mise au point des conditions d'analyse des molécules ciblées

III. 2. 1. Introduction

Différents explosifs appartenant aux familles des nitroaromatiques, des nitramines et des esters nitrés sont systématiquement ciblés par le LCPP : le HMX, le RDX, le 1,3-DNB, le 1,3,5-TNB, le 2,4,6-TNT, la NG, le tétryl, le 2,4-DNT, le 2,6-DNT et le PETN, dont les coefficients P_{oct} sont compris entre 0,82 et 2,38 en unité logarythmique. Cependant, dans un premier temps, les conditions d'analyses ont été mises au point dans le but de séparer les composés de la famille des nitroaromatiques, les plus susceptibles d'être retenus dans les cavités des supports conçus par la suite à savoir le 2,4,6-TNT, le 2,4-DNT, le 2,6-DNT, le tétryl, le 1,3,5-TNB et le 1,3-DNB.

Les recherches bibliographiques, précédemment présentées, ont montré que des phases stationnaires à polarité de phase inversée ont été souvent utilisées pour effectuer l'analyse des explosifs. Cependant, ce type de phase permet rarement de séparer les 2,4-DNT et 2,6-DNT, isomères de position, qui figurent parmi les composés étudiés. En revanche, le PGC permet la séparation de ces isomères [52-54, 56]. Comme mentionné au chapitre I, cette phase est actuellement utilisée au LCPP car elle permet également la séparation de l'ensemble des composés ciblés. Ainsi, une séparation sur PGC a été dans un premier temps évaluée.

III. 2. 2. Détection UV

La majorité des analyses a été réalisée en LC/UV. Compte-tenu des propriétés chimiques des analytes étudiés le détecteur UV, appliqué à des milieux purs, est facile de mise en œuvre, stable, et permet une quantification précise. Pour obtenir une sensibilité optimale lors de la quantification des différentes fractions, les spectres d'absorption ont été tracés pour chaque composé afin de déterminer les longueurs d'onde correspondant à l'absorbance maximale. La détection des composés lors de

l'analyse des fractions à quantifier pour tracer un profil d'élution a alors été réalisée à l'aide d'un détecteur à barrette de diodes. Les longueurs d'onde de détection sont présentées dans l'annexe 4.

Le couplage à la spectrométrie de masse a été réalisé par la suite pour l'analyse d'échantillons complexes afin d'apporter de la sélectivité à la détection.

III. 2. 3. Mise au point des analyses par LC/UV

III. 2. 3. 1. *Séparation des nitroaromatiques sur la colonne PGC*

Lors de la mise au point des conditions de séparation des explosifs nitroaromatiques, il a d'abord été envisagé de reprendre les conditions mises au point par R. Tachon au cours de sa thèse au LCPP. Pour cela, un mélange acétate d'ammonium 1mM/ACN (70/30, v/v) a été utilisé comme éluant A et un mélange ACN/isopropanol (40/60, v/v) comme éluant B. Le gradient de phase mobile avait été développé afin de permettre la séparation des nitramines et des esters nitrés qui sont élués dans un premier temps et des nitroaromatiques élués ensuite. Ainsi, une colonne de type PGC (hypercarb) a été utilisée avec un gradient de phase mobile légèrement modifié pour raccourcir le temps total d'analyse des nitroaromatiques et avec un éluant A sans acétate d'ammonium, utilisé uniquement pour l'ionisation des esters nitrés et des nitramines en spectrométrie de masse [56]. Pour cela, seule la partie du gradient dans laquelle sont éluées les nitroaromatiques est reprise en commençant le gradient à une composition de phase plus éluante comme cela est récapitulé en annexe 4. Le chromatogramme obtenu dans les conditions fixées est présenté Figure III. 1.

L'utilisation du PGC conduit à un temps d'analyse long, d'environ 35 min, compte-tenu de la nécessité de rééquilibrer la colonne entre chaque analyse. De plus, le PGC est connu pour conduire à des efficacités moindres que celles obtenues sur C18 comme en témoigne l'allure des pics en fin de gradient. A cela s'ajoute l'adsorption d'impuretés visibles aux faibles longueurs qui n'ont pu être éliminées malgré l'utilisation de plusieurs colonnes et des lavages répétés. De plus, un décalage des temps de rétention a également été observé en fonction des analyses et ceci même en augmentant le temps de rééquilibrage. Ces décalages entraînent l'impossibilité de quantifier le Ty. Cela conduit à des problèmes de quantification auxquels s'ajoutent des LDQ, déterminées pour un rapport signal sur bruit égal à dix, comprises entre 33 et 110

µg/L dont les plus élevées correspondent aux composés les plus retenus qui sont les cibles principales de notre étude. Son utilisation, principalement avec la détection en mode UV, semble alors compliquée et la recherche d'un autre type de colonne a donc été préférable pour procéder à la quantification des fractions d'extraction.

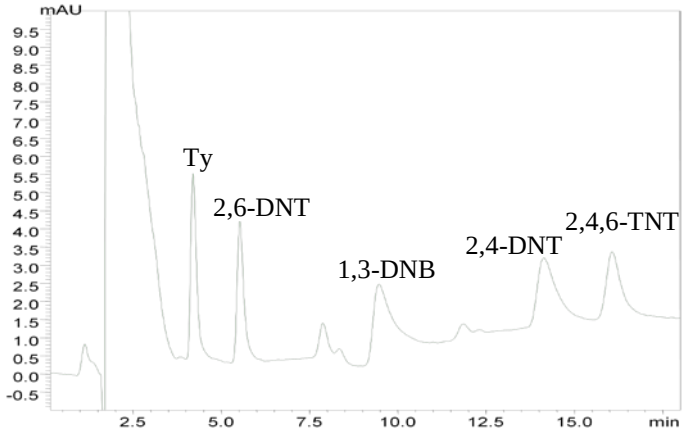


Figure III. 1. : Chromatogrammes obtenues à 228 nm après injection des nitroaromatiques sur une colonne de PGC (100 x 2,1 mm, 3 µm) pour un mélange à 0,25 mg/L.

Pour conclure, il est nécessaire pour l'analyse des fractions des procédures d'extraction d'avoir une méthode d'analyse plus simple, plus rapide et plus sensible. A cet effet l'étude bibliographique a montré la possibilité d'utiliser des colonnes contenant d'autres phases telles que des phases CN, phényle ou C18. Ces deux dernières phases ont donc été étudiées par la suite.

III. 2. 3. 2. *Séparation des nitroaromatiques sur une colonne diphényle*

Compte tenu de la présence de noyaux aromatiques dans la structure des composés ciblés, il est apparu intéressant d'exploiter le développement d'interactions π-π avec une phase stationnaire diphényle XRs (Varian, 100 x 3 mm, 3 µm). Un simple mélange hydroorganique (eau/ACN) en mode isocratique a permis de séparer efficacement les composés ciblés comme le montre la Figure III. 2. Les conditions chromatographiques sont détaillées en annexe 4. L'ensemble des nitroaromatiques ont pu être séparés en moins de 20 min avec une bonne séparation des isomères de position du DNT. De plus, aucun rééquilibrage de la colonne n'est ensuite nécessaire ce qui

permet de faire deux fois plus d'analyses avec ces conditions qu'avec l'emploi de la colonne PGC nécessitant un gradient.

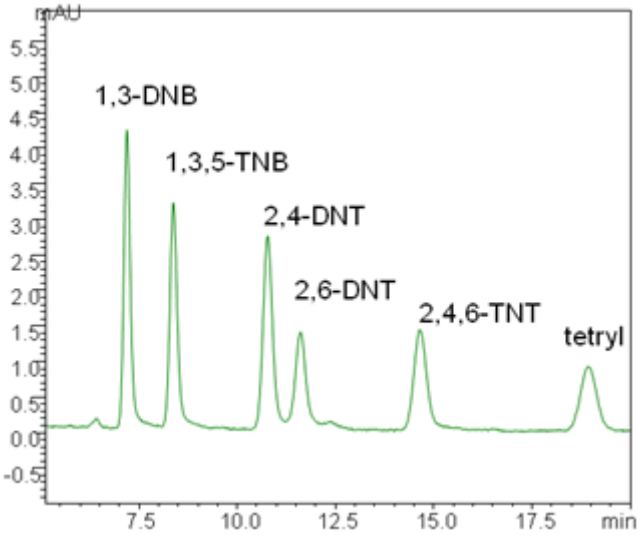


Figure III. 2. : Chromatogramme à 247 nm d'un mélange de nitroaromatiques à 0,25 mg/L séparés par un mélange eau/ACN (65/35, v/v) sur colonne XRs diphényle à 28°C.

La quantification des nitroaromatiques apparaît plus aisée dans ces conditions. Les LDQ estimées pour un rapport signal sur bruit égal à dix sont comprises entre 9 et 90 µg/L. Elles sont donc légèrement plus faibles que celles obtenus avec le PGC dans leur ensemble. Ainsi, les résultats obtenus avec cette colonne sont satisfaisants mais d'autres colonnes telles que des colonnes contenant une phase de silice greffée C18 ont été testées dans le but d'améliorer la sensibilité et le temps d'analyse.

III. 2. 3. 3. *Séparation des nitroaromatiques sur une colonne en silice greffée C18*

Une colonne en silice greffée C18 de dimension 250 mm x 3 mm d.i. avec des particules de 5 µm de diamètre (Symmetry Shield RP18, Waters) a été testée pour séparer les nitroaromatiques. Après de nombreux essais consistant à faire varier le pourcentage de phase organique de la phase mobile (MeOH ou ACN) aussi bien en mode isocratique qu'en mode gradient et la température à laquelle s'effectue la séparation, une phase mobile constituée d'un mélange MeOH/eau (60/40, v/v) à 0,4 mL/min a été choisie pour permettre une analyse en 15 min en mode isocratique à une

température de 28°C. Comme l'illustre la Figure III. 3 (a), une résolution de 1,25 pour les pics des isomères du DNT a été obtenue. Les LDQ ont été estimées dans ces conditions, détaillées en annexe 4 pour chacun des composés, et sont comprises entre 20 et 55 µg/L. Ces conditions d'analyse simples permettent une analyse rapide avec la séparation des isomères de position du DNT.

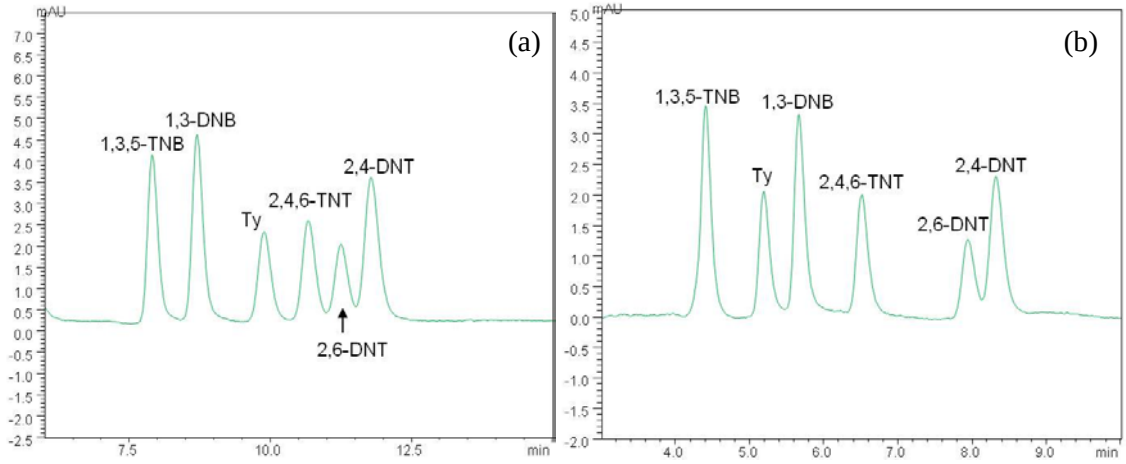


Figure III. 3. : Chromatogrammes à 247 nm obtenus pour un mélange de nitroaromatiques sur la colonne (a) Symmetry Shield RP 18 (250 x 3 mm, 5 µm) à 28°C (0,25 mg/L) avec un mélange eau/MeOH (40/60, v/v) et (b) JSphère H80 (150 x 3 mm, 4 µm) à 28°C avec un mélange eau/MeOH (38/62, v/v).

Une seconde colonne de type C18 haute densité mais plus courte, appelée JSphère H 80 (YMC, 150 x 3 mm, 4 µm) a également été testée simultanément. La haute densité de greffage a permis la rétention des composés malgré une longueur de colonne moins importante comparée à la Symmetry Shield. De nouveau, les nitroaromatiques ciblés ont pu être séparés en mode isocratique par un mélange hydroorganique MeOH/eau (62/38, v/v) à 28°C. Comme indiqué sur la Figure III. 3 (b), des performances similaires ont été obtenues. Ainsi, si cela s'avère nécessaire, la présente colonne peut être utilisée en remplacement de la colonne Symmetry Shield.

Le développement d'un support d'extraction destiné aux nitroaromatiques a entraîné la nécessité de séparation de ces composés. Cependant, l'évaluation du comportement d'autres explosifs lors de l'extraction peut-être très utile à terme pour le LCPP. A cet effet, la colonne Symmetry Shield a été utilisée dans les mêmes conditions analytiques que celles des nitroaromatiques pour la séparation des esters nitrés (NG et PETN) et des nitramines (RDX et HMX). Le chromatogramme de la Figure III. 4 (a) illustre la séparation des deux nitramines et des nitroaromatiques ciblés.

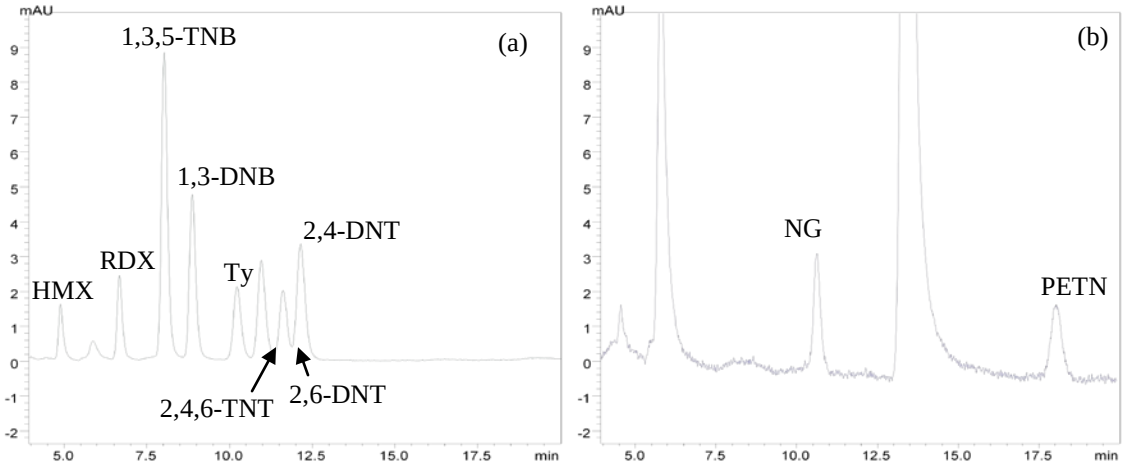


Figure III. 4. : Chromatogrammes correspondant à la séparation sur la colonne Symmetry Shield RP 18 (250 x 3 mm, 5 µm) à 28°C (a) des nitramines et des nitroaromatiques à 247 nm (b) des esters nitrés à 205 nm (conditions d'analyses présentées en annexe 4).

En ce qui concerne les esters nitrés, le temps d'analyse doit juste être prolongé de 5 min si les mêmes conditions analytiques sont conservées afin d'éluer le PETN qui est le composé le plus hydrophobe. Le chromatogramme de la Figure III. 4 (b) illustre cette séparation. Une pollution est d'ailleurs présente sur ce chromatogramme car la solution de PETN utilisée n'est pas un étalon mais une solution fournie par le LCPP. En revanche, la NG et le 2,4,6-TNT ne pourront être analysés simultanément dans ces conditions avec une simple détection UV car leurs temps de rétention sont beaucoup trop proches. Les LDQ ont également été déterminées pour ces composés. Elles sont comprises dans le même intervalle que celui des nitroaromatiques pour les nitramines, avec 20 et 35 µg/L pour le RDX et le HMX respectivement. Cependant, les esters nitrés présentent des LDQ bien plus importantes avec 400 et 650 µg/L pour la NG et le PETN respectivement. Cette faible sensibilité de ces composés est liée à leur faible coefficient d'extinction molaire. L'ensemble des LDQ obtenues pour ces composés nitrés est présenté dans le Tableau III. 1.

Pour effectuer la quantification des explosifs dans les fractions récupérées après la procédure d'extraction, des droites d'étalonnage ont été réalisées pour l'ensemble des composés. Pour cela des injections de solutions contenant des concentrations comprises entre 50 et 500 µg/L ont été réalisées pour les composés présentés sur la Figure III. 4 (a) et la courbe représentant l'aire des pics en fonction de la quantité injectée a été tracée. Une droite a été obtenue pour chacun des composés pour l'ensemble de la gamme des concentrations injectées. En ce qui concerne les esters nitrés, des droites

d'étalonnage ont été obtenues entre 500 µg/L et 2000 µg/L ce qui correspond à l'ensemble des injections réalisées.

Tableau III. 1. : Récapitulatif des longueurs d'ondes d'analyse et des limites de quantification en µg/L de chacun des composés étudiés.

composés	Longueur d'onde d'analyse	LDQ (µg/L)
HMX	228 nm	35
RDX	247 nm	20
1,3-DNB	237 nm	20
1,3,5-TNB	228 nm	25
2,4,6-TNT	228 nm	37
NG	205 nm	400
Tétryl	228 nm	41
2,6-DNT	237 nm	55
2,4-DNT	247 nm	31
PETN	205 nm	650

Cette méthode, qui a été utilisée pour le développement des supports d'extraction, a permis d'analyser les différentes fractions et d'établir des profils d'élution. En revanche, pour l'analyse d'échantillons réels, une détection par spectrométrie de masse a été mise en place pour gagner en sélectivité et en sensibilité.

III. 2. 4. Analyse par LC/MS

Les conditions chromatographiques ont été conservées et appliquées pour une détection par spectrométrie de masse des nitroaromatiques. Le spectromètre de masse utilisé pour l'analyse des échantillons complexes est un triple quadripôle (1200, Varian) équipé d'une source APCI. En effet, seul ce type d'ionisation en mode négatif a permis d'ioniser l'ensemble des nitroaromatiques ciblés. L'infusion directe des composés dans le spectromètre de masse a permis de déterminer les rapports masse sur charge (m/z) des ions formés majoritairement et d'optimiser les différents paramètres telles que la tension du capillaire et l'énergie de collision pour chacun des analytes afin d'obtenir la meilleure sensibilité possible. Le Tableau III. 2 récapitule les rapports m/z des ions

formés et les LDQ obtenues lors des analyses chromatographiques en mode MS simple, MS^2 et en UV à titre de comparaison. Les conditions analytiques sont décrites en détail en annexe 5, qui reprend également l'identification des ions formés durant la fragmentation.

Tableau III. 2. : Rapports m/z des différents ions obtenus et les LDQ en µg/L en mode MS, MS^2 et en UV après séparation chromatographique (conditions analytiques décrites en annexe 5).

composés	**m/z père**	**m/z fils**	**LDQ en MS**	**LDQ en MS^2**	**LDQ en UV**
1,3-DNB	167,7	137,5	0,5	0,7	20
2,4-DNT	180,6	134,7	0,6	3	31
2,6-DNT	181,8	151,5	2	0,5	55
1,3,5-TNB	212,6	182,5	25	5	25
2,4,6-TNT	226,7	209,5	3	0,5	37
Ty	240,7	180,5	37,5	25	41

L'analyse en MS permet un gain en sensibilité avec la diminution des LDQ pour l'ensemble des nitroaromatiques. De plus, l'extraction d'ions permet d'apporter de la sélectivité à la détection mais les ions parents obtenus pour les isomères du DNT ne diffèrent que d'une unité ce qui arrive dans certaines études relevées dans la littérature avec un ion majoritaire qui a perdu un hydrogène lors de l'ionisation en APCI du 2,4-DNT [54, 68] et pas lors de celle du 2,6-DNT. Cependant, le 2,4-DNT forme également un ion minoritaire de même rapport que celui du 2,6-DNT. Ce dernier ne sera donc pas quantifiable si les DNT ne sont pas préalablement séparés. En revanche, la MS^2 permet d'obtenir des ions fils majoritaires très différents ce qui permet grâce à l'extrait d'ions de les quantifier facilement même quand ils ne sont pas séparés.

L'emploi de la LC/MS avec la colonne C18 dans les conditions mises au point précédemment sont très intéressantes pour l'analyse d'échantillons post-explosion contenant des composés nitroaromatiques à l'état de traces. A cet effet, des solutions contenant les nitroaromatiques à des concentrations comprises entre 4 µg/L et 500 µg/L ont été injectées, ce qui a permis d'obtenir des droites d'étalonnage sur l'ensemble de la

gamme excepté pour le tétryl et le 1,3,5-TNB quantifiés à partir de 37,5 et 25 µg/L respectivement (LDQ). Les chromatogrammes représentant les extraits d'ions sont présentés Figure III. 5.

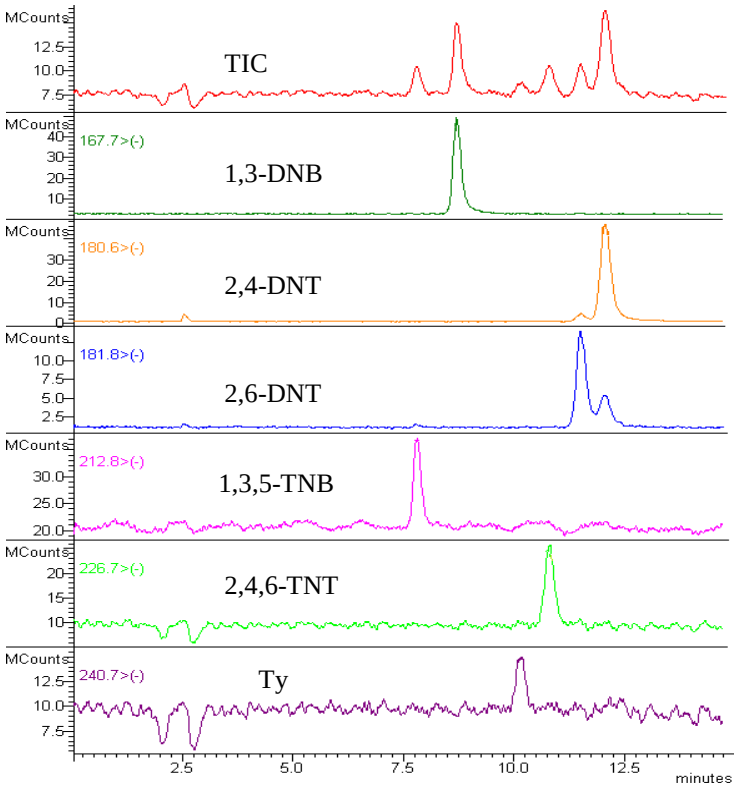


Figure III. 5. : Chromatogrammes correspondant à la séparation sur la colonne Symmetry Shield RP 18 (250 x 3 mm, 5 µm) en LC/MS accompagné des extraits d'ions auxquels s'effectue la quantification (37,5 µg/L).

Malgré les bonnes performances obtenues sur C18 en LC/MS, la détection UV après la séparation sur C18 a été privilégiée lors de l'analyse des fractions des profils d'élution pour obtenir une quantification plus fiable des analytes. En effet, le signal est plus stable dans le temps en UV et la concentration des analytes peut être adaptée, à ce stade de l'étude, à la sensibilité de la méthode. La spectrométrie de masse ne sera utilisée que pour apporter de la sélectivité lors de l'analyse d'échantillons complexes.

III. 2. 5. Conclusion

Une méthode d'analyse simple et rapide a été développée en LC/UV avec une colonne C18 capable de séparer les isomères de position du DNT : le 2,4-DNT et le 2,6-DNT. De plus, cette méthode permet une quantification fiable des analytes avec des

LDQ comprises entre 20 et 55 µg/L pour les nitroaromatiques et les nitramines et de 400 et 650 µg/L pour la NG et le PETN respectivement. Cette méthode sera donc privilégiée pour caractériser les supports en milieu pur.

L'utilisation de la MS permet, quant à elle, un gain en sensibilité et en sélectivité pour l'analyse d'échantillons réels.

III. 3. Développement de supports à empreintes moléculaires

La rétention sélective sur un support imprimé dépend de la complémentarité structurale entre les cavités formées pendant l'étape de polymérisation et les analytes ciblés. Cela dépend également de la nature et de la force des interactions formées entre les analytes et les résidus de monomères fonctionnels se trouvant au sein de la matrice polymérique.

La plupart des MIP utilisés en SPE ont été préparés avec des monomères polaires dans le but de former des liaisons hydrogène ou des interactions électrostatiques fortes avec les analytes grâce à leurs groupements polaires. Pour les composés non polaires, des monomères neutres ont également été utilisés pour former des interactions hydrophobes et de type π-π [195]. Une étude bibliographique préliminaire a montré l'intérêt de l'utilisation des monomères polaires pour obtenir des MIP destinés au piégeage sélectif du 2,4,6-TNT ou du 2,4-DNT intégrés dans des capteurs. Lors de ces synthèses, l'objectif est de former des interactions polaires entre le monomère utilisé, MAA ou AA le plus souvent, et la molécule empreinte, qui seront reproduites dans les cavités et utilisées en milieu inerte (phase gazeuse) ou lors d'une mise à l'équilibre en milieu pur [181-188]. Cependant, il est important de rappeler qu'aucun MIP destiné à la SPE n'a été synthétisé précédemment.

Compte tenu du manque de fonctionnalités dans la structure des explosifs nitroaromatiques pour pouvoir développer des interactions fortes avec les monomères fonctionnels, différents types de monomères ont été utilisés dans le but de déterminer quels types d'interactions sélectives peuvent être favorisées en SPE. Différentes synthèses ont donc été effectuées de manière à vérifier que les propriétés de piégeage sélectif des MIP relevées en milieu gazeux ou lors de mise à l'équilibre en milieu pur puissent être mises à profit en SPE sachant que le processus de rétention nécessite

l'établissement d'interactions de forte énergie à savoir d'un niveau élevé par rapport aux domaines d'études précédemment décrits.

III. 3. 1. Choix de la molécule empreinte

Pour l'obtention d'un MIP performant, la molécule empreinte doit renfermer un nombre suffisant de fonctions chimiques afin de développer des interactions non covalentes fortes avec le monomère. A des fins d'extraction par famille, comme les nitroaromatiques, la molécule empreinte doit également présenter un volume moléculaire élevé pour s'affranchir de toute gène stérique des molécules les plus volumineuses de la famille au sein des cavités. Dans un premier temps, ces deux critères ont orienté le choix de la molécule empreinte vers le 2,4,6-TNT ou le tétryl, chacune possédant trois groupements NO_2. Cependant, ces composés auraient engendré un coût de synthèse beaucoup trop important compte tenu des quantités requises (environ 100 mg) pour chaque synthèse de MIP.

Le 2,4-DNT et le 2,6-DNT étant les seuls analytes ciblés vendus sous forme solide, et en quantité suffisante pour réaliser de nombreuses synthèses avec un coût raisonnable, le 2,4-DNT a été choisi, en tant qu'isomère majoritaire, comme molécule empreinte pour les synthèses de polymères à empreintes moléculaires. De plus, l'utilisation d'un DNT peut avoir un intérêt en cas de relargage car le 2,4,6-TNT est l'explosif à doser prioritairement et il est important que ce composé ne soit pas relargué alors que les DNT sont dosés pour confirmer la présence de 2,4,6-TNT, le plus souvent, et le relargage de l'un d'eux est donc moins problématique.

III. 3. 2. Présentation des différents MIP synthétisés et principe d'évaluation

Au cours de cette étude de nombreux MIP ont été synthétisés en suivant une procédure de polymérisation par voie radicalaire en bloc décrite en annexe 6. Cette approche consiste à introduire les différents réactifs dont l'AIBN utilisé comme initiateur dans un tube à sceller. La solution est dégazée sous flux d'azote pendant dix minutes avant de mettre le tube au bain marie à 60°C pendant 24 heures pour réaliser une initiation thermique. Ensuite, le polymère est broyé et tamisé pour avoir des

particules dont la taille est comprise entre 25 et 36 µm. Afin, d'éliminer les particules les plus fines, une étape de sédimentation est réalisée avec un mélange hydroorganique, méthanol/eau (80/20, v/v). Enfin, 50 mg de particules de polymère sec sont conditionnées entre deux frittés dans des cartouches d'extraction de 1 mL et la molécule empreinte est éliminée en percolant un solvant de lavage approprié. Un polymère de référence, polymère non-imprimé (NIP), est synthétisé en parallèle dans les mêmes conditions sans introduire la molécule empreinte afin de contrôler la sélectivité du support imprimé. De nombreux travaux publiés ont montré que ces NIP peuvent présenter une structure et donc une surface spécifique différente, et souvent plus élevée. Cependant, cela reste un support témoin non idéal mais intéressant pour l'évaluation de la présence de cavités spécifiques au sein d'un MIP. Une autre voie pourrait consister à synthétiser un support avec une autre molécule de taille similaire mais de structure différente. Cependant, cela peut engendrer un coût de synthèse supérieur.

L'ensemble des MIP synthétisés et caractérisés dans cette étude sont présentés dans le Tableau III. 3.

Tableau III. 3. : Synthèses par polymérisation radicalaire réalisées au cours de cette étude.

MIP	***template***	**monomère**	**Agent réticulant**	**solvant**
MIP 1	2,4-DNT	2-VP	EGDMA	ACN
MIP 2	2,4-DNT	MAA	EGDMA	ACN
MIP 3	2,4-DNT	AA	EGDMA	ACN
MIP 4	2,4-DNT	MAA	EGDMA	DCM
MIP 5	2,4-DNT	AA	EGDMA	Chloroforme
MIP 6	2,4-DNT	MAA	DVB	DCM
MIP 7	2,4-DAT	Styrène	DVB	MeOH

Les MIP 1 à 6 ont été synthétisés avec le 2,4-DNT comme *template* et différents monomères polaires, la 2-VP, le MAA et l'AA avec un ratio molaire *template*/monomère/agent réticulant de 1/4/20. Pour les MIP 1 à 3, les autres réactifs employés sont ceux couramment utilisés pour former ce type de support, l'EGDMA et

l'ACN. Pour les MIP 4 et 5 des solvants plus apolaires ont été employés. Quant au MIP 6, il a été synthétisé avec le DVB comme agent réticulant pour favoriser le développement d'interactions π-π lors de la procédure d'extraction. Enfin, le MIP 7 a été synthétisé dans le but de développer des interactions hydrophobes et de types π-π entre le styrène et un analogue structural du 2,4-DNT, le 2,4-diaminototluène (2,4-DAT), en présence de DVB, dans un ratio molaire de 1/4/20.

La caractérisation des MIP a été réalisée par l'établissement de profils d'élution en analysant par LC/UV toutes les fractions d'extraction, à savoir la solution après percolation (P), la fraction de lavage (L), et la fraction d'élution (E). Pour cela, certaines fractions sont injectées directement et d'autres demandent une évaporation ou une dilution. Le traitement des fractions est décrit en annexe 7.

III. 3. 3. Evaluation des MIP fondés sur une rétention par interactions polaires

III. 3. 3. 1. *Caractérisation des MIP 1, 2 et 3*

Les MIP 1, 2 et 3 ont été synthétisés avec le 2-VP, le MAA et l'AA comme monomères fonctionnels accompagnés d'EGDMA et en présence d'ACN, solvant aprotique et moyennement polaire, pour ne pas entrer en compétition avec le monomère lors du développement des interactions monomère-*template*. Ces MIP diffèrent donc par le monomère employé et sont tous les trois suceptibles de développer des interactions polaires avec la molécule empreinte, le 2,4-DNT. Par ailleurs, le MIP 2 correspond à la synthèse de MIP la plus employée dans la littérature pour développement des cavités sélectives lorsque le développement d'interactions polaires (liaisons hydrogène ou interactions électrostatiques) est recherché.

Des MIP synthétisés avec le MAA ou l'AA et le 2,4,6-TNT ou le 2,4-DNT comme molécule empreinte avec l'EGDMA et l'ACN ont d'ailleurs déjà été employés pour l'extraction de ces composés sur des capteurs en phase gazeuse [181-182] ou dans l'eau [186] et ont ainsi montré la possibilité de les piéger sélectivement, un taux de fixation plus importante ayant été observé sur MIP que sur NIP.

La caractérisation de ces MIP est réalisée en développant une procédure d'extraction comme en SPE sur support conventionnel. Pour cela, le solvant de synthèse est choisi comme solvant de percolation pour favoriser l'établissement des mêmes

interactions polaires que celles qui ont pu se former pendant la synthèse. Ainsi, l'ACN dopé avec le 2,4-DNT est donc percolé sur 50 mg de support imprimé. Une solution de lavage composée d'ACN à 10 % de MeOH est ensuite appliquée dans le but d'éliminer les interactions non spécifiques, c'est-à-dire pour rompre les interactions polaires pouvant se développer en dehors des cavités. Pour finir, l'élution est réalisée avec du MeOH pur pour rompre l'ensemble des interactions encore formées entre le 2,4-DNT et les cavités du polymère. Cette procédure a été appliquée aux NIP 1, 2 et 3 en parallèle pour pouvoir montrer la sélectivité des supports imprimés, la solution de lavage devant alors éliminer le 2,4-DNT du NIP tout en maintenant celle-ci fixée sur le MIP. Les profils d'élution obtenus dans ces conditions sur les MIP 1, 2 et 3 sont similaires et il en est de même pour les NIP 1, 2 et 3 c'est pourquoi un seul profil d'élution, correspondant à la moyenne des rendements obtenus dans chaque fraction sur les MIP 1, 2 et 3 d'une part et des NIP 1, 2 et 3 d'autre part, est présenté Figure III. 6 pour les MIP et pour les NIP.

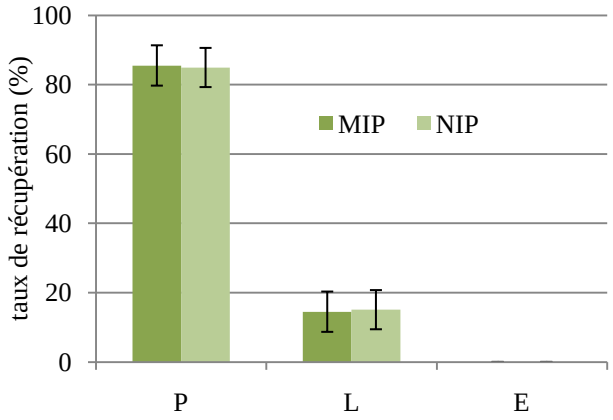


Figure III. 6 : Profils d'élution moyen obtenus avec les MIP 1, 2 et 3 ; P : 1 mL d'ACN dopé avec le 2,4-DNT (500 ng), L : 1 mL d'ACN/MeOH (90/10, v/v) et E : 1 mL de MeOH.

Ce profil montre une perte de 80 % du 2,4-DNT dans la fraction de percolation et les 20 % restant sont récupérés dans la fraction de lavage. Cela traduit une faible rétention du 2,4-DNT sur le MIP. Les taux de récupération obtenus pour chacune des fractions des NIP sont similaires à ceux des MIP ce qui démontre l'absence de cavités au sein des MIP et la faiblesse des interactions polaires formées entre les groupements fonctionnels du 2,4-DNT et le monomère, ce qui nuit à la formation de cavités bien définies lors de la polymérisation.

Aucune optimisation de la procédure d'extraction ne peut ainsi être envisagée pour améliorer ces taux de récupération puisque la perte a lieu à la percolation, étape durant laquelle le solvant le plus favorable au développement des interactions polaires au sein de ce support, c'est-à-dire le solvant de synthèse, a été utilisé. Cependant, l'emploi d'un solvant de synthèse moins polaire que l'ACN pourrait favoriser le développement de cavités lors de la synthèse, ce qui a été envisagé.

III. 3. 3. 2. *Caractérisation des MIP 4 et 5*

Les MIPs 4 et 5 ont été synthétisés en reprenant le MAA et l'AA comme monomères dans des conditions similaires aux MIP 2 et 3 en ne modifiant que le solvant porogène. Ce dernier a été choisi non protique et plus apolaire que l'ACN pour favoriser encore plus la formation d'interactions polaires de type liaisons hydrogène entre le *template* et le monomère. Ainsi, le dichlorométhane est envisagé pour ces deux nouvelles synthèses mais l'AA étant insoluble dans le DCM, il a donc été remplacé par le chloroforme pour le MIP 5.

Selon le même principe que précédemment, la caractérisation du MIP 4 a été réalisée après le conditionnement avec 5 mL de DCM suivi de la percolation de 2 mL d'une solution de DCM contenant 2 µg de 2,4-DNT. Ensuite, le lavage a été effectué avec 2 mL de DCM à 10 % de MeOH et l'élution avec 2 mL de MeOH. Le MIP 5 a quant à lui été caractérisé avec la procédure employée pour les MIP 1, 2 et 3 c'est-à-dire avec une solution de percolation dans l'ACN pour éviter les difficultés apportées par l'emploi du chloroforme lors de l'extraction. Les profils d'extraction ainsi obtenus sont présentés Figure III. 7.

Ces profils d'élution présentent un taux de récupération d'environ 80 % dans la fraction de percolation sur les MIP 4 et 5. Ces derniers ne possèdent donc pas de cavités spécifiques. En effet, les profils d'élution résultant de l'utilisation des MIP sont identiques à ceux des NIP et conduisent à une faible rétention de l'analyte par interactions non spécifiques. Ces résultats sont comparables à ceux obtenus avec les MIP 1, 2 et 3 et permettent de conclure que tous ces supports se comportent de la même manière vis-à-vis du 2,4-DNT.

Ces résultats confirment également la difficulté pour former des cavités sélectives pour les nitroaromatiques quand les interactions polaires sont favorisées pendant l'étape de polymérisation.

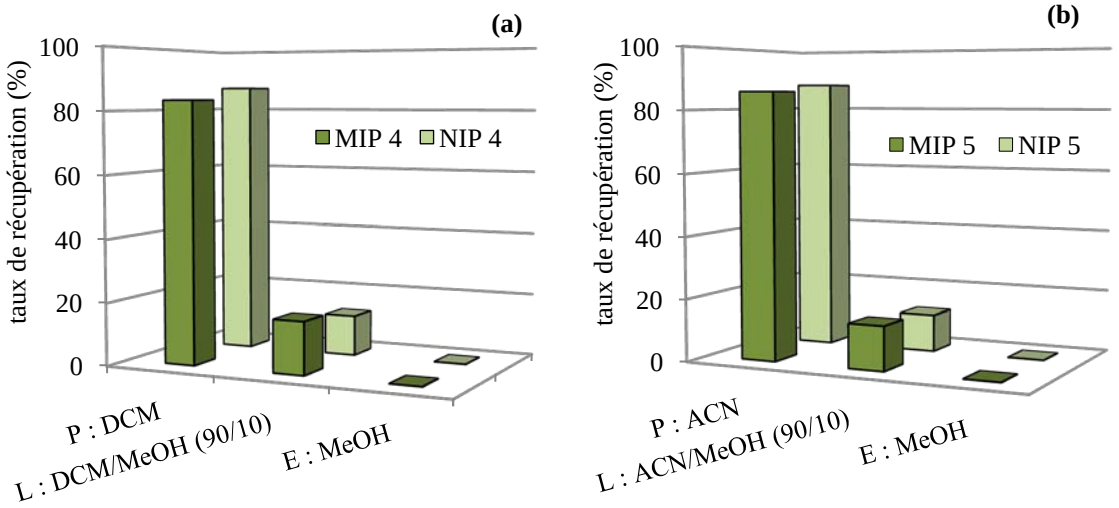


Figure III. 7. : Profils d'élution obtenus après percolation (a) sur le MIP/NIP 4 d'une solution de DCM dopée avec le 2,4-DNT (2 µg, P, L, E : 2 mL) et (b) sur le MIP/NIP 5 d'une solution d'ACN dopé avec le 2,4-DNT (500 ng, P, L, E : 1 mL).

III. 3. 3. 3. *Conclusion*

Lors de cette étude, de nombreuses synthèses ont été réalisées dans le but de former des cavités dans lesquelles les explosifs nitroaromatiques seraient retenus par interactions polaires grâce aux résidus de 2-VP, de MAA ou d'AA. Les MIP obtenus ont été caractérisés et ont montré une très faible rétention. La comparaison de cette rétention avec celle des NIP correspondant a également démontré l'absence de cavités accessibles dans tous ces MIP.

Ces supports, synthétisés en s'appuyant sur la littérature qui présente le développement d'interactions polaires entre le 2-VP, le MAA ou l'AA avec les fonctions nitro des explosifs nitroaromatiques en phase gazeuse ou par test de fixation à l'équilibre le plus souvent, n'ont pas permis de former des liaisons non covalentes suffisamment fortes dans nos conditions. En effet, les liaisons permettant la rétention des analytes dans une procédure de SPE doivent être plus fortes pour maintenir la rétention lors de la percolation des différents solvants que lors d'une mise en contact avec un gaz inerte dopé ou lors d'une mise à l'équilibre avec une solution pure dopée.

III. 3. 4. Evaluation des MIP fondés sur une rétention hydrophobe et des interactions de type π-π

III. 3. 4. 1. *Caractérisation du MIP1*

Le MIP 1 a été de nouveau étudié dans des conditions différentes pour vérifier la présence d'interactions hydrophobes et de type π-π entre le *template* et le polymère à base de 2-VP. Le solvant le plus favorable au développement de telles interactions étant l'eau, cette procédure a été réalisée par percolation d'1 mL d'une solution d'eau dopée avec 1 µg de 2,4-DNT suivie d'une élution progressive avec une teneur allant de 10 à 50 % de MeOH dans chaque fraction d'eau d'1 mL. Enfin, la dernière fraction a été obtenue en percolant du MeOH pur pour éluer tout le 2,4-DNT restant. La Figure III. 8 permet de comparer les profils d'élution obtenus sur le MIP 1 et sur le NIP 1.

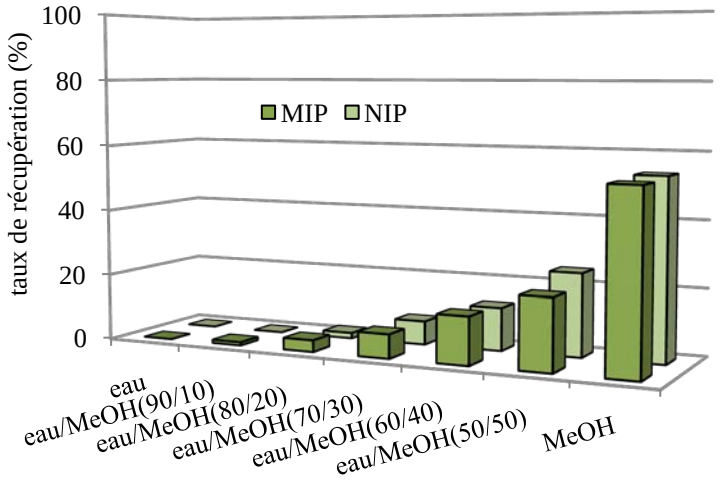


Figure III. 8 : Profils d'élution obtenus après percolation sur le MIP 1 et le NIP correspondant d'eau dopée avec le 2,4-DNT (1 µg) suivie d'une élution progressive au MeOH (fractions de 1 mL).

La comparaison des profils indique qu'il n'y a aucune sélectivité. En effet, la rétention est légèrement plus importante sur le NIP que sur le MIP pour chaque fraction d'élution, ce qui montre que la rétention n'est pas due à la présence de cavités spécifiques mais uniquement à l'hydrophobie de la matrice polymérique. L'hétérocycle de la 2-VP a bien permis le développement d'interactions hydrophobes avec le 2,4-DNT lors de la procédure d'extraction mais celles-ci n'ont pas été favorisées par la présence de cavités si elles existent.

III. 3. 4. 2. *Caractérisation du MIP 6*

Le MIP 6 a été synthétisé avec du MAA en présence de DVB, agent réticulant qui présente des propriétés hydrophobes. Avant d'exploiter ces propriétés hydrophobes du support, le MIP 6 a été préalablement étudié en appliquant une procédure favorisant le développement d'une rétention par liaisons hydrogène uniquement dans le but de le comparer aux autres supports. Ainsi, 500 µL de DCM dopé à 1 µg/mL de 2,4-DNT a été percolé suivi d'une élution avec 1 mL de DCM à 10 % de MeOH puis 1 mL de MeOH. Sans grande surprise, des résultats analogues à ceux obtenus précédemment ont été à nouveau obtenus comme le montre la Figure III. 9 confirmant l'incapacité du MIP à retenir sélectivement le 2,4-DNT par liaisons polaires.

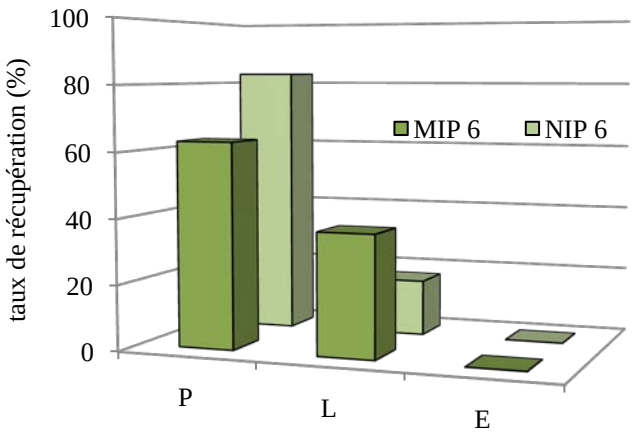


Figure III. 9. : Profils d'élution obtenus avec le MIP et le NIP 6 ; P : 500 µL de DCM dopée avec le 2,4-DNT (500 ng), L : 1 mL de DCM/MeOH (90/10, v/v) et E : 1 mL de MeOH.

Une seconde caractérisation a donc été effectuée en tentant d'exploiter les interactions hydrophobes qui se seraient développées lors de la synthèse avec le *template*. A cet effet, un profil d'élution après percolation d'un milieu aqueux a été étudié : 1 mL d'eau dopée avec 1 µg de 2,4-DNT, puis 1 mL d'eau à 5 % et 10 % de MeOH ont été percolés sur le support. Enfin, la force éluante a été augmentée brusquement avec deux fractions d'1 mL de MeOH pour réaliser l'élution. Les profils d'élution ainsi obtenus sont représentés sur la Figure III. 10.

Il apparaît que la totalité de l'analyte est récupéré à l'élution. Le profil confirme que le 2,4-DNT interagit bien avec le support par le développement d'interactions

hydrophobes et de type π-π. En revanche, aucune sélectivité n'est observée puisque les profils sont analogues entre le MIP et le NIP. Le remplacement de la première fraction d'élution par des solutions supplémentaires de lavage contenant un pourcentage croissant de MeOH n'a pas aidé à mieux différencier le comportement du 2,4-DNT sur le MIP et sur le NIP. L'étude de ce support, ne présentant aucune sélectivité, n'a donc pas été poursuivie.

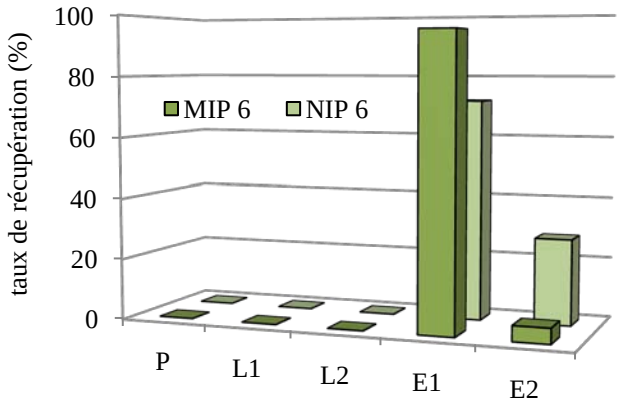


Figure III. 10. : Profils d'élution obtenus avec le MIP/NIP 6 ; P : 1 mL d'eau dopée avec le 2,4-DNT (1 µg), L1 : 1 mL d'eau/MeOH (95/5, v/v), L2 : 1 mL d'eau/MeOH (90/10, v/v), E1 et E2 : 1 mL de MeOH).

Les résultats obtenus pour les MIP 1 et 6 ci-dessus permettent d'envisager l'emploi d'interactions hydrophobes et de type π-π pour retenir le 2,4-DNT. Une synthèse réalisée avec des réactifs favorisant davantage le développement d'interactions hydrophobes et de type π-π entre le monomère utilisé et la molécule empreinte, a donc été envisagée. Dans ce but, un monomère fonctionnel hydrophobe associé à un agent réticulant de propriétés proches ont donc été choisis pour synthétiser un MIP sélectif vis-à-vis du 2,4-DNT.

III. 3. 4. 3. *Caractérisation du MIP 7*

(a) *Stratégie de synthèse*

Pour favoriser encore la rétention du 2,4-DNT par interactions hydrophobes et de type π-π, une nouvelle synthèse a été réalisée en utilisant du styrène, monomère

couramment employé pour former les liaisons hydrophobes et de type π-π en présence de DVB, en espérant dans ces conditions générer des cavités

Cette synthèse s'est appuyée sur les travaux de thèse effectués au LSABM [196] durant laquelle un MIP a été mis au point pour l'extraction sélective d'hydrocarbures aromatiques polycycliques en utilisant du styrène et du DVB dans un ratio molaire de 1/1/19 (T/M/AR), avec le MeOH comme solvant porogène. Les mêmes conditions de synthèse ont été reprises avec le 2,4-DNT comme molécule empreinte.

Après application du protocole, seul un solide blanc a été obtenu pour le NIP alors que la polymérisation n'a pas eu lieu pour le MIP. Pour confirmer ce résultat, une autre synthèse a été faite avec le ratio 1/4/20 (T/M/AR), ratio le plus couramment employé lors de synthèse de MIP destiné à la SPE, et le constat a été le même. Comme évoqué lors de la présentation de cette voie de synthèse au chapitre II, le *template* inhibe la polymérisation du styrène par la présence de groupements nitro sur un cycle aromatique [197]. Certains nitroaromatiques sont d'ailleurs utilisés pour conserver les solutions de monomères et ainsi éviter leur polymérisation dans les flacons.

Par conséquent, un analogue structural, autre qu'un nitroaromatique a été utilisé comme *template* pour permettre la polymérisation en présence de styrène, il s'agit du 2,4-diaminotoluène (2,4-DAT). Cette dernière est une molécule de structure et de taille proche du 2,4-DNT. En effet, elle est constituée d'un cycle aromatique lié à un groupement méthyle et deux fonctions amines à la place des groupements nitro. Elle peut donc également former des liaisons hydrophobes et de type π-π avec le styrène grâce à son cycle aromatique.

La synthèse du MIP 7 a donc été réalisée avec le 2,4-DAT, le styrène, le DVB et l'AIBN dans le MeOH en reprenant le ratio 1/4/20 (T/M/AR). Pour anticiper l'élimination de la molécule empreinte, une mise au point de l'analyse par LC/UV du 2,4-DAT a été nécessaire pour contrôler l'élimination totale du *template*. Pour ce faire, la même colonne chromatographique a été utilisée (Symmetry Shield 250 x 3 mm) avec une phase mobile constituée d'un mélange eau/MeOH (70/30, v/v) en mode isocratique. Dans ces conditions beaucoup moins éluantes que pour les nitroaromatiques, le pic correspondant au 2,4-DAT a un temps de rétention de 5 min.

L'élimination du *template* est réalisée en percolant d'abord 20 mL de MeOH. Un protocole consistant à percoler de l'eau pure suivie d'une élution par fraction de force éluante croissante, avec des pourcentages croissants de MeOH, a permis de montrer d'une part que le *template* n'avait pas été totalement éliminé du support puisqu'il était

récupéré en grande quantité dans les dernières fractions d'élution. D'autre part que le *template* est bien retenu par interactions hydrophobes et de type π-π puisque la fraction de percolation d'eau pure ne permet pas d'éluer le *template* encore présent et dont l'élimination nécessite des solvants plus hydrophobes. Ainsi, 20 mL de MeOH à 5 % d'acide acétique ont été ensuite percolés et le même protocole basé sur la percolation d'eau pure suivie d'une élution par fractions de forces éluantes croissantes a été effectué. De très faibles quantités de 2,4-DAT ont été observées, mais qui ont été considérées comme négligeables puisque l'emploi de cet analogue lors de la synthèse n'a aucune incidence sur la caractérisation du MIP. En effet, seuls les nitroaromatiques ont été étudiés par la suite et leurs taux de récupération ne pourront pas être faussés par le relargage éventuel de la molécule empreinte au vu des conditions chromatographiques mises au point.

(b) *Mise au point d'une procédure d'extraction pour le 2,4-DNT et le 2,4,6-TNT*

De manière analogue aux procédures d'extraction mises en œuvre pour les MIP précédents, un profil d'élution consistant en la percolation d'eau dopée en 2,4-DNT ou 2,4,6-TNT, un lavage aqueux à 60 % de MeOH et une élution assurée par du MeOH pur et acidifié avec de l'acide acétique (AcAc) a été réalisé. Les profils d'élution correspondant sont présentés Figure III. 11 (a) et (b) pour le 2,4-DNT et le 2,4,6-TNT respectivement.

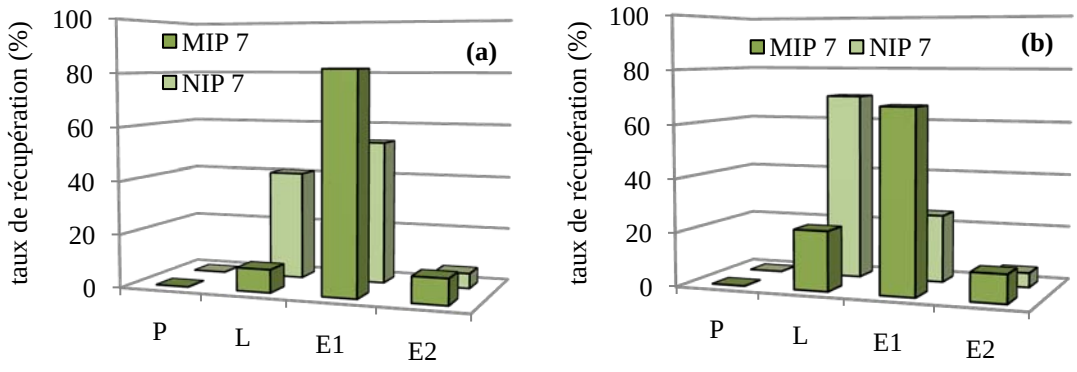


Figure III. 11 : Profils d'élution obtenus avec le MIP/NIP 7 ; P : 1 mL d'eau dopée par (a) le 2,4-DNT (1 µg) ou (b) le 2,4,6-TNT (500 ng), L : 1 mL d'eau/MeOH (40/60, v/v), E1 : 1 mL de MeOH et E2 : 1 mL de MeOH/AcAc (95/5, v/v).

Ces résultats montrent clairement la présence de cavités au sein du support qui permettent une rétention plus importante du 2,4-DNT et du 2,4,6-TNT grâce à l'emploi du support imprimé par rapport au support non imprimé. En effet, les taux de récupération des deux fractions d'élution, composées de MeOH et de MeOH/AcAc (95/5, v/v), sont de 91 % sur le MIP contre 59 % sur le NIP pour le 2,4-DNT. Concernant le 2,4,6-TNT, des taux de récupération à l'élution de 78 % ont été observés sur le MIP et de 30 % sur le NIP. Les cavités formées à l'aide du 2,4-DAT permettent ainsi, pour une partie d'entre elles de retenir sélectivement le 2,4-DNT et le 2,4,6-TNT.

L'élution plus importante dans la fraction d'eau/MeOH (40/60, v/v) pour le 2,4,6-TNT sur les supports par rapport au 2,4-DNT peut s'expliquer grâce au coefficient de partage du 2,4-DNT (log P = 1,98) et du 2,4,6-TNT (log P = 1,60). En effet, le premier est plus hydrophobe que le second et est donc davantage retenu sur l'adsorbant par interactions hydrophobes lors de la percolation d'un solvant de même force éluante, ceci confirme du reste la nature des interactions qui étaient attendues.

La caractérisation du MIP 7 a permis de confirmer la possibilité d'obtenir une réelle sélectivité du support par exploitation des interactions hydrophobes et de type π-π entre le monomère et les molécules cibles. Cependant, les résultats obtenus ne permettent pas d'envisager une utilisation du MIP 7 pour l'extraction sélective de nitroaromatiques compte tenu de son trop faible apport en sélectivité.

III. 3. 5. Conclusion

De nombreux MIP ont été synthétisés par polymérisation radicalaire dans le but de développer des cavités sélectives vis-à-vis des explosifs nitroaromatiques. Plusieurs stratégies ont alors été mises en place pour obtenir des supports sélectifs en exploitant différents types d'interactions non covalentes.

Dans un premier temps, des MIP ont été synthétisés à l'aide du MAA, de l'AA et du 2-VP pour développer des interactions polaires avec les fonctions nitro des explosifs nitroaromatiques. Cette première approche n'a pas permis de développer des cavités au sein des supports obtenus, ni même de former des liaisons suffisamment fortes pour retenir le 2,4-DNT, utilisé comme molécule empreinte.

Dans un second temps, le support imprimé synthétisé à partir de la 2-VP a été utilisé dans des conditions favorisant le développement d'interactions hydrophobes et de type π-π. Par cette méthode, le 2,4-DNT a bien été retenu mais sans aucune sélectivité.

Enfin, un autre MIP a été conçu avec le styrène pour développer des interactions hydrophobes et de type π-π avec le 2,4-DAT, analogue du 2,4-DNT pour pallier le problème d'inhibition de la polymérisation radicalaire par les nitroaromatiques, et former des cavités durant la synthèse. Cette approche démontre qu'un MIP générant un mécanisme basé sur ce type d'interactions est capable de retenir les explosifs nitroaromatiques et semble propice pour générer un certain degré de sélectivité. Cependant, cette sélectivité reste limitée et il nous est apparu pertinent d'envisager une nouvelle voie de synthèse permettant de contourner la propriété inhibitrice du 2,4-DNT en préparant un support imprimé par voie sol-gel en milieu aqueux à base d'organosilane.

Chapitre IV
Synthèse et caractérisation de MIS pour l'extraction sélective des explosifs nitroaromatiques

IV. 1. Introduction

Les études présentées dans le chapitre précédent ont mis en évidence la difficulté d'obtenir un MIP destiné à la rétention sélective des explosifs nitroaromatiques. En effet, seules les interactions hydrophobes et de type π-π semblent permettre la formation de cavités spécifiques. Au vu de ces résultats un autre mode de synthèse a été envisagé. Ces nouveaux supports, à base de silice et appelés MIS (molecularly imprinted silica), ont été préparés par voie sol-gel en milieu aqueux. Ainsi, les effets inhibiteurs des nitroaromatiques sur le styrène ont pu être facilement contournés ce qui a permis d'utiliser le 2,4-DNT comme molécule empreinte.

IV. 2. Evaluation du potentiel d'un MIS pour l'extraction sélective des explosifs nitroaromatiques

IV. 2. 1. Préparation du support de silice imprimé

IV. 2. 1. 1. *Choix des réactifs et conditions de synthèse*

Le premier MIS synthétisé dans cette étude s'est inspiré des travaux menés par l'équipe d'Augusto [174] sur la synthèse d'un MIS dont la caféine a été utilisé comme molécule empreinte pour développer des liaisons hydrogène dans les cavités. Cependant, l'objectif de notre étude est la rétention des explosifs nitroaromatiques par interactions hydrophobes et de type π-π. C'est pourquoi le monomère fonctionnel choisi est le phenyltrimethoxysilane (PTMS) possédant trois fonctions méthoxy pour la réticulation et une fonction phényle pour permettre le développement des interactions non covalentes de type hydrophobe et π-π avec le 2,4-DNT. Ces réactifs sont représentés Figure IV. 1.

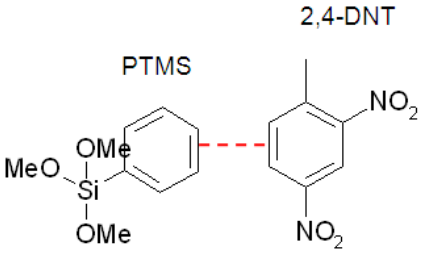


Figure IV. 1 : Schéma présentant la molécule empreinte et le monomère fonctionnel choisi.

L'agent réticulant choisi est le TEOS, réactif classiquement utilisé car il possède quatre fonctions éthoxy permettant une forte réticulation du support. La synthèse est réalisée en milieu aqueux avec une catalyse basique à l'aide d'hydroxyde de sodium à 32 % en excès. Mis à part le monomère fonctionnel, cette première synthèse a été réalisée selon les conditions de l'étude d'Augusto avec un ratio molaire molécule empreinte/monomère/agent réticulant, employé lors de cette synthèse, de 1/1/5. Le protocole de synthèse est détaillé en annexe 6. En résumé, pour réaliser cette synthèse, la molécule empreinte est tout d'abord introduite dans un flacon dans lequel l'eau est ajoutée de sorte à solubiliser la molécule empreinte avant l'ajout de monomère fonctionnel et de l'agent réticulant. Le mélange est agité pour homogénéiser la solution ce qui permet la solubilisation complète du *template* avant d'y introduire rapidement le catalyseur qui initie la réaction lors de l'agitation vigoureuse au vortex. Le milieu réactionnel est ensuite placé sous légère agitation à 40°C pendant 24 heures. Une fois le support obtenu, il est séché pendant 2 heures à température ambiante puis dans une étuve à 120°C pendant 18 heures.

Le support ainsi obtenu est broyé et tamisé pour obtenir des particules comprises entre 25 et 36 µm suivie d'une étape de sédimentation effectuée avec un mélange MeOH/eau (80/20, v/v) de sorte à éliminer les fines particules encore présentes. Enfin, 50 mg du support sont mis en cartouche d'extraction. L'élimination de la molécule empreinte est réalisée par la suite par des lavages successifs avec différents solvants.

Un NIS (non imprinted silica), est synthétisé en parallèle dans des conditions de synthèse identiques sans introduire de molécule empreinte pour obtenir un support sans cavité. Ce dernier permet de comparer, comme lors de l'étude précédente, les comportements des supports avec et sans cavité.

IV. 2. 1. 2. *Elimination de la molécule empreinte*

Avant la caractérisation du support, il a été nécessaire de procéder à l'élimination de la molécule empreinte. Pour cela, différents solvants d'hydrophobie croissante ont été percolés sur le support : 70 mL de MeOH, 60 mL d'ACN, 20 mL de DCM et 20 mL d'IPA. Cependant, un relargage persistant du 2,4-DNT du MIS a été observé après ces différents lavages. Dans le but d'évaluer rapidement le potentiel du MIS pour l'extraction, des extractions en eau non dopée ont été réalisées afin d'estimer le taux de 2,4-DNT relargué dans chaque fraction et pouvoir le déduire des taux de récupération estimés lors de la caractérisation.

Ainsi, les taux de récupération de chaque étape de l'extraction d'eau non dopée sur MIS, aussi appelés taux de relargage dans chacune des fractions, ont été obtenus par le rapport entre la quantité récupérée dans une fraction sur la quantité de 2,4-DNT récupérée dans l'ensemble des fractions. Ces taux de relargage sont ensuite utilisés pour la correction des taux de récupération après extraction d'eau dopée avec 500 ng de 2,4-DNT en appliquant la formule suivante :

$$Q^{cor}_{éluée} = Q_{éluée} - Q_{relarguée}$$

$$\text{soit } T^{cor}_{éluée} = T_{éluée} - (T_{relarguée} \times Q^{tot}_{relarguée}/500)$$

avec $Q^{cor}_{éluée}$: quantité corrigée, Q^{tot} : quantité totale, T^{cor} : taux de récupération corrigée.

Cette méthode de correction n'a bien entendu de sens qu'à la condition où le relargage du *template* s'effectue dans les même conditions à chaque extraction. Pour vérifier cette hypothèse, trois extractions en eau pure ont été réalisées avec des lavages en milieu hydroorganique et une élution au MeOH. Une procédure analogue sera par la suite appliquée avec de l'eau dopée en 2,4-DNT pour la caractérisation du support. Le profil moyen correspondant à trois extractions « à blanc » est présenté Figure IV. 2. Un écart-type inférieur à 3 a été obtenu pour chaque fraction, ce qui traduit la répétabilité du relargage du 2,4-DNT. La correction des rendements a donc été réalisée en tenant compte du fait qu'environ 20 % du 2,4-DNT est relargué dans les fractions de lavage et que les 60 % restant se trouve dans la fraction d'élution.

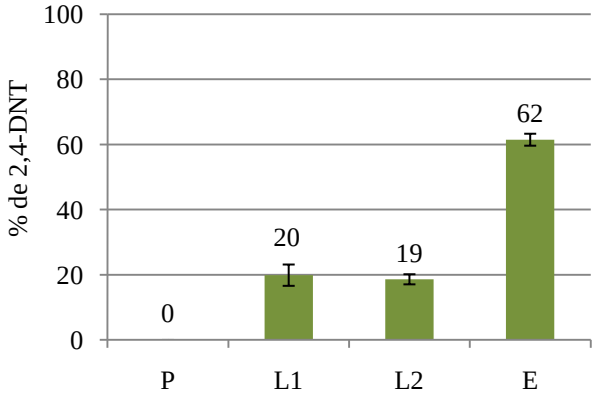


Figure IV. 2 : Distribution de la quantité totale de 2,4-DNT relarguée du MIS 1/1/5 dans les différentes fractions. P : 1 mL d'eau pure, L1 et L2 : 500 µL d'eau/MeOH (40/60, v/v) et E : 2 mL de MeOH (n = 3).

Cette méthode a été utilisée pour une partie de l'étude de caractérisation du MIS vis-à-vis du 2,4-DNT car par la suite un lavage intensif du support avec 30 mL de MeOH acidifié (5% d'acide acétique) a permis d'éliminer totalement la molécule empreinte sans pour autant modifier le comportement du support.

IV. 2. 2. Pré-évaluation de la sélectivité du MIS

IV. 2. 2. 1. *Mise en évidence de la sélectivité du MIS vis-à-vis du 2,4-DNT*

Un protocole d'extraction en milieu aqueux a été appliqué par percolation d'eau pure dopée. Dans le but d'évaluer la force des interactions entre la molécule empreinte et le monomère, une procédure d'élution par des solutions de force éluante croissante a été mise en œuvre. Pour cela, des solutions de 20, 40, 60 et 100 % de MeOH ont été percolées pour éluer le 2,4-DNT par rupture progressive des interactions hydrophobes et de type π-π. Cette procédure effectuée à deux reprises a permis d'obtenir les profils présentés en Figure IV. 3. L'application de cette procédure d'élution après percolation d'une solution d'eau non dopée pour quantifier le taux de relargage grâce aux formules présentées précédemment a permis de déterminer les rendements d'extraction corrigés qui sont présentés. Les deux profils obtenus témoignent d'une bonne répétabilité car les taux de récupération de chaque fraction sont similaires. De plus, la sélectivité du MIS apparaît clairement car des taux de récupération de plus de 80 % sont obtenus sur le MIS alors qu'ils sont inférieurs à 10 % sur le NIS.

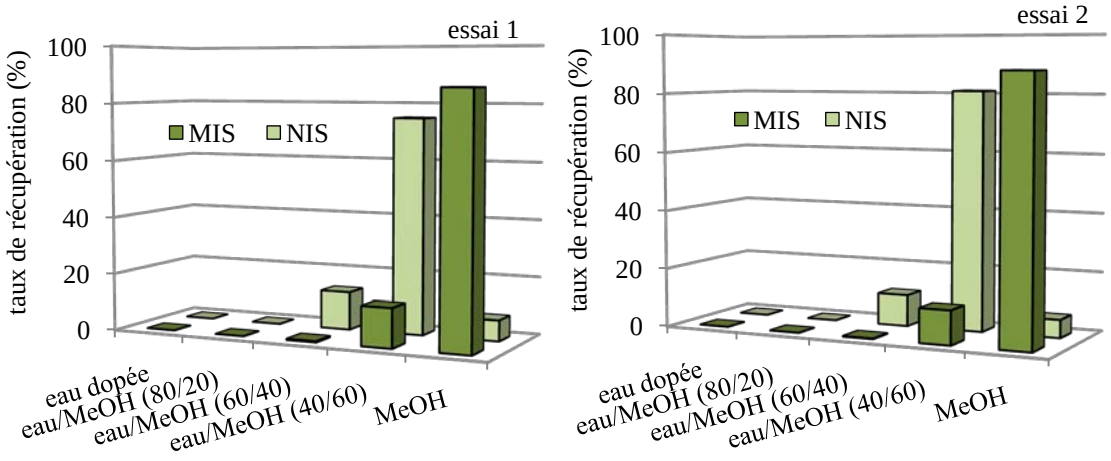


Figure IV. 3. : Profils d'élution après percolation d'eau dopée en 2,4-DNT (500 ng) suivie de fractions de force éluante croissante (volume des fractions : 1mL, résultats corrigés).

Compte-tenu du fait que le 2,4-DNT est quasiment totalement élué lors de la dernière étape de lavage sur le NIS, le choix d'un lavage à 60 % de MeOH apparaît donc comme le choix le plus judicieux pour l'extraction sélective du 2,4-DNT sur le MIS. Ces résultats très prometteurs nous ont conduits à évaluer préalablement ce support pour l'extraction sélective du 2,4,6-TNT qui reste le composé ciblé prioritairement dans cette étude.

IV. 2. 2. 2. *Extraction du 2,4,6-TNT*

La procédure précédente a été appliquée à l'extraction du 2,4,6-TNT. Le profil d'élution obtenu est présenté en Figure IV. 4. De nouveau, une bonne sélectivité est obtenue car la quasi totalité du 2,4,6-TNT est éluée du NIS lors des étapes de lavage par les mélanges hydroorganiques alors que le 2,4,6-TNT est présent majoritairement dans la fraction méthanolique du MIS. En revanche, le MIS est moins rétentif vis-à-vis du 2,4,6-TNT que du 2,4-DNT car un taux de récupération à l'élution du 2,4,6-TNT de seulement 40 % est observé.

Cette moindre rétention peut-être expliquée par un volume du 2,4,6-TNT légèrement plus important comparé à celui du 2,4-DNT ce qui pourrait gêner sa pénétration dans les cavités spécifiques. De plus, le 2,4,6-TNT a une polarité plus importante (log P = 1,64) que celle du 2,4-DNT (log P = 1,98) ce qui induit une rétention moins forte par interactions hydrophobes.

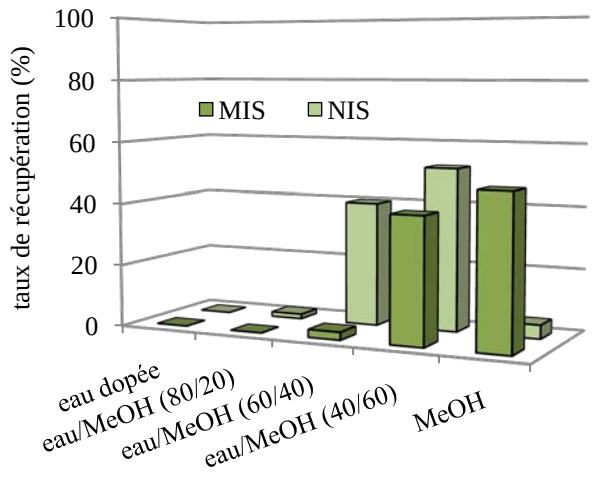


Figure IV. 4.: Profils d'élution obtenus après percolation sur le MIS et sur le NIS 1/1/5 d'eau dopée par le 2,4,6-TNT (500 ng) suivi par des solutions de force éluante croissante (fractions de 1 mL).

Le travail effectué jusqu'ici montre que ce support imprimé à base de silice permet pour la première fois l'extraction sélective du 2,4-DNT et du 2,4,6-TNT. Cependant, la procédure d'extraction reste à optimiser en modifiant l'étape de lavage pour permettre l'extraction simultanée des deux composés avec un haut degré de sélectivité.

IV. 2. 3. Optimisation du protocole d'extraction

IV. 2. 3. 1. *Procédure d'extraction simultanée du 2,4-DNT et du 2,4,6-TNT*

Avant l'optimisation de l'étape de lavage, la solution de percolation a été légèrement modifiée en ajoutant 10 % de MeOH dans la solution aqueuse. En effet, l'objectif final est de pouvoir extraire sélectivement les composés nitroaromatiques sur MIS à partir de matrices réelles dont le traitement de l'échantillon conduit à un extrait contenant jusqu'à 10 % de MeOH avec la procédure du LCPP. Il est donc nécessaire de vérifier qu'un mélange eau/MeOH (90/10, v/v) peut être employé comme solvant de percolation sans affecter la rétention sur le MIS. Compte-tenu des résultats précédemment obtenus, et présentés Figure IV. 3, lors de l'évaluation du MIS pour l'extraction du 2,4-DNT, il a été choisi de percoler 1 mL de solution eau/MeOH (90/10, v/v) dopée suivie d'une étape de lavage par 1 mL d'une solution d'eau/MeOH (40/60,

v/v). L'élution a ensuite été réalisée avec 2 mL de MeOH. Les profils d'élution réalisés en duplicat sont présentés Figure IV. 5.

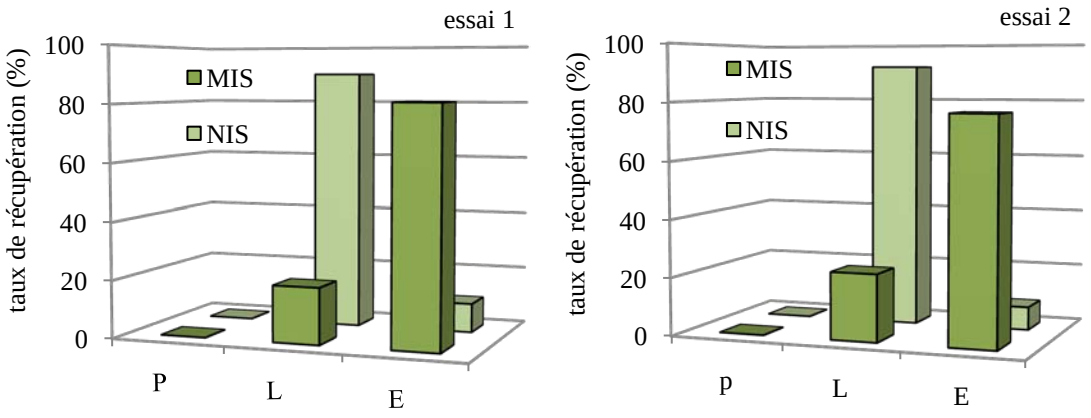


Figure IV. 5 : Profils d'élution obtenus avec le MIS et le NIS 1/1/5; P : 1 mL d'eau/MeOH (90/10, v/v) dopée avec le 2,4-DNT (500 ng), L : 1 mL d'eau/MeOH (40/60, v/v) et E : 2 mL de MeOH (résultats corrigés).

De nouveau, des rendements d'élution d'environ 80 % sur le MIS et 8 % sur le NIS ont été obtenus ainsi qu'une rétention de la totalité du 2,4-DNT à la percolation, ce qui rend possible la percolation d'eau pure ou contenant jusqu'à 10 % de MeOH sans modifier les profils d'élution du 2,4-DNT. La fraction de lavage a ensuite été adaptée pour permettre l'extraction simultanée du 2,4-DNT et du 2,4,6-TNT. En effet, la Figure IV. 4 montre clairement que le lavage par 1 mL à 60 % de MeOH est trop éluant et entraîne l'élution du 2,4,6-TNT, un volume moins important de 500 µL semble préférable. En revanche, la rétention plus forte du 2,4-DNT par interactions non spécifiques dû à sa plus faible polarité demande un volume de lavage préférentiellement d'1 mL. Dans l'optique d'une extraction simultanée, le volume de la fraction de lavage a été fixé à 750 µL, ceci afin de conserver une sélectivité satisfaisante pour le 2,4-DNT et ne pas avoir un taux de récupération du 2,4,6-TNT à l'élution trop faible. La Figure IV. 6 présente les profils d'élution réalisés à trois reprises pour ces deux composés.

Les rendements d'extraction obtenus avec cette procédure sont de 80 ± 4 % et 46 ± 5 % sur le MIS pour le 2,4-DNT et le 2,4,6-TNT respectivement alors que les rendements d'extraction sur NIS sont de 15 ± 1 % et 8 ± 1 %. La sélectivité du MIS vis-à-vis du 2,4-DNT est bien maintenue avec un lavage à 750 µL. La rétention du 2,4,6-TNT reste plus faible mais un haut degré de sélectivité est obtenu avec seulement 8 %

de rétention sur le NIS. Les faibles écart-types confirment la répétabilité de la procédure d'extraction lorsqu'elle est réalisée à trois reprises sur le même support.

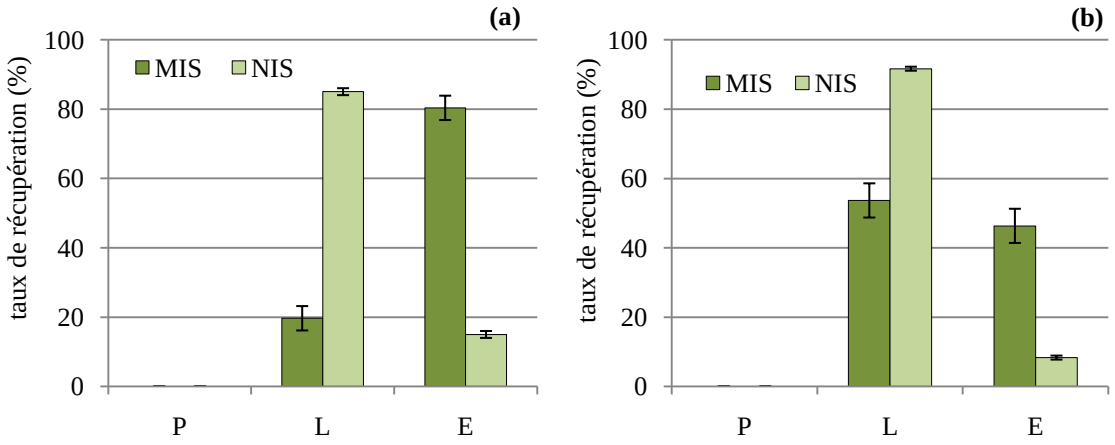


Figure IV. 6: Profils d'élution obtenus avec le MIS et le NIS 1/1/5; P : 1 mL d'eau/MeOH (90/10, v/v) dopé avec (a) 2,4-DNT (500 ng) et de (b) 2,4,6-TNT (500 ng) , L : 750 µL d'eau/MeOH (40/60, v/v) et E : 2 mL de MeOH (n = 3).

Ces résultats présentant la rétention sélective du 2,4-DNT et du 2,4,6-TNT sont très prometteurs. Ainsi, une caractérisation plus approfondie de ce MIS a été envisagée en estimant en premier lieu son potentiel pour l'extraction sélective d'autres explosifs nitroaromatiques ciblés.

IV. 2. 4. Etude de la rétention des autres explosifs nitroaromatiques

Les supports imprimés ont en général la capacité de retenir des composés de structures analogues à la molécule empreinte et ce MIS, plus précisément, a d'ores et déjà montré qu'il pouvait retenir simultanément le 2,4-DNT et le 2,4,6-TNT. Ainsi, les extractions du 2,4,6-TNP, du 2,6-DNT et du tétryl ont été réalisées. Pour cela des solutions d'eau/MeOH (90/10, v/v) dopées avec 500 ng chacun de ces explosifs ont été préparées puis le protocole optimisé a été appliqué.

Les profils d'élution obtenus pour les trois nouveaux composés testés, le 2,4,6-TNP, le 2,6-DNT et le tétryl, sont présentés Figure IV. 7.

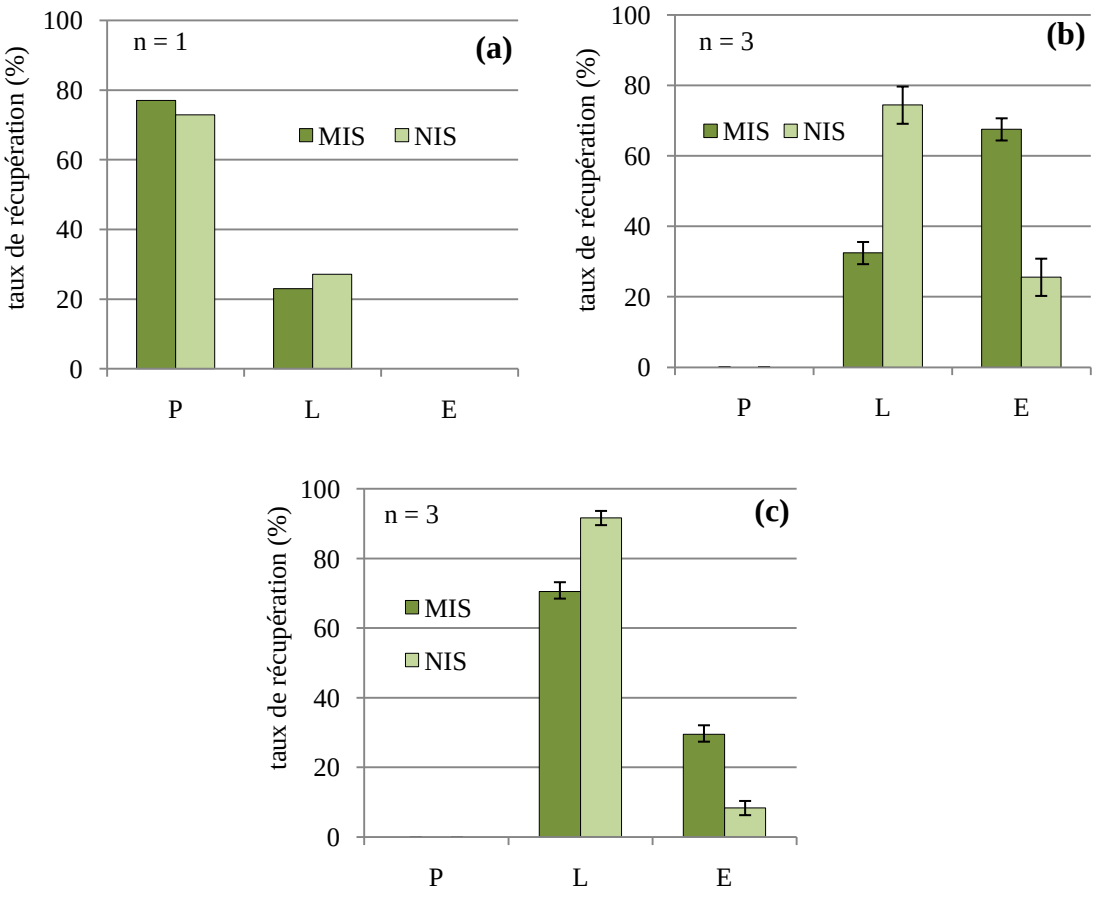


Figure IV. 7: Profil d'extraction obtenus sur le MIS et le NIS 1/1/5 ; P : 1 mL d'eau/MeOH (90/10, v/v) dopée avec 500 ng (a) de 2,4,6-TNP, (b) de 2,6-DNT et (c) de tétryl, L : 750 µL d'eau/MeOH (40/60, v/v) et E : 2 mL de MeOH.

Le profil d'élution du 2,4,6-TNP (Figure IV. 7 (a)) montre que ce composé est élué majoritairement dans la fraction de percolation à environ 75 % aussi bien sur le MIS que sur le NIS. Cette procédure ne permet donc pas la rétention le 2,4,6-TNP. En ce qui concerne le 2,6-DNT, le profil d'extraction de la Figure IV. 7 (b) montre qu'il est retenu lors de la percolation, une perte d'environ 30 % est observée au lavage pour aboutir à un rendement final de 68 ± 3 % sur le MIS. Concernant le NIS, une plus grande fraction est perdue au lavage conduisant à un rendement d'extraction de 26 ± 5 %. Un certain degré de sélectivité est donc obtenu pour ce composé. Enfin, concernant le tétryl (Figure IV. 7(c)), les taux de récupération obtenus dans les fractions d'élution sur le MIS et sur le NIS sont d'environ 30 ± 3 % et 8 ± 2 % respectivement car la majorité du composé est perdue lors de l'étape de lavage.

La faible rétention du 2,4,6-TNP et du tétryl peut s'expliquer en partie par leur volume moléculaire plus important que la molécule empreinte ce qui peut rendre leur

accès aux cavités plus difficile comme déjà évoqué pour le 2,4,6-TNT. De plus, le 2,4,6-TNP est très polaire (log P = 1,10) ce qui défavorise sa rétention par interactions hydrophobes. Le tétryl est lui de polarité similaire au 2,4,6-TNT (log P = 1,64) ce qui permet sa rétention lors de la percolation. En revanche, ce composé est plus volumineux ce qui doit gêner son accessibilité aux cavités spécifiques et qui explique son élution prématurée lors du lavage. En ce qui concerne le 2,6-DNT, isomère de position de la molécule empreinte, il est fortement retenu jusqu'à l'élution sur le MIS grâce à l'accès aux cavités et à ses propriétés hydrophobes (log P = 2,10). En revanche, ce composé est le nitroaromatique ciblé le plus apolaire ce qui entraîne également une légère augmentation des interactions non spécifiques par rapport au 2,4-DNT avec 25 % de rendement d'extraction sur le NIS.

De plus, les profils présentés sont les profils moyens réalisés pour trois extractions du 2,6-DNT et du tétryl. Les écart-types présentés sont inférieurs à 5 % ce qui permet de montrer la grande répétabilité de la procédure pour chacun des composés.

Au final, ce MIS synthétisé avec du PTMS comme monomère fonctionnel a bien permis le développement d'interactions hydrophobes et de type π-π avec le 2,4-DNT pour la création de cavités spécifiques. Ainsi, le 2,4-DNT, le 2,4,6-TNT, le 2,6-DNT et le Ty ont pu être retenus sélectivement avec des rendements d'extraction de 29 à 80 %. Ce support est, à notre connaissance, le premier support sélectif utilisé comme support de SPE capable de retenir simultanément plusieurs composés nitroaromatiques. Au vu de ces résultats prometteurs, il est apparu intéressant de poursuivre l'étude de la caractérisation de ce support par la détermination de la capacité et par évaluation de la répétabilité de la synthèse.

IV. 2. 5. Détermination de la capacité du support

Ce support dont la sélectivité a été mise en évidence renferme un certain nombre de cavités dans lesquels les composés vont se fixer. Il est nécessaire de connaître la quantité d'analytes qui va se fixer dans les cavités les mieux définies du MIS correspondant à la capacité du support. La détermination de la capacité va ainsi permettre d'estimer la quantité d'analyte qui peut être sélectivement retenue sur le support dans des conditions données de percolation. A cet effet, une série d'extraction a été réalisée par application du protocole d'extraction précédemment optimisé (décrit en

Figure IV. 8) en percolant des quantités croissantes de 2,4-DNT. Pour chacune des extractions, la fraction d'élution est analysée. De même que pour toutes les extractions précédentes, celles-ci ont été réalisées en parallèle sur le NIS. Les courbes résultantes sont présentées sur la Figure IV. 8.

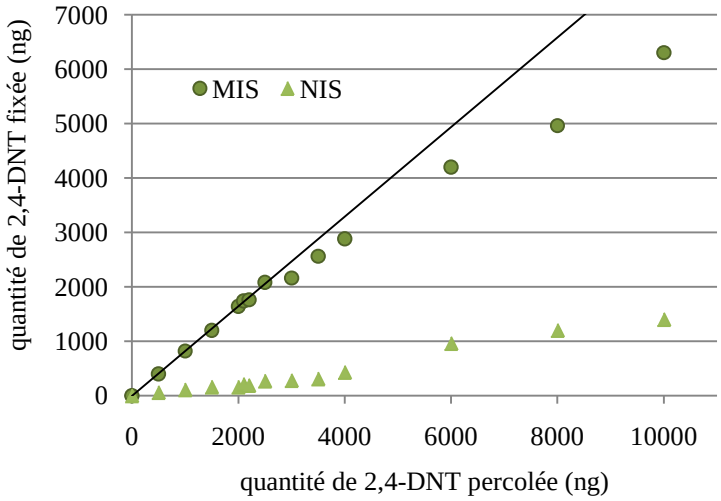


Figure IV. 8: Courbes de fixation réalisées en appliquant la procédure d'extraction optimisée pour des solutions d'eau pure dopées en concentrations croissantes (P : 1 mL d'eau, L : 750 µL d'eau/MeOH (40/60, v/v) et E : 2 mL de MeOH).

La courbe correspondant au MIS présente deux parties distinctes dont la première est linéaire et correspond au domaine d'extraction quantitative du MIS avec un rendement constant de 82 % (pente de la droite). De nouveau, l'obtention d'un rendement d'extraction constant confirme la répétabilité de l'extraction. Lors de la rupture de la droite à partir de 2500 ng de 2,4-DNT percolé, la capacité du support est atteinte. En effet, pour des quantités percolées supérieures à 2500 ng, les rendements d'extraction diminuent.

Concernant le NIS, la courbe obtenue est linéaire sur l'ensemble des quantités percolées. Ce résultat était prévisible puisque le rendement sur un support non spécifique est constant quelle que soit la quantité percolée tant que les sites d'interactions non spécifiques ne sont pas saturés or le nombre de ces sites est moins limité que le nombre de cavités spécifiques. Le coefficient directeur de cette droite correspond également aux rendements d'extraction obtenus dans ces conditions, sa valeur est de 13 %.

Pour conclure, la capacité obtenue dans ces conditions d'utilisation du MIS est de 2500 ng de 2,4-DNT pour 50 mg de support ce qui correspond à 0,05 mg/g de MIS soit 0,275 µmol/g. Cette valeur est un peu inférieure à la limite basse de la gamme des capacités reportées dans littérature qui sont souvent comprises entre 1 et 40 µmol/g [195]. Cependant, ces résultats sont satisfaisants compte-tenu des difficultés rencontrées pour obtenir un support sélectif ce qui permet d'envisager de poursuivre l'étude de la caractérisation du MIS et notamment de répéter la synthèse du support.

IV. 2. 6. Etude de la répétabilité de la synthèse

Dans une future utilisation des supports, des synthèses régulières et à plus grande échelle sont à envisager pour une utilisation des cartouches à usage unique. Il est donc nécessaire de réaliser l'étude de la répétabilité de la synthèse du MIS. A cet effet, la synthèse de ce MIS et du NIS correspondant a été réalisée à quatre reprises dans les mêmes conditions dans un période de vingt mois (J, J+1 mois et demi, J+19 mois et J+20 mois) avec des réactifs provenant de flacons différents. Pour chaque synthèse, le protocole d'extraction a été appliqué à trois reprises.

Les rendements d'extraction du 2,4-DNT et du 2,4,6-TNT obtenus après trois extractions répétées de ces composés sur chaque support sont présentés Figure IV. 9, les protocoles d'extraction appliqués étant rappelés dans la légende de la figure.

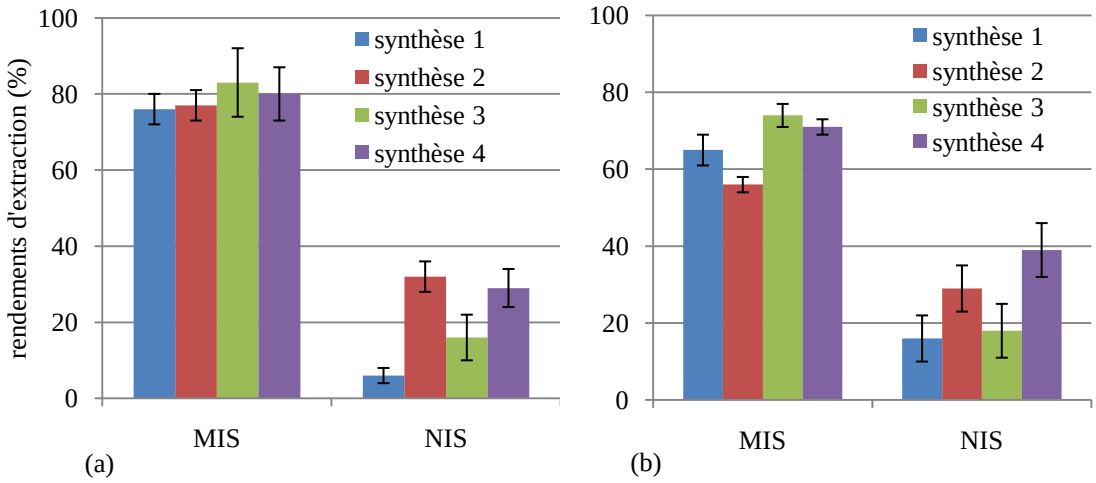


Figure IV. 9 : Rendements d'extraction obtenus pour 50 mg de MIS issus de quatre synthèses distinctes après percolation d'une solution d'eau dopée de (a) 2,4-DNT suivie d'une fraction d'1 mL d'eau/MeOH (40/60, v/v) et de 2 mL de MeOH (b) d'une solution d'eau dopée au 2,4,6-TNT suivi de 500 µL, d'eau/MeOH (40/60, v/v) et de 2 mL de MeOH (n = 3).

Les rendements d'extraction moyens présentés montrent des résultats similaires pour le 2,4-DNT sur le MIS et qui sont proches pour le 2,4,6-TNT . En effet, le rendement d'extraction moyen obtenus pour l'ensemble des synthèses est de 79 ± 6 % pour le 2,4-DNT et de 66 ± 8 % pour le 2,4,6-TNT. La synthèse semble donc répétable au vu de ces résultats. Les NIS présentent des écarts légèrement plus importants avec un rendement d'extraction moyen pour l'ensemble des synthèses de 21 ± 11 % pour le 2,4-DNT et de 25 ± 11 % pour le 2,4,6-TNT, mais cela permet malgré tout de confirmer la sélectivité du MIS qui présente systématiquement des rendements d'extraction bien supérieurs à ceux obtenus sur NIS.

Ces résultats soulignent la difficulté de synthétiser un NIS de surface spécifique constante et également le fait que si ce support est considéré actuellement comme le témoin le plus simple à utiliser pour évaluer la sélectivité d'un MIS, ce n'est pas le support optimal.

Compte-tenu de ces résultats prometteurs, une extraction de nitroaromatiques d'un échantillon réel a été réalisée afin de confirmer le potentiel de ce support pour l'extraction sélective de ces composés.

IV. 2. 7. Evaluation du MIS sur un échantillon réel

Le protocole de traitement des échantillons issus de scènes d'attentat et mis en place par le LCPP conduit à la percolation d'extraits hydroorganiques (eau/MeOH, 90/10, v/v) pouvant atteindre 50 mL sur le support de SPE [2, 121]. Il est donc nécessaire de vérifier que la percolation d'un tel volume n'entraîne pas une chute des rendements d'extraction. A cet effet, des volumes de 1 à 50 mL (1, 5,10, 20, 30, 40, 50) de solutions d'eau/MeOH (90/10, v/v) contenant 1 µg de 2,4-DNT ont été percolées sur le MIS suivies de la procédure optimisée. Les rendements d'extraction obtenus suite à ces expériences sont constants et correspondent à une moyenne de 81 ± 3 %. De plus, ces résultats sont similaires à ceux obtenus lors de la percolation d'1 mL de solution. Ainsi, des échantillons composés d'eau/MeOH (90/10, v/v) de volumes inférieurs ou égaux à 50 mL pourront à priori être percolés sur ce support sans perte de rétention, il conviendra donc de vérifier que les composants de l'échantillon n'affectent pas les rendements.

L'objectif de cette étude en milieu réel est en effet de démontrer que les matrices complexes n'engendrent pas d'effets de matrice sur les résultats obtenus en milieu pur et de mettre en évidence l'apport en sélectivité du support, notamment en le comparant avec un support conventionnel (Oasis HLB, Waters) actuellement utilisé au LCPP dans la procédure de traitement des échantillons post-attentats. Pour cela, un échantillon simulé a été préparé car aucun échantillon réel n'était disponible à ce moment de l'étude.

L'échantillon est préparé à partir d'huile de moteur qui est couramment présente dans les échantillons prélevés sur une scène d'attentat et qui se trouve être une matrice très complexe gênant l'identification des explosifs au cours de l'analyse chromatographique [120-121]. L'échantillon est obtenu après frotti sur une feuille d'aluminium de quelques gouttes d'huile par un coton. Ce dernier est préalablement imbibé d'un mélange eau/MeOH (50/50, v/v) et il est placé, après frotti, dans 10 mL de cette même solution pendant une dizaine de minutes pour en extraire les composés. L'extrait est ensuite dopé avec le 2,4-DNT et le 2,4,6-TNT et enfin dilué pour obtenir un échantillon de 50 mL avec une teneur résiduelle en méthanol de 10 %.

Dans le but de gagner du temps de percolation, 15 mL d'échantillon contenant 50 ng de 2,4-DNT et 50 ng de 2,4,6-TNT ont été percolés sur le support imprimé et sur le support conventionnel. Les procédures d'extraction appliquées sont détaillées en annexe 8. Les éluats obtenus ont été évaporés à sec puis repris dans un solvant approprié avant injection dans le système chromatographique comme présenté en annexe 7. Les chromatogrammes correspondant à l'analyse de la fraction d'élution des deux supports par LC/UV sont présentés Figure IV. 10.

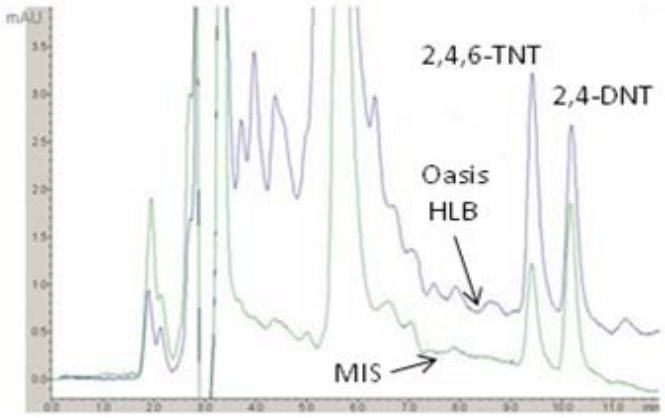


Figure IV. 10 : Chromatogrammes correspondant à l'analyse LC/UV (228 nm) des fractions d'élution obtenues après percolation sur le MIS ou l'Oasis HLB d'un échantillon simulé avec de l'huile de moteur dont l'extrait a été dopé par du 2,4-DNT et du 2,4,6-TNT.

Des rendements de 85 et 55 % ont été obtenus après extraction sur le MIS pour le 2,4-DNT et le 2,4,6-TNT respectivement. Ces rendements d'extraction sont similaires à ceux obtenus dans des conditions proches en milieu pur pendant cette étude (Figure IV. 6), ce qui démontre l'absence d'effets de matrice. De plus, la comparaison des chromatogrammes obtenus montre très clairement l'apport en sélectivité du MIS. En effet, le support imprimé permet d'éliminer un grand nombre d'interférents encore présents sur le chromatogramme correspondant à l'extraction sur support conventionnel Oasis HLB et permettant ainsi d'obtenir une ligne de base plus propre et une meilleure quantification des composés. Il est important de souligner que l'étape d'extraction sur Oasis HLB inclue une étape de lavage préalablement optimisée de manière à éliminer au mieux les interférents [121].

L'application du MIS pour un échantillon simulé proche d'un échantillon réel permet donc de confirmer le potentiel de ce MIS comme support d'extraction sélectif.

IV. 2. 8. Conclusion

La synthèse d'un MIS par voie sol-gel reposant sur l'utilisation du PTMS dans le but de développer des interactions hydrophobes et de typeπ -π a permis l'obtention d'un support sélectif utilisable en tant que support SPE à des fins de purification et de préconcentration. En effet, la mise au point d'une procédure d'extraction optimisée a montré qu'il est possible de retenir simultanément et sélectivement plusieurs composés nitroaromatiques comme le 2,4-DNT, le 2,4,6-TNT, le 2,6-DNT et le tétryl avec des rendements d'extraction compris entre 30 et 80 %. Ce type de support paraît donc être adapté à notre problématique mais la modification des conditions de synthèse a été envisagée dans le but d'améliorer les performances de ce MIS que ce soit en termes de réactivité croisée mais également en termes de capacité et de répétabilité de la synthèse.

IV. 3. Modification des conditions de synthèse du MIS

IV. 3. 1. Introduction

Pour améliorer les performances du MIS, certains paramètres de synthèse ont été modifiés. Ainsi, l'utilisation d'un analogue structural a tout d'abord été envisagée pour s'affranchir d'un éventuel phénomène de relargage. L'utilisation d'un monomère capable de développer des interactions polaires a également été étudiée pour la synthèse d'un nouveau support par voie sol-gel. Enfin, le ratio molaire *template*/monomère/agent réticulant a été modifié en conservant les réactifs du MIS étudié en IV. 2.

IV. 3. 2. Utilisation d'un analogue structural comme molécule empreinte

Une nouvelle synthèse par voie sol-gel a été réalisée dans les mêmes conditions que précédemment mais en utilisant un analogue structural, le 2,4-DAT, déjà utilisé lors de l'étude des MIP par polymérisation radicalaire. La procédure de synthèse est décrite en annexe 6. Le support imprimé ainsi que le non imprimé sont mis en cartouche et la molécule empreinte est éliminée par percolation de 30 mL d'ACN et de 10 mL de DCM.

Pour étudier la rétention et la sélectivité de ce support, des procédures d'extraction en eau pure suivi de lavage en milieu hydroorganique (eau/MeOH) et d'élution au MeOH ont été développées pour le 2,4-DNT et le 2,4,6-TNT. En ce qui concerne le 2,4-DNT, la Figure IV. 11 représente les profils d'élution obtenus pour le MIS^{DAT} et le NIS^{DAT}. Un taux de récupération à l'élution de plus de 70 % a été observé sur le MIS^{DAT} mais le NIS^{DAT} conduit à un comportement similaire de ce composé. Une procédure incluant un lavage plus éluant (eau/MeOH, 40/60, v/v) a également été appliquée mais aucune différence de rétention n'a été observée entre le MIS^{DAT} et le NIS^{DAT}.

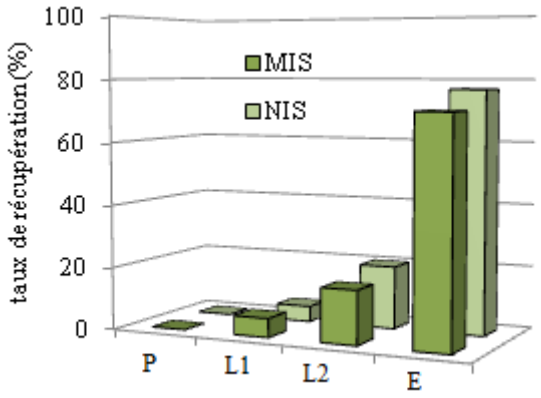


Figure IV. 11. : Profils d'élution obtenus avec le MIS^{DAT} et sur le NIS^{DAT} ; P : 1 mL d'eau contenant du 2,4-DNT (500 ng), L1 et L2 : 500 µL d'eau/MeOH (50/50, v/v), E : 1 mL de MeOH.

En revanche, comme le montre la Figure IV. 12, le 2,4,6-TNT présente un taux de récupération à l'élution de l'ordre de 50 % sur le MIS^{DAT} et de seulement 25 % sur le NIS^{DAT}. Une certaine sélectivité est donc présente mais elle reste insuffisante pour envisager une caractérisation approfondie de ce support, d'autant que le 2,4-DNT n'est pas retenu sélectivement.

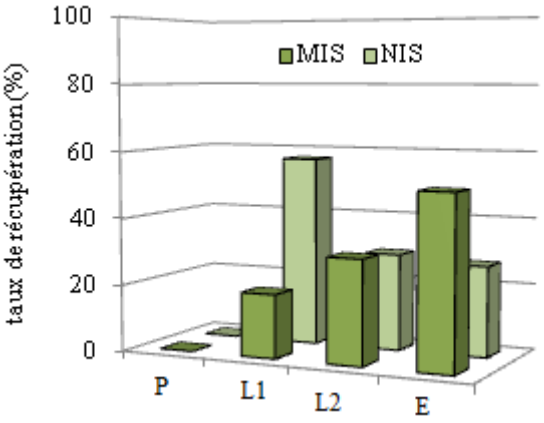


Figure IV. 12. : Profils d'élution obtenus avec le MIS^{DAT} et sur le NIS^{DAT} ; P : 1 mL d'eau contenant du 2,4,6-TNT (500 ng), L1 et L2 : 500 µL d'eau/MeOH (50/50, v/v), E : 1 mL de MeOH.

IV. 3. 3. Utilisation d'un monomère polaire

L'objectif de cette nouvelle synthèse est de vérifier s'il est possible de développer des cavités grâce à des interactions polaires par voie sol-gel pour retenir les nitroaromatiques lors d'une procédure de SPE. Pour cela, le 3-

aminopropyltriméthoxysilane (APTMS), monomère polaire présenté Figure IV. 13 qui posséde une fonction amine, a été utilisé comme monomère fonctionnel. Les autres réactifs comme le TEOS pour l'agent réticulant et le 2,4-DNT comme molécule empreinte ont été conservés. Le ratio molaire (*template*/monomère/agent réticulant) employé lors de cette synthèse est le 1/4/20 mais la même procédure de synthèse que celle du MIS décrit en IV. 2 a été appliquée (annexe 6). Après la mise en cartouche des supports, la molécule empreinte a été éliminée avec 20 mL de MeOH.

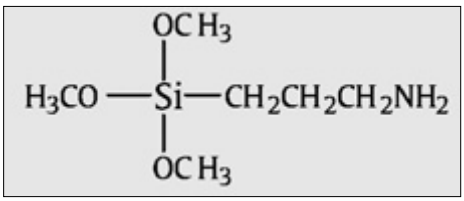


Figure IV. 13 : Formule de l'APTMS

L'objectif étant le développement de liaisons polaires pour former les cavités, un protocole d'extraction similaire à ceux utilisés pour l'évaluation des MIP polaires étudiés dans le chapitre précédent a été utilisé. Ainsi, après un conditionnement des supports avec 5 mL d'ACN, 1 mL d'ACN dopé avec 500 ng de 2,4-DNT a été percolé suivi d'1 mL d'ACN/MeOH (90/10, v/v) et d'1 mL de MeOH ; le profil d'élution correspondant est présenté Figure IV. 14.

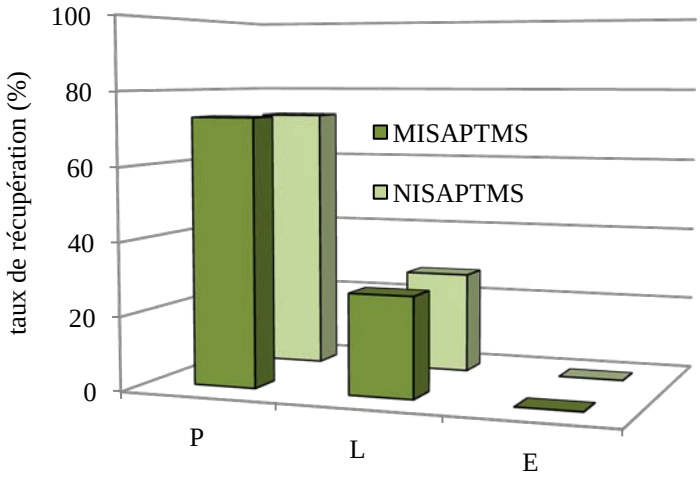


Figure IV. 14 : Profil d'élution obtenus avec le MIS^{APTMS} et le NIS^{APTMS} ; P : 1 mL d'ACN dopé avec le 2,4-DNT (500 ng), L : 1mL d'ACN/MeOH (90/10, v/v) et E : 1 mL de MeOH.

Le 2,4-DNT est très faiblement retenu sur le MIS^{APTMS} puisque 73 % de 2,4-DNT sont récupérés dès la percolation. De plus, un profil identique est observé sur le NIS^{APTMS} témoignant de l'absence de cavités spécifiques au sein du MIS^{APTMS}. Ces résultats confirment que les interactions polaires développées sont beaucoup trop faibles dans le cas des nitroaromatiques pour aboutir à des supports suffisamment rétentifs et sélectifs et ce, quelle que soit la voie de synthèse et le monomère utilisé.

Au vu de ces résultats, l'étude s'est poursuivie vers un changement de ratio des réactifs du MIS possédant le plus grand potentiel démontré jusqu'à présent et qui a été caractérisé au IV. 2.

IV. 3. 4. Influence du ratio molaire sur les performances du support

IV. 3. 4. 1. *Conditions de synthèse*

Le ratio molaire molécule empreinte/monomère/agent réticulant habituellement utilisé par voie radicalaire est de 1/4/20. En ce qui concerne les MIS, une étude réalisée en vue de l'extraction sélective du lisinopropyl dihydrate, un composé pharmaceutique, a révélé que l'augmentation de la teneur en agent réticulant permettait d'augmenter la sélectivité du support [176]. En s'appuyant sur ces résultats, deux nouvelles synthèses de MIS ont été faites avec les ratios molaires 1/4/20 et 1/4/30 en conservant les réactifs qui ont permis d'obtenir un premier MIS de ratio molaire 1/1/5 (2,4-DNT/PTMS/TEOS). Lors de ces synthèses, l'eau et l'hydroxyde de sodium ont été utilisés comme solvant et comme catalyseur. Pour rester en large excès, leur volume a été augmenté proportionnellement à la quantité de silanes, c'est-à-dire de PTMS et de TEOS. La synthèse est ensuite effectuée dans les mêmes conditions que pour le MIS 1/1/5 qui sont décrites en annexe 6.

L'élimination de la molécule empreinte a été réalisée par percolation de 70 mL de MeOH, 60 mL d'ACN et 20 mL de DCM au total, ce qui a permis d'éliminer totalement la molécule empreinte pour les deux MIS nouvellement synthétisés.

IV. 3. 4. 2. *Potentiel des MIS 1/4/20 et 1/4/30*

(a) *MIS 1/4/20*

Au même titre que le MIS 1/1/5 (présenté en IV. 2), le MIS 1/4/20 doit posséder un réseau polymérique développant des interactions hydrophobes et de type π-π. Dans un premier temps, la procédure optimisée avec le MIS 1/1/5 a été appliquée au MIS 1/4/20 (percolation d'eau/MeOH (90/10, v/v), lavage à l'eau/MeOH et l'élution au MeOH). Dans ces conditions, une rétention importante a été observée sur le MIS mais également sur le NIS ce qui n'a pas permis d'obtenir autant de sélectivité que le MIS 1/1/5. Un lavage de plus grande force éluante a donc dû être appliqué afin de rompre les interactions non spécifiques tout en conservant les interactions développées par le 2,4-DNT sur le MIS. Ainsi, après la percolation d'eau dopée, différents lavages avec des solutions aqueuses contenant de 10 à 30 % d'ACN ont été appliqués, l'élution étant ensuite réalisée par de l'ACN pur. Au final, un lavage par une solution composée d'eau/ACN (75/25, v/v) est apparu optimal afin d'obtenir un très grand degré de sélectivité. Ce résultat est illustré en Figure IV. 15.

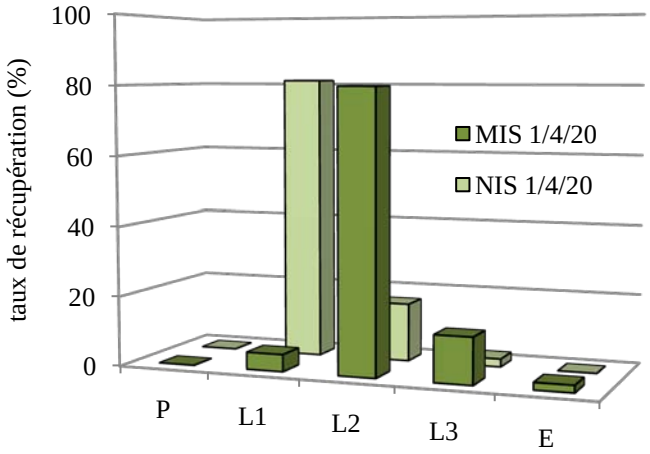


Figure IV. 15 : Profils d'élution obtenus avec le MIS 1/4/20 et sur le NIS correspondant ; P : 1 mL d'eau dopée avec le 2,4-DNT (500 ng), L1, L2, et L3 :1 mL d'eau/ACN (75/25, v/v) et enfin d'une fraction 1 mL d'ACN.

Avec seulement 1 mL de cette solution de lavage (L1), 80 % du 2,4-DNT est élué du NIS alors que sa rétention sur le MIS 1/4/20 est quasiment totale. Ces premiers résultats témoignent du potentiel de ce nouveau support en tant que support d'extraction, la différence entre le MIS et le NIS 1/4/20 étant plus marquée que pour le précédent couple correspondant au ratio 1/1/5 (Figure IV. 6)

(b) *MIS 1/4/30*

Pour évaluer le MIS correspondant au ratio 1/4/30, un lavage avec une solution d'eau/ACN (75/25, v/v) a été appliqué après la percolation d'une solution d'eau/MeOH (90/10, v/v) dopé en s'appuyant sur les résultats du MIS 1/4/20, l'élution étant toujours réalisée à l'ACN. La Figure IV. 16 présente le profil d'élution correspondant.

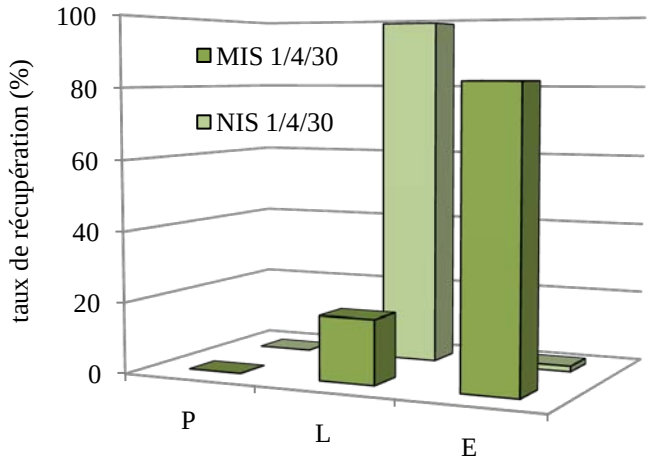


Figure IV. 16 : Profils d'élution obtenus avec le MIS et le NIS 1/4/30 ; P : 1 mL d'eau/MeOH (90/10, v/v) dopé avec le 2,4-DNT (500 ng), L : d'1 mL d'eau/ACN (75/25, v/v) et E : 1 mL d'ACN.

Un très grand degré de sélectivité est d'emblée obtenu sur le MIS 1/4/30 avec une perte de la quasi-totalité du 2,4-DNT sur le NIS au lavage alors que 80 % de ce composé est retenu sur ce MIS jusqu'à l'élution. Ce dernier présente également un potentiel évident pour l'extraction sélective du 2,4-DNT.

IV. 3. 5. Conclusion

Les premiers résultats présentés pour les MIS 1/4/20 et 1/4/30 témoignent d'une grande sélectivité de ces deux supports vis-à-vis du 2,4-DNT. Le potentiel de ces supports est donc ainsi démontré. Il semble également que ces supports présentent de meilleures performances que le MIS 1/1/5 en terme de sélectivité ce qui nécessite une étude plus approfondie pour confirmer ces résultats prometteurs.

IV. 4. Caractérisation des MIS 1/4/20 et 1/4/30

IV. 4. 1. Développement d'une procédure d'extraction optimale

La pré évaluation du potentiel des MIS 1/4/20 et 1/4/30 s'est poursuivie par l'optimisation des procédures d'extraction conduisant à un grand degré de sélectivité tout en garantissant des rendements d'extraction élevés. Ainsi, il est apparu que les procédures optimales consistent à laver le support par 1 mL d'eau/ACN (75/25, v/v) pour le MIS 1/4/20 et par 1,5 mL d'eau/ACN (80/20, v/v) pour le MIS 1/4/30 avant l'élution avec 1 mL d'ACN. Il est à noter qu'un lavage de 1,5 mL d'eau/MeOH (80/20, v/v) a été préféré à celui composé d'1 mL d'eau/MeOH (75/25, v/v) pour le MIS 1/4/30 pour privilégier un volume de lavage plus important en vue d'une meilleure purification. Les profils d'élution correspondant sont présentés en Figure IV. 17. Ils ont été réalisés en triplicat.

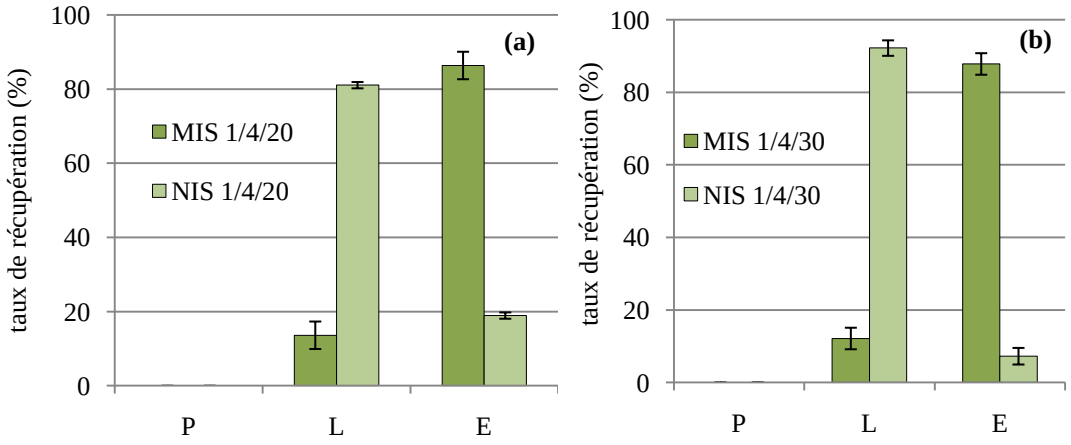


Figure IV. 17 : Profils d'élution obtenus avec (a) le MIS et le NIS 1/4/20 et (b) le MIS et le NIS 1/4/30 ; P : 1 mL d'eau/MeOH (90/10, v/v) dopé avec le 2,4-DNT (500 ng), L : (a) 1 mL d'eau/ACN (75/25, v/v) ou (b) 1,5 mL d'eau/ACN (80/20, v/v) et E : 1 mL d'ACN (n = 3).

Grâce à ces procédures, une grande sélectivité est obtenue pour ces deux supports avec des rendements d'extraction de 86 ± 4 % et de 19 ± 1 % pour le MIS et le NIS 1/4/20, respectivement, et de 88 ± 3 % et de 7 ± 2 % pour le MIS et le NIS 1/4/30, respectivement. Les écart-types sont faibles ce qui permet de montrer la grande répétabilité de ces procédures d'extraction. Les rendements d'extraction obtenus sur ces MIS sont donc légèrement supérieurs à celui du MIS 1/1/5 qui était de 80 %. En ce qui concerne la sélectivité, le MIS 1/4/20 présente une sélectivité similaire à celle du MIS

1/1/5 alors que celle du MIS 1/4/30 est légèrement supérieure à celle du MIS 1/1/5 avec une plus forte rétention spécifique et une moindre rétention non spécifique (15 % de rendement sur le NIS 1/1/5).

Les MIS 1/4/20 et 1/4/30 présentent des performances similaires avec à priori une légère diminution des interactions non spécifiques pour le MIS 1/4/30 visible grâce au NIS. Il sera important de vérifier la répétabilité de la synthèse de ces supports pour le confirmer. Ces deux MIS ont donc été conservés pour la suite de l'étude. Ainsi, dans une première étape, l'étude de l'extraction des autres nitroaromatiques ciblés a été envisagée.

IV. 4. 2. Etude de la rétention des autres nitroaromatiques

Les extractions des explosifs nitroaromatiques ciblés par le LCPP sur les MIS 1/4/20 et 1/4/30 ont été réalisées avec les procédures de lavage précédemment développées pour le 2,4-DNT. Les rendements d'extraction correspondant sont présentés Figure IV. 18.

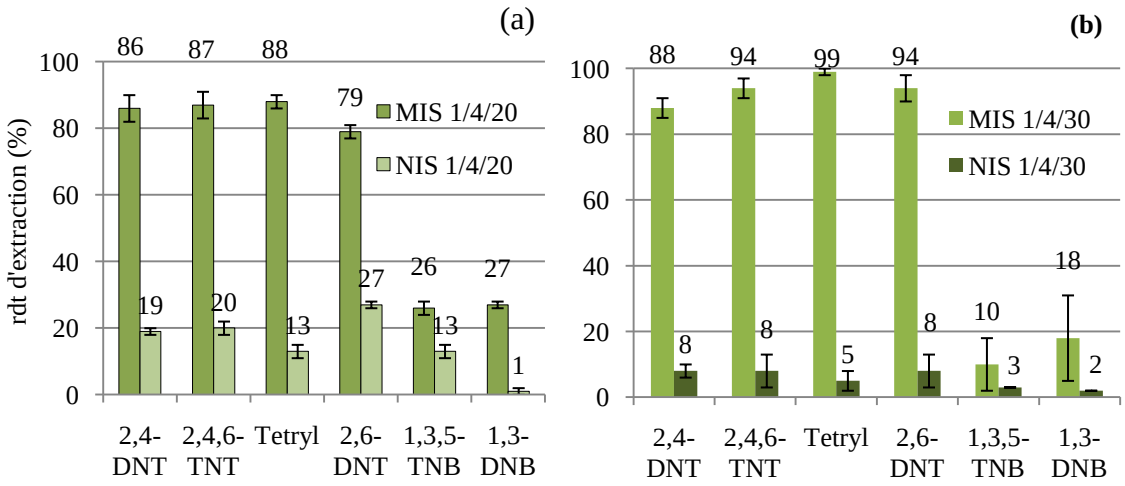


Figure IV. 18 : Rendements d'extraction moyens obtenus après percolation des nitroaromatiques (500 ng) suivie des protocoles optimisés présentés en annexe 8 (a) sur le MIS et le NIS 1/4/20 et (b) sur le MIS et le NIS 1/4/30 (n = 3).

Ces rendements d'extraction montrent que ces MIS permettent de retenir sélectivement l'ensemble des nitroaromatiques ciblés, c'est-à-dire le 2,4-DNT, le 2,4,6-TNT, le tétryl, le 2,6-DNT, le 1,3,5-TNB et le 1,3-DNB. Cependant, la rétention de ces deux derniers composés reste faible avec moins de 30 % pour le MIS 1/4/20 et moins de

20 % pour le MIS 1/4/30. Il est à noter que les écart-types sont très faibles pour tous ces composés, ils peuvent donc être extraits sur ces supports de façon répétables. En ce qui concerne les autres explosifs nitroaromatiques (2,4-DNT, 2,6-DNT, 2,4,6-TNT et tétryl), les rendements sont supérieurs à 79 % pour le MIS 1/4/20 et à 88 % pour le MIS 1/4/30. En parallèle les rendements d'extraction sont inférieurs à 27 % pour le NIS 1/4/20 et à 10 % pour le NIS 1/4/30.

Les performances de ces supports sont donc très supérieures aux performances du MIS 1/1/5 précédemment présenté puisque ces nouveaux MIS permettent de retenir le 2,4,6-TNT, les isomères du DNT et le tétryl avec des rendements d'extraction élevés tout en conservant une grande sélectivité. La différence entre le MIS 1/1/5 et ces deux supports réside principalement dans l'augmentation de la quantité de silanes employée comme monomère fonctionnel et comme agent réticulant. Cette augmentation semble conduire à l'obtention de supports plus fortement réticulés permettant probablement l'obtention de cavités mieux définies et des interactions plus fortes au sein de celles-ci. Ces cavités doivent être également plus grandes puisqu'elles ont permis au tétryl de s'y fixer.

En effet, la comparaison du MIS 1/4/20 avec le MIS 1/4/30 fait apparaître une diminution significative des interactions non spécifiques et une augmentation du rendement sur MIS. Ainsi, l'augmentation de la teneur en agent réticulant a permis pour cette étude l'amélioration de la rétention et la sélectivité du support.

Bien que les résultats obtenus soient un peu meilleurs pour le MIS 1/4/30, les performances du MIS 1/4/20 restent très satisfaisantes c'est pourquoi il a été choisi de poursuivre la caractérisation de ces deux supports par la détermination de la capacité.

IV. 4. 3. Détermination de la capacité des supports

La capacité de ces supports sélectifs a été également déterminée en procédant, comme pour le MIS 1/1/5, à la percolation de solutions contenant des concentrations croissantes de 2,4-DNT. Pour cela, des solutions avec des teneurs en 2,4-DNT comprises entre 0,5 et 160 µg/mL ont été percolées en appliquant, pour chacun des supports, les procédures de lavage et d'élution précédemment développées et décrites en annexe 8. Les courbes de fixation correspondant à ces deux supports imprimés et aux NIS correspondant ainsi obtenues sont présentées Figure IV. 19. Pour ces MIS, les

courbes sont des droites sans changement de pente sur l'intervalle des quantités de 2,4-DNT testées ce qui signifie que la capacité n'est toujours pas atteinte lorsque des quantités de 2,4-DNT allant jusqu'à 160 µg sont percolées sur 50 mg de support.

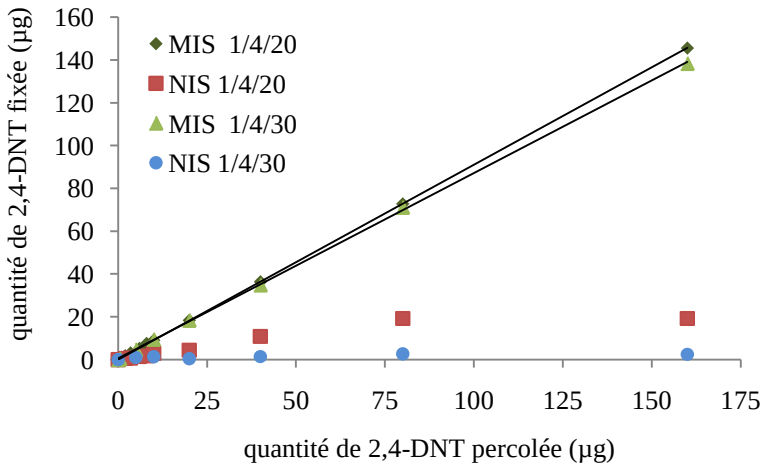


Figure IV. 19 : Courbes de capacité obtenus pour les MIS 1/4/20 et 1/4/30 ainsi que les NIS correspondant (conditions d'extraction décrites en annexe 8).

L'étude de la capacité n'a pu être poursuivie au-delà de ces teneurs car la solubilité du 2,4-DNT en solution aqueuse a été atteinte. Les pentes des deux droites qui traduisent les rendements d'extraction, sont très proches pour les deux supports avec 91 % pour le MIS 1/4/20 et 87 % pour le MIS 1/4/30. Ainsi, ces deux supports présentent un comportement similaire. Pourtant, une différence est à noter entre les NIS. En effet, l'écart entre les courbes des NIS confirme que le NIS 1/4/30 développe moins d'interactions non spécifiques que le NIS 1/4/20, la contribution des cavités du MIS 1/4/30 dans le processus de rétention étant donc supérieure à celle du MIS 1/4/20.

La capacité de ces deux MIS est au moins supérieure à 3,2 mg/g de support. Cette capacité est bien supérieure à celle obtenue avec le MIS 1/1/5 pour lequel une valeur de 0,05 mg/g de support a été obtenue. Ces deux nouveaux supports présentent donc un énorme potentiel pour la miniaturisation avec la possibilité d'utiliser une quantité de phase très faible renfermant un nombre important de cavités.

IV. 4. 4. Etude de la répétabilité de la synthèse

Pour évaluer la répétabilité des synthèses des MIS 1/4/20 et 1/4/30, trois synthèses ont été réalisées pour chacun des supports et la procédure d'extraction

optimisée a été appliquée à trois reprises par support synthétisé après percolation d'eau/MeOH (90/10, v/v) dopé avec 500 ng de 2,4-DNT et de 2,4,6-TNT. Ces procédures ont permis de tracer les histogrammes de la Figure IV. 20 qui représentent les rendements d'extraction moyens obtenus pour chaque support synthétisé.

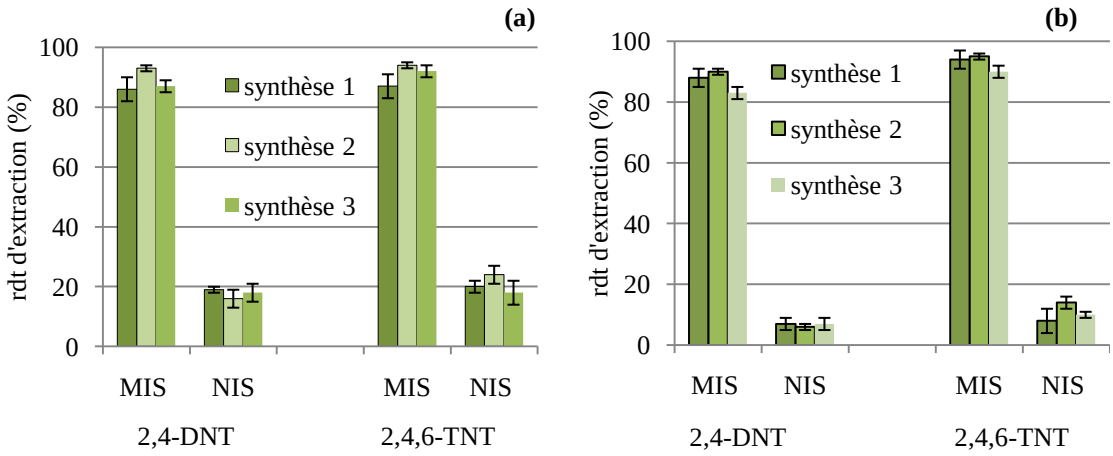


Figure IV. 20 : Rendements d'extraction obtenus pour le 2,4-DNT et le 2,4,6-TNT sur les MIS 1/4/20 et 1/4/30 et les NIS correspondant issus de trois synthèses distinctes après application de la procédure optimisée décrite en annexe 8 (n = 3).

Les écart-types visibles sur les histogrammes sont très faibles ce qui confirme dans un premier temps la répétabilité de la procédure d'extraction sur un support donné comme cela a été mis en évidence précédemment. De plus, quel que soit le support, les rendements d'extraction moyens obtenus pour les trois synthèses sont similaires avec 89 ± 4 % pour le 2,4-DNT et 91 ± 4 % pour le 2,4,6-TNT obtenus comme rendements d'extraction moyen pour l'ensemble des synthèses de MIS 1/4/20 et 87 ± 4 % pour le 2,4-DNT et 92 ± 3 % pour le 2,4,6-TNT en ce qui concerne le MIS 1/4/30. Ces résultats permettent de conclure que la synthèse est également répétable. Les interactions non spécifiques développées sur chacun de ces supports sont également similaires avec des rendements d'extraction répétables pour chacune des synthèses de NIS. Les résultats obtenus nous ont ainsi permis d'envisager l'évaluation de ces supports en milieu réel.

IV. 4. 5. Extraction en milieu réel

IV. 4. 5. 1. *Etudes préliminaires*

Comme pour le MIS 1/1/5, il est préalablement nécessaire de vérifier qu'il est possible de percoler jusqu'à 50 mL d'extrait hydroorganique (90/10, v/v) sans perte de rétention. Pour cela, des volumes de 1 à 50 mL (1, 5,10, 20, 30, 40, 50) de solutions d'eau/MeOH (90/10, v/v) contenant 500 ng de 2,4-DNT ont été percolées sur les MIS 1/4/20 et 1/4/30 suivi de la procédure optimisée. Les rendements d'extraction moyens obtenus suite à ces expériences sont de 86 ± 2 % et de 88 ± 3 % pour les MIS 1/4/20 et 1/4/30 respectivement. Ainsi, des échantillons composés d'eau/MeOH (90/10, v/v) de volumes inférieurs ou égaux à 50 mL pourront être percolés sur ces supports sans diminution des performances des MIS.

Dans le but de diminuer par deux le facteur de dilution de l'extrait d'eau/MeOH (50/50, v/v) obtenu à partir des frottis de cotons, la procédure d'extraction a également été appliquée à 1 mL d'une solution d'eau/MeOH (80/20, v/v) dopée avec le 2,4-DNT et le 2,4,6-TNT. N'ayant pas observé de diminution des rendements d'extraction dans ces conditions, la procédure d'extraction a alors été appliquée à 25 mL d'eau/MeOH (80/20, v/v) dopé avec le 2,4-DNT et le 2,4,6-TNT. L'obtention dans ces conditions de rendements proches de 100 % démontre qu'il est donc possible de moins diluer l'échantillon à l'avenir et ainsi de percoler un volume d'échantillon de 25 mL au lieu des 50 mL jusque là utilisés sans aucune perte prématurée de ces deux composés. Ce protocole n'a été appliqué qu'au MIS 1/4/20 et il est encore nécessaire de faire ces expériences pour le MIS 1/4/30 pour un gain en temps d'analyse des échantillons réels quel que soit le MIS employé.

IV. 4. 5. 2. *Choix des échantillons*

Une des difficultés de l'étude a été l'obtention d'échantillons réels car pour leur majorité, ils sont recueillis par le LCPP et exploités en intégralité pour l'identification des composés explosifs. Au vu de ces difficultés, deux types d'échantillons simulés ont été testés. Ainsi, le MIS 1/4/20 a été employé pour l'extraction des explosifs dans des échantillons simulés à partir d'huile de moteur et de sang humain. Un échantillon réel riche en 2,4,6-TNT a pu être également étudié sur les deux supports. Les extraits ont été systématiquement purifiés en parallèle sur un support conventionnel hydrophobe (Oasis HLB). Au final, un volume de 15 mL de solution hydroorganique a été utilisé pour chaque extraction. Lors de ces études, le tétryl n'a pas été introduit dans les échantillons

car des premiers essais ont montré que son instabilité ne permettait pas de le détecter systématiquement.

IV. 4. 5. 3. *Purification sélective d'un extrait contenant de l'huile de moteur*

Dans un premier temps, un échantillon préliminaire réalisé dans les mêmes conditions que celui utilisé pour le MIS 1/1/5 (cf IV. 2. 7) mais dans un plus grand volume a été préparé et dopé avec les six explosifs nitroaromatiques de sorte à percoler 1 µg de chacun des nitroaromatiques dans le but d'étudier les éventuels effets de matrice par détermination des rendements d'extraction. La Figure IV. 21 présente les rendements d'extraction moyens obtenus après trois extractions du même échantillon sur le MIS 1/4/20 et sur le support conventionnel Oasis HLB.

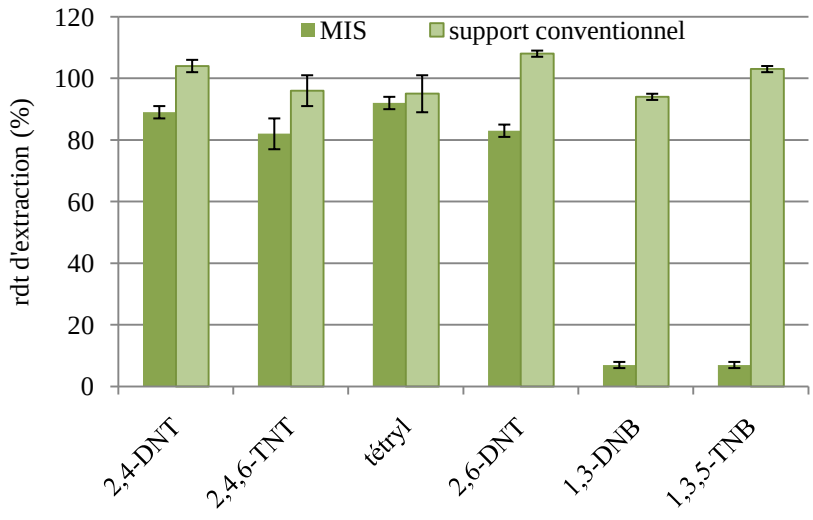


Figure IV. 21 : Rendements d'extraction moyens obtenus après percolation d'un échantillon simulé à l'huile de moteur suivie des procédures décrites en annexe 8 sur le MIS 1/4/20 et le support conventionnel Oasis HLB (n = 3).

Les rendements d'extraction moyens obtenus pour le 2,4-DNT, le 2,4,6-TNT, le 2,6-DNT et le Ty sont supérieurs à 80 % sur MIS pour cet échantillon complexe. Ils sont donc similaires à ceux obtenus en milieu pur ce qui témoigne de l'absence d'effets de matrice. En ce qui concerne, les rendements d'extraction des nitrobenzènes, ils sont de l'ordre de 10 %, il est donc possible qu'ils subissent des effets de matrice mais ces

composés n'étaient déjà que faiblement retenus sur le MIS en milieu pur avec des rendements compris d'environ 25 %. La comparaison avec le support Oasis HLB montre que les rendements sur MIS sont un peu inférieurs à ceux obtenus avec ce support pour les nitroaromatiques mais ils restent tout à fait satisfaisants. Il est donc maintenant nécessaire de vérifier que l'apport en sélectivité du MIS permet l'identification des analytes à l'état de traces.

Pour cela, un échantillon simulé a ensuite été préparé, en frottant avec un coton imbibé d'un mélange eau/MeOH (50/50, v/v), le réservoir d'huile d'une voiture. La matrice a ensuite été extraite du coton par immersion dans 10 mL du mélange eau/MeOH (50/50, v/v) pendant environ 15 min puis l'extrait a été dopé avec 3,3 ng/mL de 2,4,6-TNT, de 2,6-DNT, de 1,3-DNB et de 1,3,5-TNB et de 16,7 ng/mL de 2,4-DNT puis dilué avec de l'eau pour obtenir 50 mL d'extrait avec une teneur en MeOH n'excédant pas 10 %. Ces concentrations ont été choisies compte-tenu de la sensibilité de la méthode en LC/UV mais également pour se trouver dans des quantités proches de celles réellement retrouvées dans les échantillons réels.

La purification de l'échantillon a donc été réalisée sur le MIS 1/4/20 et sur Oasis HLB en appliquant les procédures décrites en annexe 8 puis les éluats ont été évaporés à sec et repris dans 300 µL d'eau/MeOH (50/50, v/v). Les chromatogrammes des fractions d'élution après analyse en LC/UV et en LC/MS sont présentés Figure IV. 22.

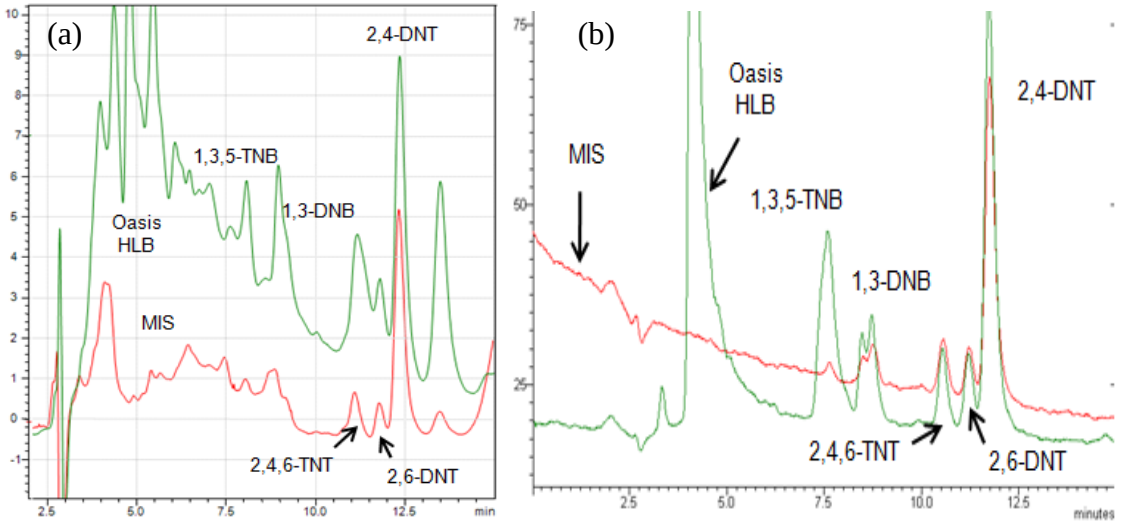


Figure IV. 22 : Chromatogrammes des fractions d'élution obtenus après extraction d'un échantillon simulé contenant de l'huile de moteur et injection (a) en LC/UV (247 nm) et (b) en LC/MS (rouge : MIS 1/4/20, vert : support polymérique d'Oasis HLB, conditions d'analyses en LC/UV décrites en annexe 4, en LC/MS décrites en annexe 5, conditions d'extraction présentées en annexe 8).

Les chromatogrammes obtenus en LC/UV montrent que le MIS permet d'obtenir une meilleure purification que l'Oasis HLB ce qui se traduit par une nette diminution de la quantité d'interférents dans la fraction d'élution. Il apparait que le 1,3,5-TNB et le 1,3-DNB ne sont pas visibles après extraction sur le MIS dû à leurs faibles rendements d'extraction mais les nombreux interférents présents après extraction sur Oasis HLB ne permettent pas non plus leur identification. Pour les autres composés (2,4,6-TNT, 2,4-DNT et 2,6-DNT), l'identification et la quantification est beaucoup plus aisée grâce à la sélectivité apportée par le MIS lors de l'extraction.

L'analyse en LC/MS des fractions d'élution en mode SIM (extraction des ions ciblés) permet de nouveau de mettre en évidence les performances du MIS. En effet, des interférents de même rapport masse sur charge que les composés ciblés sont présents après extraction sur Oasis HLB alors qu'ils ont été éliminés pour la grande majorité après extraction sur le MIS ce qui limite les phénomènes de suppression d'ions déjà mis en évidence pour ce type d'échantillon par R. Tachon avec l'utilisation des supports conventionnels, pour une quantification plus précise.

Les rendements d'extraction obtenus pour le 2,4,6-TNT, le 2,4-DNT et le 2,6-DNT à faibles concentrations sont supérieurs à 80 %. Ces rendements sont similaires à ceux obtenus en milieu pur ce qui permet de montrer qu'il n'y a pas d'effets de matrice après l'extraction sur MIS. Ces rendements sont légèrement inférieurs à ceux obtenus grâce au support conventionnel mais le MIS apporte une meilleure purification.

IV. 4. 5. 4. *Purification sélective d'un extrait contenant du sang humain post-mortem*

Les attaques à la bombe font certaines fois des victimes ou des blessés graves sur lesquels il est nécessaire de faire des prélèvements, c'est pourquoi une simulation de vêtement ensanglanté a été réalisée. Pour cela, du sang humain post-mortem (fourni par Toxlab) a été déposé sur une pièce de coton et laissé sécher à l'air pendant une nuit. Ensuite, le sang a été extrait avec 20 mL d'eau/MeOH (50/50, v/v) sous ultrasons et 10 mL de l'extrait a été dopé par 3,3 ng/mL de 2,4-DNT, de 2,4,6-TNT, de 2,6-DNT, de 1,3-DNB et de 1,3,5-TNB et dilué avec de l'eau pour obtenir 50 mL d'échantillon avec une teneur en MeOH n'excédant pas 10 %. L'extraction de l'échantillon a été réalisée sur MIS et sur Oasis HLB en appliquant les procédures décrites en annexe 8 puis les

éluats ont été évaporés à sec et repris dans 300 µL d'eau/MeOH (50/50, v/v). Les chromatogrammes résultant des fractions d'élution après injection en LC/UV et en LC/MS sont présentés Figure IV. 23.

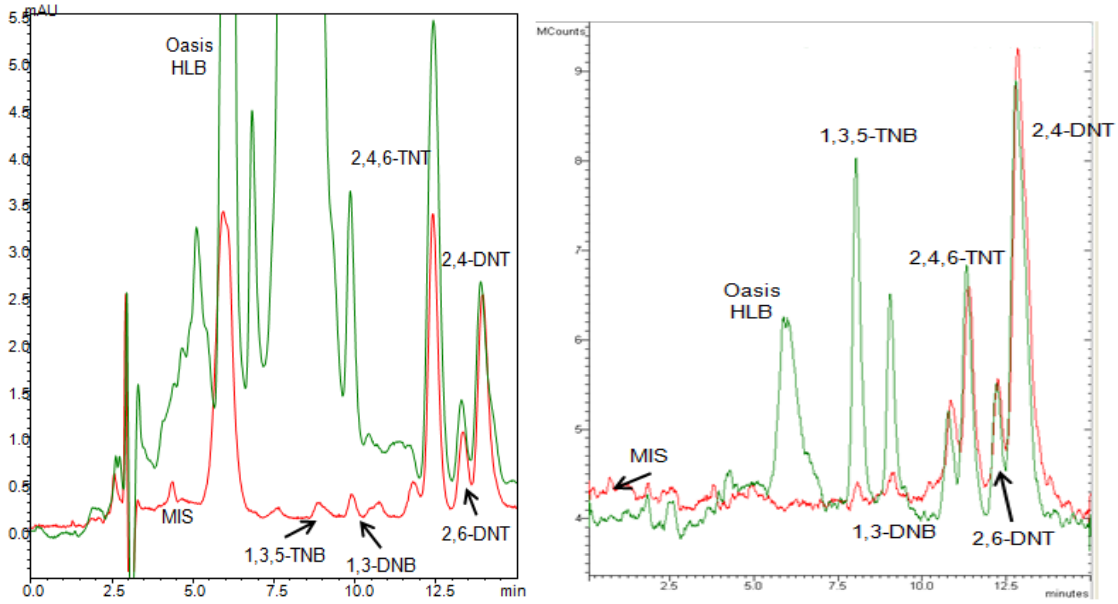


Figure IV. 23 : Chromatogrammes des fractions d'élution obtenues après extraction d'un échantillon simulé contenant du sang humain post-mortem et injection (a) en LC/UV (247 nm) et (b) en LC/MS (rouge : MIS 1/4/20, vert : support conventionnel, conditions analytiques décrites en annexe 4 pour la LC/UV, en annexe 5 pour la LC/MS et en annexe 8 pour les procédures d'extraction).

Ce nouvel échantillon complexe contenant du sang humain post-mortem et extrait sur MIS et sur Oasis HLB permet de montrer une fois de plus que le MIS élimine d'avantage d'interférents que lors la procédure d'extraction mise en œuvre sur Oasis HLB. Les nitroaromatiques, fortement retenus sur le MIS sont ainsi plus facilement quantifiable avec l'utilisation de ce support. En effet, l'analyse de la fraction d'élution après extraction sur Oasis HLB en LC/UV présente de très nombreux interférents dont certains sont apparemment coélués avec le 2,4,6-TNT et le 2,4-DNT. Pour illustration, le pic correspondant au temps de rétention du 2,4,6-TNT est bien plus important sur le chromatogramme correspondant à l'utilisation de l'Oasis HLB que sur celui correspondant au MIS. Un épaulement de pic du 2,4-DNT est également observable sur ce chromatogramme. L'analyse en LC/MS en mode SIM met également nettement en évidence l'apport en sélectivité du MIS.

Cette fois encore le 1,3,5-TNB et le 1,3-DNB ne sont que faiblement retenus sur le MIS et sont difficilement détectables. Ces composés sont problématiques car leur

identification en LC/UV est également impossible après extraction sur Oasis HLB puisqu'ils sont co-élués avec un grand nombre d'interférents.

Enfin, les rendements déterminés en LC/UV pour le 2,4,6-TNT, le 2,4-DNT et le 2,6-DNT sont similaires à ceux obtenus en milieu pur puisqu'ils sont compris entre 82 et 91 % ce qui confirme, encore cette fois, l'absence d'effets de matrice après extraction sur MIS. En ce qui concerne l'extraction sur Oasis HLB, il est difficile de quantifier le 2,4,6-TNT et le 2,4-DNT en LC/UV au vu des coélutions et les rendements déterminés grâce à la LC/MS sont compris entre 82 et 99 %.

IV. 4. 5. 5. *Purification sélective d'un extrait issu de l'explosion d'une porte de gymnase*

Un échantillon réel provenant de frottis effectués avec des cotons imbibés de MeOH sur une porte de gymnase après une explosion a pu être récupéré. Une analyse de ces extraits au LCPP avait permis de conclure sans aucune ambigüité que l'explosif utilisé était le 2,4,6-TNT sans utilisation d'utilisation de l'étape de SPE compte-tenu de sa présence en forte concentration. Cet échantillon n'est pas vraiment adapté à notre étude mais c'est le seul échantillon réel qu'il a été possible d'obtenir.

L'extrait a été malgré tout purifié sur les deux supports imprimés (MIS 1/4/20 et 1/4/30) et sur le support conventionnel afin de mettre en évidence l'apport en sélectivité des MIS après extraction aux ultrasons du 2,4,6-TNT des cotons grâce à un mélange eau/MeOH (50/50, v/v), puis d'une dilution avec de l'eau pour obtenir 50 mL d'échantillon n'excédant pas 10 % de MeOH. Cependant, un effet de matrice a été observé sur les deux supports imprimés entraînant une chute des rendements d'extraction de 50 %. Ainsi, une nouvelle procédure d'extraction de l'échantillon a été réalisée sur les MIS 1/4/20 et 1/4/30 en diminuant légèrement la force éluante de la fraction de lavage (20 % d'ACN au lieu de 25 % pour le MIS 1/4/20 et 15 % au lieu de 20 % sur le MIS 1/4/30). Les chromatogrammes correspondant aux différentes fractions d'élution sont présentés Figure IV. 24.

Les rendements d'extraction ainsi obtenus sont similaires pour les MIS 1/4/20, 1/4/30 et pour le support conventionnel. Cependant, l'apport en sélectivité des MIS permet d'obtenir une meilleure ligne de base qui est plus stable et qui présente moins d'interférents. Enfin, la superposition des chromatogrammes du MIS 1/4/20 et du MIS 1/4/30 permet de montrer que leur comportement sont similaires pour cette matrice.

Il est à noter qu'une simple dilution de l'échantillon avant extraction aurait probablement permis d'obtenir les mêmes résultats que la modification de la solution de lavage et qu'en plus, l'utilisation du MIS n'est pas franchement utile dans ces conditions.

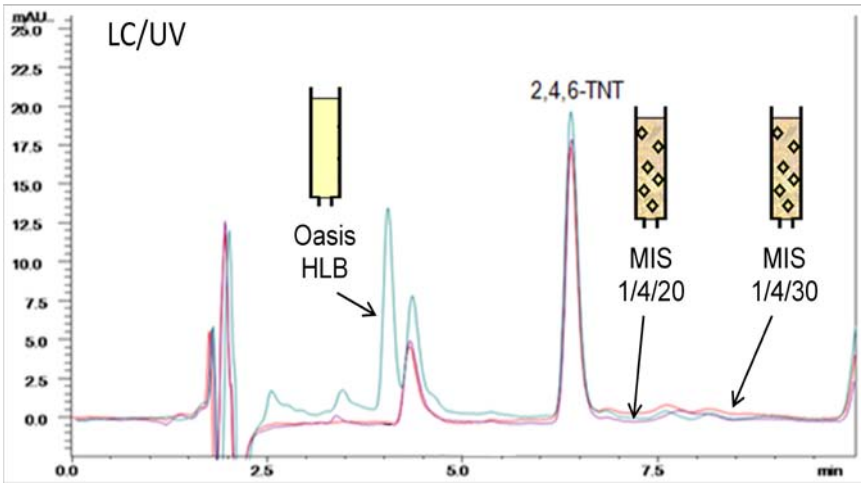


Figure IV. 24 : Chromatogrammes obtenus après injection en LC/UV (228 nm) des fractions d'élution obtenues après extraction sur le MIS 1/4/20, le MIS 1/4/30 et l'Oasis HLB d'un échantillon réel contenant le 2,4,6-TNT (conditions d'extraction décrites en annexe 8 et conditions analytiques décrites en annexe 4 avec utilisation de la colonne JSphère H80).

IV. 4. 6. Conclusion

L'optimisation de la synthèse des supports imprimés par la modification du ratio molaire des réactifs a permis de mettre en évidence les réelles performances des MIS 1/4/20 et 1/4/30 pour l'extraction sélective de composés nitroaromatiques. Ainsi, l'utilisation du 2,4-DNT comme template et du PTMS comme monomère fonctionnel et l'augmentation de la quantité de silanes (PTMS et TEOS) par un facteur quatre avec le MIS 1/4/20 a permis la formation de cavités sélectives pour l'extraction du 2,4-DNT, du 2,6-DNT, du 2,4,6-TNT et du tétryl avec des rendements supérieurs à 79 % alors que les rendements sur le NIS correspondant sont inférieurs à 30 %. L'augmentation de la quantité d'agent réticulant pour obtenir le MIS 1/4/30 permet, quant à elle, d'améliorer la rétention et la sélectivité avec des rendements d'extraction supérieurs à 88 % pour les mêmes explosifs nitroaromatiques tout en réduisant la proportion d'interactions non spécifiques avec des rendements sur NIS inférieurs à 10 %.

La capacité déterminée pour ces deux supports est supérieure à 3,2 mg/g de support. Elle est donc très élevée et permet d'envisager la miniaturisation de la

technique d'extraction pour l'utilisation possible d'une quantité de support très faible avec un nombre de cavités important. L'application de ces supports à des matrices complexes a également permis de montrer le grand apport en sélectivité de ces supports comparés aux résultats obtenus en utilisant des supports conventionnels.

Les MIS 1/4/20 et 1/4/30 présentent donc tous les deux un potentiel important pour être utilisés par la suite en routine. Cependant, la rétention un peu supérieure du MIS 1/4/30 a conduit à le conserver pour l'étude de la rétention des nitramines et des esters nitrés, autres composés ciblés lors de l'analyse des échantillons post-attentats.

IV. 5. Potentiel des supports imprimés pour l'extraction sélective des nitramines et des esters nitrés

IV. 5. 1. Extraction des nitramines

IV. 5. 1. 1. *Extraction des nitramines par le MIS 1/4/30*

La procédure d'extraction optimisée, décrite en annexe 8, pour les explosifs nitroaromatiques a été directement appliquée à l'extraction du RDX et du HMX sur le MIS 1/4/30. Les deux composés sont bien retenus pendant l'étape percolation mais totalement élués lors de l'étape de lavage avec 1,5 mL de la solution d'eau/ACN (80/20, v/v) aussi bien sur le MIS que sur le NIS. Ce manque de rétention peut s'expliquer par leur structure et leur polarité. En effet, ces deux composés sont des hétérocycles plus volumineux que la molécule empreinte (structures présentés en annexe 1) ce qui défavorise l'accès aux cavités spécifiques. De plus, ces nitramines sont plus polaires (log P de 0,82 pour le HMX et de 0,87 pour le RDX) que les nitroaromatiques ce qui ne permet pas le développement d'interactions hydrophobes suffisamment fortes. La procédure d'extraction a également été réalisée en fractionnant l'étape de lavage en trois fractions de 500 µL ce qui a permis d'observer que la quasi-totalité du HMX et du RDX est récupérée dans le premier millilitre de lavage.

Au final, les nitramines ne pourront être extrait par le MIS 1/4/30 mais leur récupération dans la fraction de lavage permet d'envisager la possibilité de collecter cette fraction pour une purification supplémentaire avec un autre type de support.

IV. 5. 1. 2. *Evaluation d'un support spécifique aux nitramines*

Un autre support imprimé à base de silice a été synthétisé dans des conditions similaires à celle utilisées pour la synthèse du MIS 1/4/30 mais en utilisant le HMX comme molécule empreinte. L'objectif était alors de former des cavités accessibles à ces hétérocycles pour le développement d'interactions hydrophobes. Ces composés étant plus polaires que les nitroaromatiques, il sera donc plus délicat de les retenir grâce à ce type d'interactions mais le développement de liaisons polaires parait tout aussi compromis puisque les seuls groupements disponibles sont des groupements nitros pour lesquels de nombreuses synthèses n'ont pas permis le développement de cavités rétentives. Une procédure d'extraction composée de deux lavages de force éluante croissante a été appliquée et le profil d'élution ainsi obtenu est représenté Figure IV. 25.

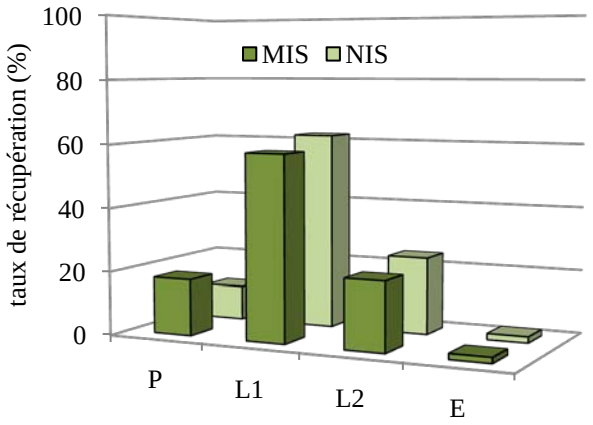


Figure IV. 25 : Profil d'extraction obtenu avec le MIS^{HMX} et le NIS^{HMX} ; P : 1 mL d'eau/MeOH (90/10, v/v) dopé avec le HMX (500 ng), L1 : 1 mL d'eau/ACN (90/10, v/v), L2 : 1 mL d'eau/ACN (80/20, v/v) et E : 1 mL d'ACN.

Malheureusement, une très faible rétention du HMX sur le MIS a été observée puisqu'il est élué dès la percolation (environ 15 %) et le reste est élué dans les deux fractions de lavage. De plus, la rétention sur le NIS est similaire ce qui montre une absence de sélectivité et donc de cavités spécifiques. Au vu des résultats obtenus pour le HMX, le RDX n'a pas été testé sur ce support.

Ces résultats permettent de penser que les interactions hydrophobes ne sont pas suffisamment fortes entre le PTMS et le HMX pour obtenir des cavités exploitables dans le cadre d'une extraction sur phase solide. Cependant, la conception d'un autre

support qui soit sélectif vis-à-vis du RDX et du HMX parait difficile au vue de la structure de ces composés.

IV. 5. 2. Extraction des esters nitrés

L'extraction des esters nitrés (NG et PETN) a également été réalisée en employant le MIS 1/4/30 comme support de SPE avec la procédure optimisée pour les nitroaromatiques et a permis d'obtenir les histogrammes présentés Figure IV. 26.

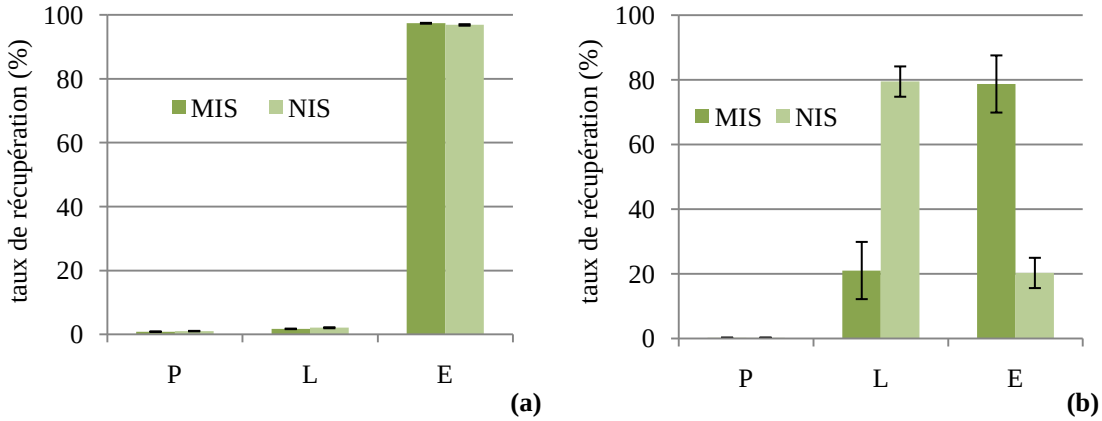


Figure IV. 26 : Profils d'élution avec le MIS 1/4/30 et le NIS correspondant ; P : 1 mL d'eau/MeOH (90/10, v/v) dopé avec 2,5 µg de (a) PETN et (b) NG, L : 1,5 mL d'eau/ACN (80/20, v/v) et E : 1 mL d'ACN (n = 3).

Le profil de la Figure IV. 26 (a) correspondant à l'extraction du PETN montre que celui-ci est retenu jusqu'à l'élution aussi bien sur le MIS que sur le NIS. Ce manque de sélectivité s'explique par la forte hydrophobie du composé (log P = 2,38). Ce dernier est donc retenu mais par interactions hydrophobes non spécifiques. En revanche, ce résultat indique qu'il doit être envisageable de récupérer le PETN dans la fraction d'élution pour pouvoir l'analyser en même temps que les nitroaromatiques.

En ce qui concerne la NG qui est présentée Figure IV. 26 (b), le MIS permet également de la retenir en grande partie jusqu'à l'élution avec un taux de récupération moyen dans cette fraction proche de 80 %. La comparaison avec le NIS permet de montrer que ce composé est en plus retenu sur le MIS grâce à la présence des cavités spécifiques puisque le taux de récupération moyen à l'élution sur le NIS atteint seulement 20 %. Cette sélectivité peut s'expliquer par la taille de la molécule qui lui

permet d'entrer facilement dans les cavités. De plus, la NG a un log P similaire à celui du 2,4,6-TNT ce qui implique un comportement similaire en terme de rétention.

Le MIS permet donc la rétention sélective de la NG et la rétention non spécifique du PETN en plus des nitroaromatiques déjà retenus.

IV. 6. Conclusion

Le développement de supports imprimés synthétisés par voie sol-gel a permis d'obtenir pour la première fois des supports sélectifs vis-à-vis de plusieurs explosifs nitroaromatiques simultanément et utilisables pour la purification et la préconcentration d'échantillons complexes.

Ainsi, des supports sélectifs à base de silice ont pu être obtenus avec le 2,4-DNT comme molécule empreinte et le PTMS comme agent réticulant dans le but de former des interactions hydrophobes et de type π-π au sein des cavités. L'étude de l'influence du ratio molaire *template*/monomère/agent réticulant a permis de distinguer deux supports à fort potentiel, présentant une grande sélectivité et une grande capacité. Ainsi, le 2,4-DNT, le 2,4,6-TNT, le 2,6-DNT et le tétryl ont pu être simultanément extraits à la fois en milieu pur mais également en milieu complexe avec des rendements d'extraction supérieurs à 80 %.

De plus, ce type de support permet une forte rétention du PETN et la rétention sélective de la NG. Il est donc capable de retenir les nitroaromatiques et les esters nitrés ciblés et pourra être utilisé lorsque ces composés sont suspectés d'être présent dans un échantillon réel.

Enfin, il est envisageable d'utiliser les MIS dans des systèmes miniaturisés compte-tenu de la capacité importante déterminée pour les deux derniers supports étudiés (MIS 1/4/20 et MIS 1/430).

Chapitre V
Miniaturisation des différents outils analytiques et identification rapide des explosifs nitrés

V. 1. Introduction

Dans le chapitre précédent, plusieurs MIS sélectifs ont été obtenus et le MIS 1/4/30 a retenu d'avantage notre attention compte-tenu de ses performances en terme de rétention et de sélectivité. Ce support a été jusqu'à maintenant étudié en format cartouche. Cependant, ce MIS présente également une très grande capacité puisqu'elle est supérieure à 3,2 mg/g de support ce qui permet d'envisager la miniaturisation de l'outil d'extraction en vue de répondre à une réelle demande pour le développement de méthodes d'identification des nitroaromatiques applicables directement sur le terrain. Ainsi, dans un premier temps, une procédure d'extraction en ligne reposant sur l'utilisation du MIS 1/4/30 a été développée afin de réduire la quantité de support utilisée et de développer une procédure totalement automatisable. Ensuite, un système miniaturisé et transportable a été envisagé pour permettre un diagnostic de terrain post-attentat. Pour cela, une détection électrochimique sur puce a été optimisée.

V. 2. Extraction en ligne des nitroaromatiques

V. 2. 1. Objectifs

Dans un montage en ligne le support SPE est contenu dans une précolonne connectée au système analytique. Ainsi, avec ce système, l'élution des analytes du support de SPE est effectuée directement par la phase mobile pour être transférés dans la colonne analytique qui effectue la séparation. Ainsi, la totalité des analytes retenus sur le support lors des étapes de percolation et de lavage est analysée. Ce montage permet donc d'augmenter la sensibilité pour un volume d'échantillon donné par rapport à l'analyse en différé. Or pour effectuer le montage en ligne, le MIS 1/4/30 est introduit dans une précolonne entraînant une diminution de la quantité de support, qui est estimée à 8 mg, par rapport aux cartouches utilisées précédemment qui contenaient 50 mg.

Cependant, cela ne pose pas de problème compte-tenu de sa capacité élevée. Il est ainsi possible d'obtenir une méthode sensible en diminuant la quantité de support imprimé et les volumes de solvants employés.

V. 2. 2. Dispositif expérimental

Le montage en ligne est réalisé à l'aide d'une précolonne de dimension 20 x 1 mm remplie avec le MIS 1/4/30 et installée sur une vanne six voies. Cette vanne permet de raccorder le MIS à une pompe de préconcentration qui délivre l'échantillon et le solvant de lavage en mode chargement et à la pompe analytique pour délivrer la phase mobile, en mode injection. Ainsi, la phase mobile sert de solvant d'élution et entraîne les composés fixés lors de la préconcentration sur le MIS vers la colonne analytique. Le montage est décrit Figure V. 1.

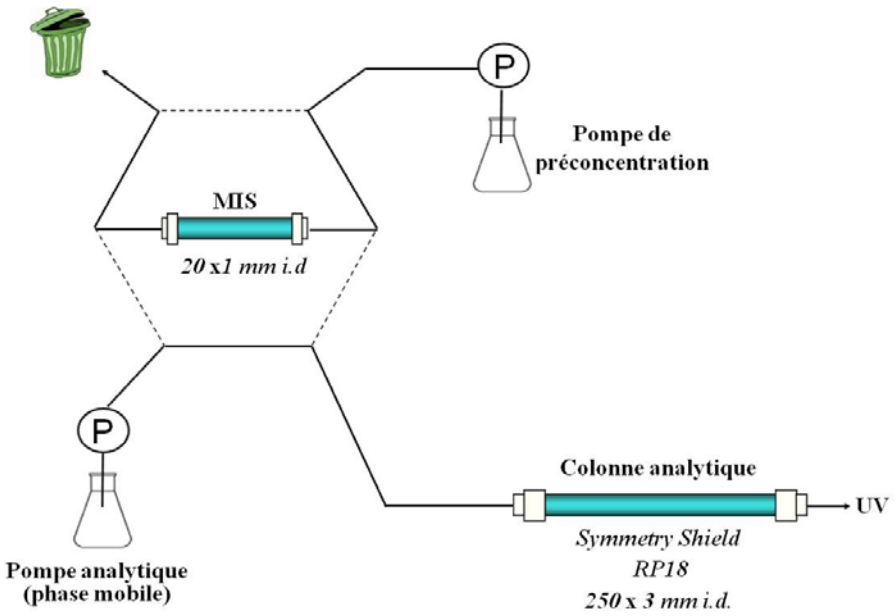


Figure V. 1. : Schéma du montage en ligne.

Le montage est réalisé en mode rétrobalayage (ou back-flush) de manière à ce que la préconcentration et l'élution ne soient pas effectuées dans le même sens. Ce mode de rétrobalayage permet de limiter l'élargissement de la bande de soluté lors du transfert de ceux-ci vers la colonne analytique et de limiter ainsi une perte en efficacité au niveau de la séparation chromatographique. L'analyse chromatographique est alors réalisée dans les mêmes conditions que pour l'extraction en différé avec la colonne

Symmetry Shield RP18 (250 x 3 mm, 5 µm, Waters) et une phase mobile composée d'eau/MeOH (40/60, v/v) en mode isocratique. L'ensemble des paramètres chromatographiques est rappelé en annexe 4.

V. 2. 3. Développement de la procédure en ligne en milieu pur

V. 2. 3. 1. *Etude préliminaire*

Le développement de la procédure d'extraction en ligne est basée sur la procédure d'extraction en différé précédemment développée avec le MIS 1/4/30 pour 50 mg de support. La quantité de MIS dans le support étant estimée à 8 mg, les volumes des solutions de lavage et d'élution ont donc été diminués proportionnellement à la quantité de MIS (soit d'environ un facteur 6). La procédure a donc consisté à percoler 1 mL d'eau/MeOH (90/10, v/v) dopé avec 200 ng/mL de 2,4-DNT et de 2,4,6-TNT suivi d'un lavage par 250 µL d'eau/ACN (80/20, v/v). Dans un premier temps, le montage illustré Figure V. 1 a été utilisé en collectant toutes les fractions de cette procédure d'extraction puis en les analysant ensuite par LC/UV. Ainsi, une fraction d'ACN (200 µL) a remplacé l'élution par la phase mobile utilisée lorsque l'on procède intégralement en ligne. De plus, les capillaires ont été purgés entre chaque étape de l'extraction pour limiter au maximum les volumes morts et maîtriser ainsi les volumes percolés. Cette approche, permettant de vérifier le comportement du MIS, a conduit aux profils d'élution présentés Figure V. 2.

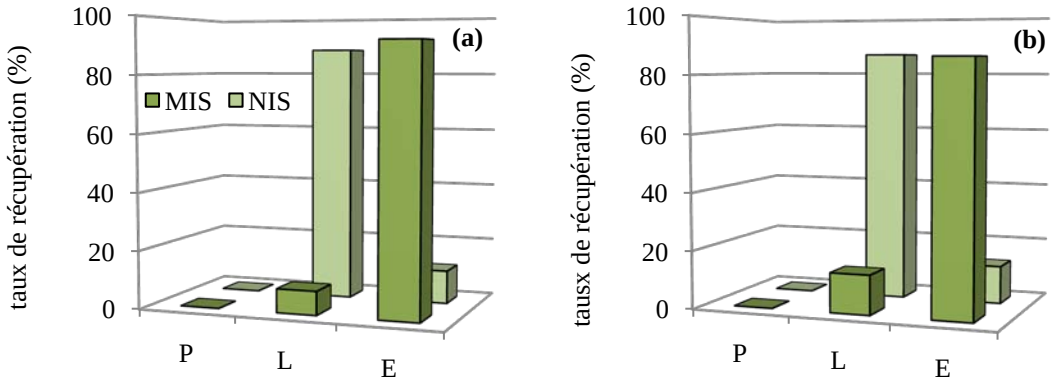


Figure V. 2 : Profils d'élution obtenus avec des précolonnes de MIS et de NIS 1/4/30 ; P : 1 mL d'eau/MeOH (90/10) dopé avec 200 ng de (a) 2,4-DNT et de (b) 2,4,6-TNT, L : 250 µL d'eau/ACN (80/20), E : 200 µL d'ACN.

Ces profils confirment la forte rétention et la sélectivité du MIS avec l'obtention de rendements sur MIS et sur NIS similaires à ceux obtenus sur cartouches pour les deux composés ciblés. Le protocole s'avère donc correctement adapté à la quantité de MIS contenue dans la précolonne et ces premiers résultats témoignent de la possibilité de développer une extraction en ligne en connectant la précolonne de MIS à la colonne analytique.

V. 2. 3. 2. *Evaluation du couplage en ligne*

Si cette étude préliminaire a permis de montrer la sélectivité du support lorsque la procédure d'extraction sur cartouche est adaptée à la nouvelle quantité de phase, il est maintenant nécessaire de procéder à l'optimisation de la procédure en ligne qui ne peut être réalisé en routine en procédant à des purges entre chaque étape. De plus, il convient de vérifier le pouvoir éluant de la phase mobile qui doit assurer le transfert des composés vers la colonne analytique. Il est du reste important de noter que la phase mobile est composée de 60 % de MeOH soit une composition peu éluante pour le MIS, au regard des résultats obtenus sur le MIS 1/1/5 (cf Figure IV. 6) pourtant moins rétentif que le MIS 1/4/30. Ainsi, pour évaluer le couplage en ligne, une extraction a été réalisée en percolant 1 mL d'eau/MeOH (90/10, v/v) dopé avec 5 ng/L de 2,4-DNT, de 2,6-DNT, de 2,4,6-TNT et de tétryl et 20 ng/L de 1,3,5-TNB et 1,3-DNB. Ces concentrations ont été déterminées en fonction des rendements d'extraction obtenus dans le chapitre précédent et des limites de quantification des différents composés de sorte à pouvoir quantifier l'ensemble des composés dont les nitrobenzènes faiblement retenus. L'étape de lavage de l'étude préliminaire a, dans un premier temps, été conservée soit 250 µL d'eau/ACN (80/20, v/v) et l'élution a été réalisée en basculant la vanne en mode injection. Ce même protocole a été appliqué sur le NIS correspondant. Les chromatogrammes obtenus après la procédure sur le MIS et sur le NIS sont présentés Figure V. 3.

Tout d'abord, il apparait clairement sur les chromatogrammes que le lavage n'est pas assez éluant dans ces conditions puisque les nitroaromatiques sont retenus sur le NIS avec des aires de pics importantes correspondant à des rendements compris entre 7 et 70 %. De plus, un rendement plus élevés des nitrobenzènes est également obtenu sur le MIS ce qui tend à confirmer cette hypothèse. Cela est probablement dû aux volumes

morts du montage maintenant utilisé sans système de purge qui nécessite d'augmenter le volume de l'étape de lavage.

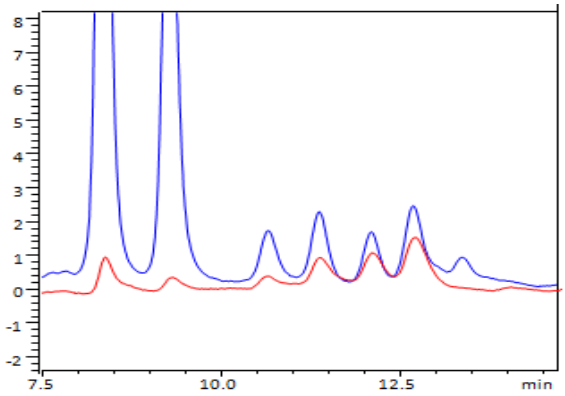


Figure V. 3. : Chromatogrammes LC/UV (247 nm) obtenus après une procédure d'extraction en ligne avec le MIS (en bleu) et avec le NIS (en rouge) ; P : 1 mL d'eau/MeOH (90/10, v/v) dopé avec 20 ng de 1,3,5-TNB et de 1,3-DNB et 5 ng de 2,4-DNT, de 2,6-DNT, de 2,4,6-TNT et de tétryl, L : 250 µL d'eau/ACN (80/20, v/v) et E : phase mobile (eau/MeOH, 40/60, v/v).

Finalement, après plusieurs extractions avec des volumes de solution de lavage croissants, celui-ci a été fixé à 400 µL car il permet à la fois de conserver la rétention des nitrotoluènes sur le MIS et l'élution de ceux-ci sur le NIS. Le protocole ainsi optimisé est décrit dans le Tableau V. 1.

Tableau V. 1. : Procédure d'extraction en ligne.

fraction	solution
Percolation	1 mL d'eau/MeOH (90/1, v/v)
Lavage	400 µL d'eau/ACN (80/20, v/v)
Elution	Phase mobile : eau/MeOH (38/62, v/v)

La Figure V. 4 présente les chromatogrammes résultant de l'application de ce protocole sur MIS et sur NIS. Dans ces conditions, la différence entre les aires des pics du chromatogramme correspondant au MIS et de celui du NIS est visiblement importante ce qui permet de montrer la sélectivité de la procédure optimisée.

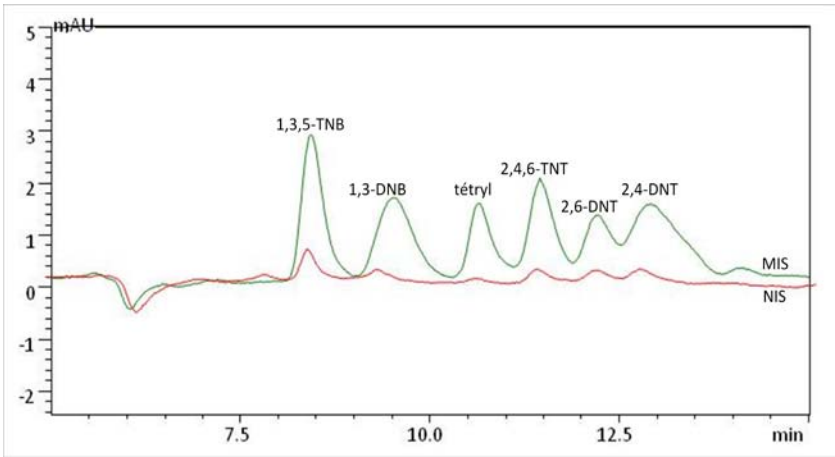


Figure V. 4. : Chromatogrammes LC/UV (247 nm) obtenus après une procédure d'extraction en ligne avec le MIS (en vert) et avec le NIS (en rouge) décrite dans le Tableau V. 1.

Cependant, quel que soit le volume de lavage appliqué, il apparaît un élargissement des pics chromatographiques dû à une diminution de l'efficacité avec environ 2000 plateaux théoriques pour le 2,4-DNT lorsque ce volume élevé (400 µL) est utilisé lors du lavage alors qu'environ 4000 plateaux théoriques sont obtenus sans lavage, nombre de plateaux qui est du reste proche de celui obtenu lors d'une injection directe. Ce constat est probablement dû à l'emploi d'un volume important d'une solution de lavage composée d'eau/ACN (80/20, v/v) entraînant un phénomène d'élargissement de bande conséquent qui ne peut être totalement compensé par une phase mobile peu éluante car composée d'un mélange eau/MeOH (38/62, v/v). Il est important de noter que le pourcentage de MeOH a été augmenté de 2 % (62 % au lieu de 60 %) pour faire face à ce problème. Cette petite modification par rapport à la phase mobile utilisée en différé (eau/MeOH, 40/60, v/v) a permis d'améliorer un peu l'efficacité de la séparation mais il n'est pas possible de modifier d'avantage la teneur en MeOH de la phase mobile comme cela a été mentionné dans le chapitre III lors du développement de la séparation car on perd alors en résolution pour les isomères de position du DNT. Une alternative consisterait à utiliser la colonne C18 haute densité JSphère H80, YMC) présentée au chapitre III ou bien une colonne de PGC qui autorise des teneurs en solvant plus importantes mais celle-ci présente une faible efficacité pour le 2,4,6-TNT et le 2,4-DNT (cf Figure III. 1). Ainsi, il a été considéré que les conditions optimisées seraient conservées par la suite malgré l'élargissement important du pic du 2,4-DNT diminuant du même temps la résolution entre les isomères.

V. 2. 3. 3. *Performances de la méthode*

Pour évaluer la répétabilité du système, la procédure d'extraction a été répétée à trois reprises avec une solution contenant les six composés nitroaromatiques ciblés, à une concentration de 5 ng/mL pour les à nitrotoluènes et 20 ng/mL pour les nitrobenzènes, en utilisant le MIS et le NIS pour déterminer les rendements d'extraction moyens après quantification de chacun des nitroaromatiques, représentés Figure V. 5.

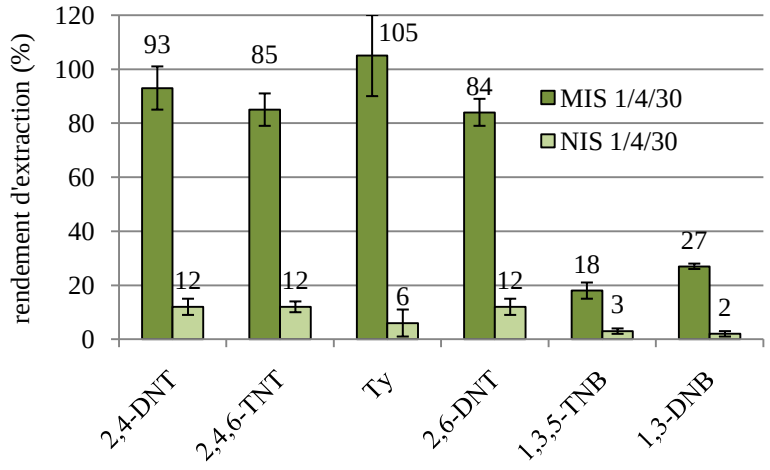


Figure V. 5 : Rendements d'extraction obtenus grâce à la procédure en ligne décrite dans le Tableau V. 1 (n = 3).

Ces résultats confirment la rétention sélective des nitroaromatiques avec une grande sélectivité vis-à-vis du 2,4-DNT, du 2,4,6-TNT, du tétryl et du 2,6-DNT puisque des rendements d'extraction supérieurs à 84 % ont été observés sur le MIS tandis que sur le NIS des rendements inférieurs à 12 % ont été obtenus. Comme attendu, le 1,3,5-TNB et le 1,3-DNB sont très faiblement retenus avec seulement 18 % et 27 % de rendements d'extraction, pourtant de la sélectivité a été obtenue avec seulement 3 % de rendements d'extraction sur le NIS. Enfin, la répétabilité satisfaisante de la procédure est également remarquable car les écart-types sont inférieurs à 8 % pour l'ensemble des composés mis à part le tétryl avec un écart-type qui atteint les 15 %.

Cette procédure en ligne a été appliquée après une percolation de 5 ng des nitroaromatiques les mieux retenus alors que lors de la procédure en différé, 500 ng de ces composés étaient percolés lorsqu'aucune évaporation n'était effectuée, ce qui reflète le gain en sensibilité de cette nouvelle procédure. De plus, elle a également permis de diminuer la quantité de phase par un facteur six environ. De plus, les LDQ ont été

déterminées pour cette procédure en ligne, pour un rapport signal sur bruit égal à 10, et sont comprises entre 1,5 et 2,5 µg/L pour les nitrotoluènes et sont de 2,8 et 8 µg/L pour les nitrobenzènes.

Compte-tenu de ces résultats, la même procédure a été évaluée en milieu complexe pour l'extraction en ligne des nitroaromatiques.

V. 2. 4. Extraction en ligne des nitroaromatiques en milieu complexe

Comme évoqué au cours des précédents chapitres, les matrices susceptibles de contenir des traces d'explosifs sont très diverses. Pour cette application, il a été choisi de prendre des billets de banque qui constituent des échantillons très complexes notamment par la présence de colorants. Ainsi, des frottis ont été effectués avec des cotons sur plusieurs dizaines de billets de banque. Ces cotons sont ensuite introduits dans un mélange eau/MeOH (50/50, v/v) placés aux ultrasons et dont 10 mL ont été prélevés, dopés à 5 ng/mL pour les nitrotoluènes et à 20 ng/mL pour les nitrobenzènes, comme précédemment, puis dilué pour obtenir 50 mL d'échantillon. 1 mL de cet échantillon a ensuite été percolé sur la précolonne de MIS en appliquant la procédure d'extraction en ligne décrite au Tableau V. 1. Le chromatogramme résultant est présenté Figure V. 6 et est comparé à celui obtenu après extraction sans étape de lavage.

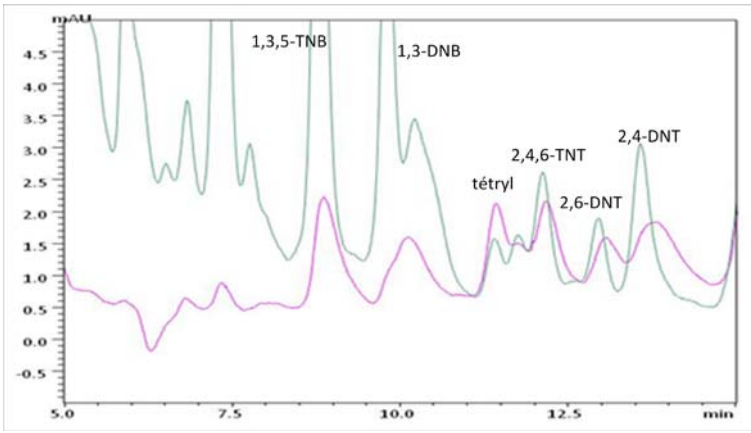


Figure V. 6 : Chromatogrammes (247 nm) obtenus à partir de l'extraction en ligne, décrite dans le Tableau V. 1, d'un échantillon complexe dopé avec les explosifs avec application de l'étape de lavage (en rose) et sans cette étape (en vert).

Il apparait clairement que l'application de l'étape de lavage est indispensable pour éliminer un grand nombre d'interférents. Cependant, un interférent est toujours présent entre le tétryl et le 2,4,6-TNT qui peuvent malgré tout être identifiés mais ce qui rend plus difficile la quantification. La comparaison avec un chromatogramme obtenu dans les mêmes conditions après percolation d'une solution pure à la même concentration permet d'estimer si les rendements d'extractions sont comparables. Ainsi, ces derniers ont été déterminés pour cet échantillon complexe et ils sont compris entre 84 et 88 % pour les quatre nitroaromatiques fortement retenus et de 18 et 27 % pour le 1,3,5-TNB et le 1,3-DNB respectivement. Ils sont donc similaires à ceux obtenus en milieu pur ce qui permet de montrer qu'il n'y a pas d'effets de matrice. L'utilisation de la spectrométrie de masse comme outils de détection permettrait ici une quantification plus aisée. De plus, la réduction de la matrice grâce à l'extraction sur MIS permettra de limiter les effets de suppression ou d'exaltation du signal.

La procédure en ligne a donc été développée avec succès et elle permet de diminuer les quantités percolées par rapport à la procédure en différé tout en obtenant un gain en sensibilité. En effet, en différé, 20 µL d'échantillon était injecté dans le système analytique après extraction sur 50 mg de MIS alors qu'en ligne la totalité de l'échantillon (1 mL dans l'étude) est injecté après extraction sur 8 mg de MIS.

V. 2. 5. Conclusion

Le développement d'une procédure en ligne avec le MIS 1/4/30 a montré que la procédure d'extraction en différé était directement transposable pour obtenir une procédure d'extraction sélective en ligne. Des rendements d'extraction similaires ont ainsi pu être obtenus avec un gain en sensibilité d'un facteur cinquante grâce à l'injection de la totalité des nitroaromatiques retenus sur le MIS qui sont séparés puis détectés. Ces bons résultats ont été obtenus malgré la perte en efficacité de la séparation chromatographique. Il serait envisageable d'augmenter le pourcentage en solvant organique de la phase mobile en utilisant une autre colonne chromatographique et ainsi gagner en efficacité.

Néanmoins, cette méthode permet également une analyse automatisée des échantillons pour un gain en temps et en main d'œuvre. Le risque de contamination et d'erreur est également réduit par rapport à l'analyse en différé. Cependant, cette

procédure reste difficilement applicable sur le terrain car elle demande un appareillage conséquent et spécifique. Elle offre, en fait, une alternative analytique pour le laboratoire avec la possibilité d'utiliser uniquement une petite partie de l'échantillon pour l'identification des nitroaromatiques avec l'emploi d'une quantité réduite de support, grâce au gain en sensibilité. A cet effet, une autre voie a été explorée pour le développement d'outils de terrain permettant d'avoir un premier diagnostic rapide de la composition d'une charge explosive grâce aux prélèvements.

V. 3. Développement d'une méthode d'identification rapide des explosifs nitrés par une détection électrochimique

V. 3. 1. Principe du test diagnostic de terrain envisagé

L'appareillage nécessaire pour réaliser des analyses chromatographiques en phase liquide n'est pas des plus adapté pour des analyses de terrain. Ainsi, nous nous sommes penchés sur d'autres outils qui seraient moins encombrants et permettraient un pré-diagnostic de terrain.

Le développement des MIS présentés dans le chapitre précédent a montré le grand potentiel de ces supports en termes de rétention sélective des composés nitroaromatiques. De plus, la grande capacité du MIS 1/4/30 permet d'envisager de l'utiliser dans un système miniaturisé puisqu'1 mg de support peut retenir au moins 3,2 µg d'analytes. Ainsi, il est possible d'envisager le développement d'un système d'extraction miniaturisé avec le MIS suivi directement d'une détection électrochimique sans séparation préalable.

V. 3. 2. Détection électrochimique des explosifs nitrés

V. 3. 2. 1. *Principe*

La voltampérométrie ou voltammétrie est une méthode d'électroanalyse basée sur une mesure de l'intensité du courant résultant de réactions d'oxydo-réduction des analytes en solution sous l'effet d'une variation contrôlée d'une différence de potentiel entre deux électrodes spécifiques à l'aide d'un potentiostat. En absence d'une réaction électrochimique, seul un courant capacitif est observé. Dès qu'une réaction chimique se

déroule à la surface de l'électrode, le courant augmente. Il passe par un maximum avant d'atteindre un palier. Cette forme particulière s'explique par l'évolution de la concentration de la substance électrochimique active au voisinage de l'électrode. Dans le cas d'une réaction réversible, un courant inverse au retour du balayage de potentiel est obtenu. Si un produit peut atteindre plusieurs degrés d'oxydation, ou s'il y a plusieurs produits présents avec des potentiels rédox différents, le voltammogramme montre plusieurs vagues successives. La Figure V. 7 représente une courbe intensité-potentiel sur laquelle des vagues de réduction et d'oxydation sont visibles.

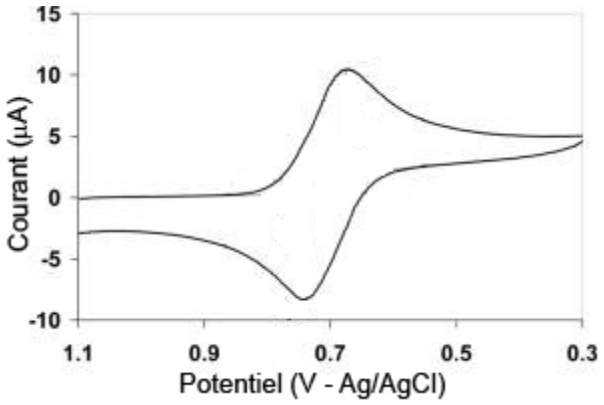


Figure V. 7. : Courbe intensité-potentiel en voltammétrie cyclique.

La détection électrochimique des explosifs nitroaromatiques est tout à fait possible par réduction des fonctions nitro en amine en passant par la formation d'hydroxylamine comme présenté ci-dessous [43, 198-203] :

$$\phi\text{-}NO_2 + 2e^- + 2H^+ \rightarrow \phi\text{-}NO + H_2O$$

$$\phi\text{-}NO + 2e^- + 2H^+ \rightarrow \phi\text{-}NHOH$$

$$\phi\text{-}NHOH + 2e^- + 2H^+ \rightarrow \phi\text{-}NH_2 + H_2O$$

Des vagues de réduction sont alors observées en voltampérométrie cyclique comme l'illustre la Figure V. 8 sur laquelle trois vagues sont observées et qui pourraient correspondre à chacune des réactions de réductions. Cependant, les publications précédentes mentionnent que le nombre de vague observée sur le voltampérogramme dépend du nombre de fonction nitro réduite. En effet, trois vagues sont obtenues lors de la détection du 2,4,6-TNT (Figure V. 8), deux vagues lors de la détection d'un dinitré et une seule pour un composé mononitré [204]. Selon le composé nitroaromatique étudié et les conditions choisies, la réaction de réduction sera plus ou moins facilement réversible. Dans ce cas, une vague d'oxydation peut être visible sur la courbe

correspondant au courant anodique. Dans des conditions particulières, il sera également possible d'obtenir l'oxydation du 2,4,6-TNT lors de l'application d'une variation de potentiel.

En ce qui concerne les nitramines, les fonctions nitro de ces composés peuvent également être réduites en amine par transfert électronique en milieu acide en passant par la formation de N-nitroso [203]. Cependant, ces fonctions nitro sont plus difficiles à réduire que celles des nitroaromatiques car les nitramines sont aliphatiques et ne permettent pas la délocalisation de la charge négative sur le cycle aromatique.

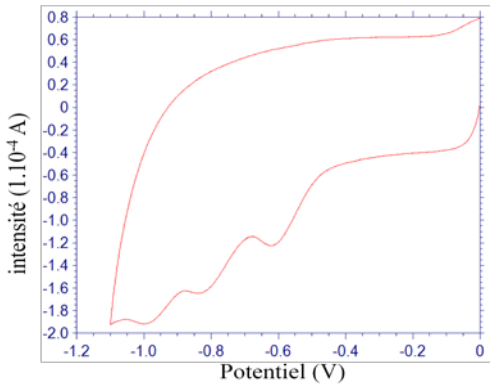


Figure V. 8. : Voltampérogramme du 2,4,6-TNT obtenu par voltammétrie cyclique.

Enfin, les esters nitrés subissent également une réaction de réduction des fonctions nitro en présence d'eau pour donner des fonctions alcools et des ions nitrites [203].

Lors de l'analyse des explosifs nitrés par détection électrochimique, trois types de voltammétrie sont couramment employées : la voltampérométrie linéaire [201-202, 205-206], cyclique [203, 207-211] et à ondes carrées [180, 199-200, 203-204, 206, 212-215].

La *voltammétrie linéaire* consiste à faire varier le potentiel de façon linéaire dans un intervalle de potentiel donné. La variation croissante du potentiel permettra de suivre les réactions d'oxydation et la variation décroissante du potentiel permettra de suivre les réactions de réduction au sein de la solution.

La *voltammétrie cyclique* est quant à elle basée sur la mesure du courant résultant d'un balayage linéaire en potentiel entre une valeur minimum et une valeur maximum pour former un cycle avec un retour au potentiel de départ. La programmation en potentiel est dite triangulaire. Plusieurs cycles consécutifs peuvent

être exécutés, chacun étant représenté par un tracé du courant enregistré en fonction du potentiel appliqué.

La *voltammétrie à onde carrée* (VOC, square wave voltammetry) est basée sur la combinaison d'une modulation d'onde carrée d'amplitude avec une rampe en escalier. Le signal mesuré est la différence entre les courants mesurés à la fin de chaque pulse montant et descendant de l'onde carrée. Le principal avantage de la VOC est qu'elle permet de varier le potentiel à des vitesses beaucoup plus élevées, et ainsi d'améliorer la sensibilité non seulement par une augmentation du rapport courant faradique/courant capacitif mais également par la réduction du temps de mesure.

V. 3. 2. 2. *Formats de détection*

Le tracé de courbe intensité-potentiel nécessite un montage à trois électrodes composé d'une électrode de travail, d'une électrode de référence et d'une contre-électrode. Ce système permet de déterminer le potentiel de l'électrode de travail, site de la réaction de transfert des électrons, par rapport à l'électrode de référence. La contre électrode sert quant à elle à la circulation du courant électrique. Il existe actuellement plusieurs formats de système à trois électrodes. Le plus classique est l'utilisation de trois électrodes distinctes dans une solution électrolytique contenant les analytes. Il est également possible d'utiliser une puce sur laquelle les trois électrodes ont été préalablement imprimées. Ce type d'électrode est maintenant disponible commercialement dans de nombreuses combinaison d'électrodes avec une électrode de travail qui peut-être modifiée en surface. Deux emplois de ces électrodes imprimées sont alors possibles, le premier consiste à plonger l'électrode dans une cellule électrochimique contenant la solution comme en format classique. Il est également possible d'utiliser ces électrodes avec très peu d'électrolyte grâce à l'utilisation d'une interface spécifique reliant directement la puce au potentiostat. Dans ce cas, une seule goutte de solution suffit pour recouvrir les trois électrodes.

Ce type de détection électrochimique sur puce a été conçu pour le diagnostic de terrain. Ce dispositif est présenté Figure V. 9. Comme illustré, la puce est composée d'un système à trois électrodes connectées à un potentiostat portable via une interface. Le potentiostat est équipé du wifi pour récupérer les acquisitions sur un ordinateur portable.

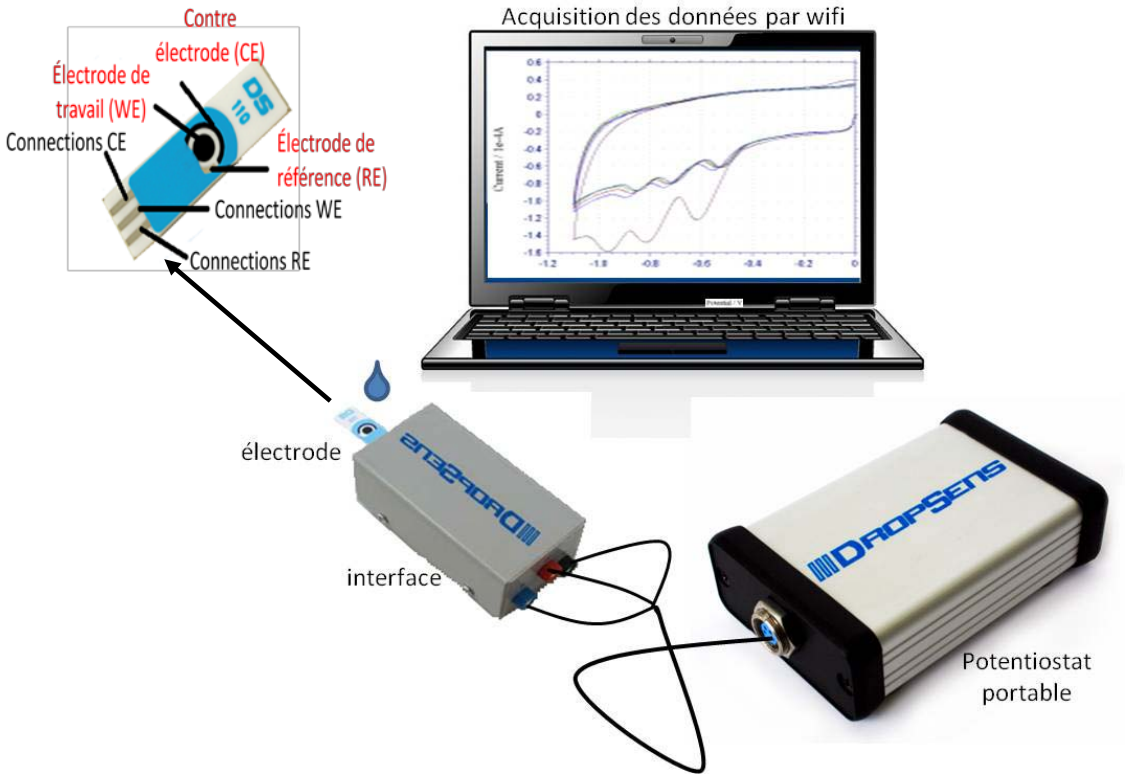


Figure V. 9 : Schéma du dispositif d'analyse sur le terrain par détection électrochimique via une électrode imprimée.

Le mode opératoire est simple et consiste à déposer une goutte de solution contenant l'analyte recouvrant l'ensemble du système d'électrodes à l'aide d'une pipette. Une fois l'acquisition réalisée, les électrodes sont rincées abondamment à l'eau dans le but de nettoyer l'électrode entre chaque dépôt de goutte. Enfin, l'électrode est conservée dans l'eau pure entre les séries d'acquisition.

Ce type de format sera utilisé lors de notre étude en déposant une goutte d'éluat sur la puce. La mise au point de la détection s'est appuyée sur les différentes applications référencées.

V. 3. 2. 3. *Applications*

La détection électrochimique sans séparation préalable a été étudiée à de nombreuses reprises et plus particulièrement ces trois dernières années. Les travaux portent sur le 2,4,6-TNT [180, 199-200, 205, 207-208, 210, 213-214, 216], seul dans la plupart des cas, ou associés à quelques nitroaromatiques tels que les DNT, le 1,3,5-

TNB, le 1,3-DNB ou le 3-NT [201-202, 204, 206, 211, 215]. Dans deux autres études des nitramines ont également été ciblés [212, 217] mais une seule étude porte sur la détection électrochimique des composés appartenant aux trois familles d'explosifs nitrés en incluant les esters nitrés [203].

Le Tableau V. 2 résume les conditions des détections électrochimiques utilisées dans ces différents travaux. Il permet de confirmer que la voltammétrie à ondes carrés est le type de voltammétrie le plus utilisé [180, 199-200, 203-204, 212-216] suivie par la voltammétrie cyclique [203, 207-211]. Certaines études commencent d'ailleurs par démontrer la faisabilité en voltammétrie cyclique avant de passer en mode VOC ce qui permet ensuite de gagner en sensibilité. L'électrode de travail la plus utilisée est l'électrode de carbone [180, 199-206, 209, 211-213, 215-217] à la surface de laquelle se produit la réduction des fonctions nitro, et selon les conditions de la solution, l'oxydation des amines formées lors de la réduction [203, 207] après inversion du sens de balayage du potentiel. Une seule vague est choisie pour quantifier l'analyte [211, 215], elle dépend ensuite de la facilité pour déterminer le potentiel et le courant qui s'y rapporte. En effet, lorsque l'étalonnage a été effectué sur les trois vagues de réduction, une réponse linéaire est obtenue pour chacune d'entre elles avec un coefficient directeur différent ainsi que des LDD différentes [202]. La Figure V. 10 représente un voltammogramme obtenu par VOC du 2,4,6-TNT sur lequel les trois vagues de réductions sont remarquables. Il apparaît ici plus aisé de quantifier la première vague.

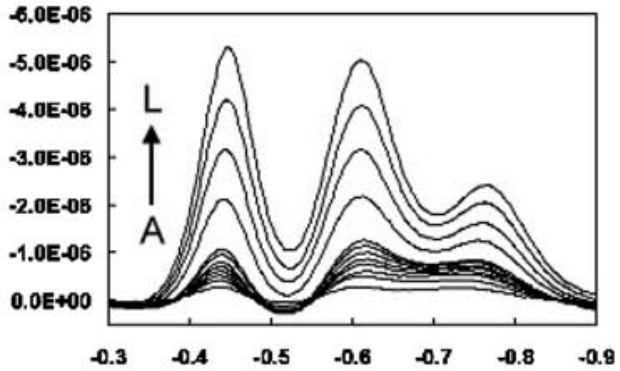


Figure V. 10. : Voltampérogrammes obtenus par voltammétrie à ondes carrées pour des solutions contenant le 2,4,6-TNT en concentration croissante (les conditions sont décrites dans le Tableau V. 2) [204].

L'électrolyte le plus employé pour permettre aux réactions d'oxydoréduction de se produire facilement est le tampon phosphate en solution aqueuse dans des

concentrations comprises entre 0,01 et 0,15 M [199-200, 203-204, 209, 211, 217]. Cependant, certaines études ont été réalisées sur des solutions dans l'ACN [212] ou dans un mélange eau/ACN [180, 214, 216].

Dans les travaux réalisés récemment, l'électrode de carbone est très souvent modifiée avec différents matériaux capables d'adsorber les nitroaromatiques pendant un temps donné avant d'appliquer la variation du potentiel pour la détection [201-202, 204-206, 210, 213, 215, 217]. L'objectif de ces travaux est de préconcentrer les composés à la surface de l'électrode pour détecter des ultratraces. La comparaison des LDD avec des électrodes modifiées ou non permet de confirmer la diminution des limites de détection grâce à la modification des électrodes. Ainsi, les électrodes non modifiées présentent des LDD autour d'une centaine de µg/L alors que l'on atteint 46 ng/L pour la meilleure des électrodes modifiées, mais uniquement en milieu pur. En effet, très peu d'électrodes modifiées ont été évaluées en milieu réel ou alors dans les eaux environnementales ce qui représente une matrice souvent moins complexes que celles retrouvées dans les échantillons post-attentats [205, 210].

Enfin, un grand nombre de ces études ont été réalisées avec un système de trois électrodes classiques dans une cellule électrochimique [180, 199-202, 204-208, 211-215, 217]. Cependant, quelques travaux ont été réalisés avec le système d'électrodes imprimées sur puce présenté précédemment et introduit dans une cellule électrochimique [199, 213] ou suite au dépôt d'une goutte de la solution contenant l'analyte comme le 2,4,6-TNT ou le 2,6-DNT [199, 203, 209, 211, 216, 218]. Une étude se démarque du lot, elle porte sur des composés appartenant aux trois familles des nitroaromatiques, des nitramines et des esters nitrés [203]. L'équipe de Galik montre, en effet, la possibilité d'identifier la famille d'explosif nitré grâce à la VOC et de déterminer la concentration en analyte grâce au pic d'oxydation qui serait plus facilement quantifiable.

Cette étude est un cas particulier car généralement peu de composés sont ciblés et majoritairement des nitroaromatiques. De plus, ces travaux ont été réalisés majoritairement en milieu pur. La détection électrochimique des explosifs nitrés sur puce paraît donc possible au vu des publications parues ces derniers temps avec des limites de détection, quant elles sont mentionnées, de l'ordre d'une centaine de µg/L. Cependant, les conditions de ces études sont très différentes de notre problématique puisque l'objectif est de déterminer la présence des explosifs nitrés voire de les quantifier dans un échantillon prélevé post-attentat grâce à une puce commerciale pour

une détection de terrain à bas prix. Tout cela s'inscrit dans une procédure globale constituée d'une étape de purification de l'échantillon complexe avec un support imprimé en amont ce qui paraît être une méthode d'identification très prometteuse.

Tableau V. 2 : Conditions de détection électrochimique des explosifs nitrés

Molécules	Type	Electrodes	Electrolyte	Réaction étudiée	LDQ (mg/L)	Matrices	Ref
2,4,6-TNT	VC	ET et CE : Au, ER : ECS	H_2SO_4 aqueux (5M)	oxydation	n.r.	Sols	[207]
2,4,6-TNT	VC	ET, ER/CE : Au	H_2SO_4 aqueux (5M)	réduction	~ 0,007	gaz	[208]
2,4,6-TNT	VOC	ET : diamant, ER : Ag/AgCl, CE : Pt	Eau/ACN (95/5) avec KCl (0,5M), tampon phosphate (0,15M)	réduction	1.10^{-2}	Eau de mer	[214]
2,4,6-TNT, RDX, HMX	VOC	ET : C, CE : Pt, ER : Ag/AgCl	TBABr (0.1 M) dans l'ACN	reduction	1 à 10	sols	[212]
2,4,6-TNT, 2,4-DNT, 1,3-DNB, RDX, HMX, PETN, NG, 3-NT	VC/ VOC	ET et CE : C, ER : Ag/AgCl	Tampon phosphate (0,05M, pH =6,5) aqueux	oxydation	n.r.	Mélanges commerciaux	[203]
2,4,6-TNT	VOC	ET : C, ER : Ag/AgCl	ACN/PBS (40/60)	réduction	0,13	sols	[180]
2,4,6-TNT	VOC	ET : C, CE : Pt, ER : Ag/AgCl,	Tampon phosphate (0,05M, pH =6,5) aqueux	réduction	0,1	Eaux environnementales	[199]
2,4,6-TNT, 2,4-DNT, 2,6-DNT, 2-NT	VOC	ET : C, CE : Pt, ER : Ag/AgCl	Tampon phosphate (0.1M) aqueux	réduction	n.r.	Eau pure	[204]
2,6-DNT	VC	ET : C, ER/CE : Ag/AgCl	Tampon phosphate (0,05M, pH =1,8) aqueux	oxydation	0,161	Eau potable à 5% d'EtOH, salive	[209]
2,4,6-TNT	VOC	ET : C, CE : Pt, ER : Ag/AgCl	Tampon phosphate (0.01M, pH =7,4) aqueux	réduction	0,2	Eaux environnementales	[200]
2,4,6-TNT	VOC	ET : C, ER et CE: Ag/AgCl	Eau/ACN (90/10) Na_2HPO_4 (0,01M) NaCl (0,1M)	réduction	0,2	Milieu pur	[216]

2,4,6-TNT, 2,4-DNT	VC	ET et CE : C, ER : Ag/AgCl	Tampon phosphate (0,05M, pH =7,4) aqueux	réduction	n.r.	Vapeurs avec électrolyte solide	[211]
2,4,6-TNT	VL	ET : C modifié, ER : Ag/AgCl, CE : Pt	NaCl (0.5M, pour milieu pur) aqueux	réduction	$0,6.10^{-3}$	Eau de mer	[205]
2,4,6-TNT	VOC	ET : C modifié, ER : Ag/AgCl, CE : Pt	NaCl (0,5M) aqueux	réduction	1	Eau contenant des surfactants	[213]
2,4,6-TNT, 2,4-DNT, 1,3,5-TNB, 1,3-DNB	VL	ET : C modifié, ER : ECS, CE : Pt	NaCl (0,5M) aqueux	réduction	5.10^{-3} à 0,5	Milieu pur	[201]
2,4,6-TNT, 2,4-DNT, 1,3-DNB	VL	ET : C modifié, ER : ECS, CE : Pt	NaCl (0,5M) aqueux	réduction	$0,2.10^{-3}$ à 1.10^{-3}	Milieu pur	[202]
2,4,6-TNT, 2,4-DNT, 1,3-DNB	VL/ VC	ET : C modifié, ER : Ag/AgCl, CE : Pt,	NaCl (0,5M) aqueux	réduction	$0,5.10^{-3}$ à 2.10^{-3}	Milieu pur	[206]
2,4,6-TNT, 2,4-DNT, 1,3,5-TNB	VOC	ET : C modifié ER : ECS, CE : Pt	NaCl (0,5M) aqueux	réduction	$\leq 0,45$	Milieu pur	[215]
2,4,6-TNT, 2,4-DNT, tétryl, RDX	DPV	ET : C modifié, ER : Ag/AgCl, CE : Pt	Tampon phosphate (0.01M, pH =7) aqueux	réduction	8.10^{-2} à 96.10^{-2}	Milieu pur	[217]
2,4,6-TNT	VC	ET : Au modifié ER : ECS, CE : C	Tampon phosphate (0.1M, pH =7) aqueux	réduction	46.10^{-6}	Eaux environnementales	[210]

Ag : argent, AgCl : chlorure d'argent, Au : or, C : carbone, CE : contre électrode, DPV : voltammétrie à ondes pulsées, ECS : électrode au calomel saturé, ER : électrode de référence, ET : électrode de travail, H_2SO_4 : acide sulfurique, KCl : chlorure de potassium, Na_2HPO_4 : phosphate de sodium, NaCl : chlorure de sodium, n.r. : non renseigné, PBS : tampon phosphate salin, Pt : platine, TBaBr : bromure de tétrabutylammonium, VC : voltammétrie cyclique, VL : voltammétrie linéaire.

V. 3. 3. Mise au point sur électrode imprimé de la détection électrochimique du 2,4,6-TNT

V. 3. 3. 1. *Choix des paramètres principaux*

Pour mettre au point une méthode de détection électrochimique sur puce des explosifs nitrés, il a été envisagé de faire d'abord une étude de faisabilité en s'appuyant sur les résultats déjà publiés. Pour cela, le 2,4,6-TNT, principalement rencontré, a été choisi comme analyte détecté grâce à un système électrochimique sur puce. La puce utilisée dans cette étude est composée d'un système à trois électrodes avec une électrode de travail en carbone, une contre électrode en platine et une électrode de référence en argent comme représentée en Figure V. 11. Ces conditions sont semblables aux conditions les plus employées dans la littérature et présentées précédemment. Ce système se trouve sous forme circulaire pour permettre le recouvrement total des électrodes par une goutte d'environ 40 µL de solution à analyser.

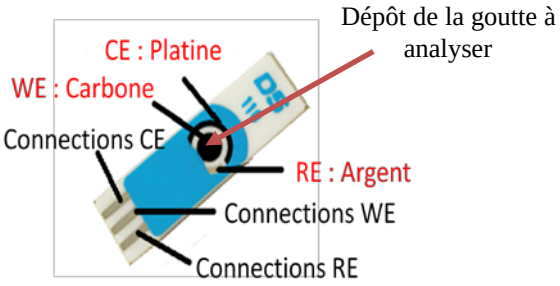


Figure V. 11 : Schéma de la puce électrochimique utilisée dans cette étude.

La voltammétrie cyclique a été choisie comme type de détection électrochimique car c'est l'une des techniques les plus utilisées dans la bibliographie pour la détection du 2,4,6-TNT avec la voltammétrie à ondes carrées. Pour réaliser les premières acquisitions en voltammétrie cyclique, il a été nécessaire de fixer un certain nombre de paramètres comme la gamme en potentiel de balayage, la vitesse de scan,… Ces différents paramètres et la description du matériel utilisé sont indiqués en annexe 9.

V. 3. 3. 2. *Mesures préliminaires*

Pour commencer l'étude une solution d'eau/MeOH (50/50, v/v) contenant un tampon phosphate et le 2,4,6-TNT a été employée. En effet, cet électrolyte est celui qui

a été le plus utilisé dans les études antérieures et le solvant a été choisi car il est nécessaire de se placer dans une solution contenant un solvant capable d'éluer les composés du MIS avant la détection. Les voltampérogrammes obtenus pour le 2,4,6-TNT en solution dans ce mélange présentent trois pics de réduction comme présenté précédemment Figure V. 8. Chaque pic correspond à la réduction d'une des fonctions nitro en amine ce qui signifie que le nombre de pic dépend du nombre de fonction nitro composant la structure du composé étudié. De plus, chaque pic doit permettre de réaliser un étalonnage pour quantifier l'analyte. Cependant, compte-tenu de l'intensité relative de ces pics et de la difficulté à mesurer l'intensité de pics très proches, il a été choisi de mesurer uniquement l'intensité du premier pic dans la suite de l'étude, qui correspond à un potentiel de - 0,55 V environ.

Il est à noter qu'une étape de conditionnement de l'électrode doit être réalisée avant d'effectuer les acquisitions. En effet, chaque fois qu'une électrode neuve ou conservée en solution a été utilisée en répétant des acquisitions sur des gouttes différentes, celles obtenues pour la première goutte ne permettait pas l'analyse et les trois pics n'était pas toujours visibles. De plus, l'utilisation de l'électrolyte pur comme première goutte n'a pas résolu ce problème. A cet effet, une première goutte de solution contenant l'analyte est toujours déposée sur une électrode neuve ou après conservation et cinq cycles sont réalisés à 30 s d'intervalle. La goutte est ensuite éliminée et une autre goutte est déposée pour laquelle les résultats seront pris en compte.

Après cette première étude, cinq acquisitions ont été réalisées à la suite sur la même puce avec la même goutte contenant 10 mg/L de 2,4,6-TNT et dans un intervalle de temps de 30 s. Ainsi, la Figure V. 12 présente les cinq voltampérogrammes obtenus.

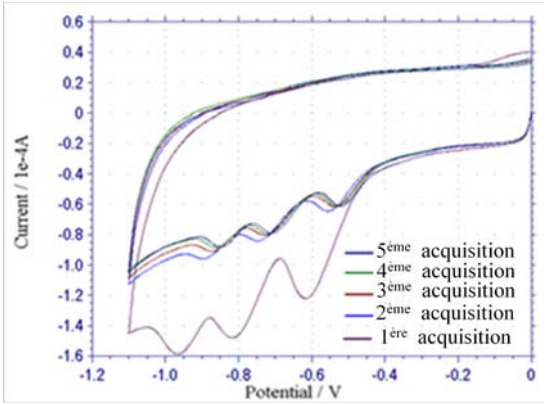


Figure V. 12 : voltammogrammes représentant 5 acquisitions réalisées à 30 s d'intervalle pour une solution d'eau/MeOH (50/50, v/v) contenant du phosphate de potassium à 0,05M et du 2,4,6-TNT à 10 mg/L (conditions fixées initialement et présentées en annexe 9).

Il apparaît très clairement que la première acquisition ne peut être prise en compte et que les suivantes deviennent vraiment répétables à partir de la troisième acquisition. Ainsi, par la suite, seules les mesures obtenues lors de la troisième acquisition seront présentées et ont été prises en comptes lors de l'étude.

V. 3. 3. 3. *Evaluation de la répétabilité des mesures*

Avant même de procéder à l'optimisation des différents paramètres d'acquisition, il a été nécessaire de s'assurer de la répétabilité des mesures pour différentes gouttes, sur différentes électrodes et à différents jours.

Tout d'abord, la troisième acquisition effectuée pour trois gouttes différentes de la même solution d'électrolyte dopée à 10 mg/L de 2,4,6-TNT, déposées le même jour sur la même électrode a été enregistrée, la Figure V. 13 présente la comparaison de ces voltampérogrammes. Ces derniers sont parfaitement superposables, ce qui montre la répétabilité de ce processus et la possibilité de réutiliser la même électrode pour réaliser différentes mesures.

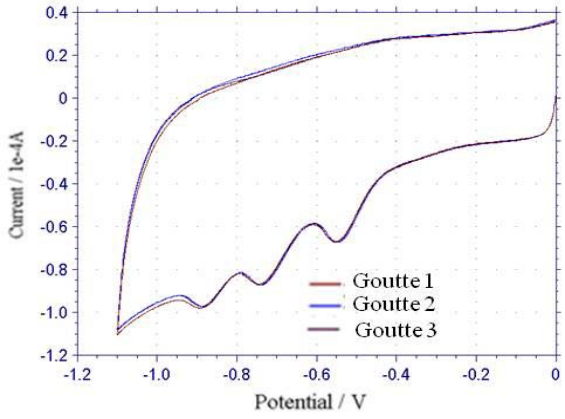


Figure V. 13 : voltammogrammes correspondant à des acquisitions du signal obtenu pour trois gouttes distinctes composées d'eau/MeOH (50/50, v/v) contenant du phosphate de potassium à 0,05 M et du 2,4,6-TNT à 10 mg/L et déposées sur la même électrode (conditions fixées initialement présentées en annexe 9, acquisition n°3).

Dans un second temps, des voltammogrammes ont été tracés pour trois gouttes d'une même solution d'électrolyte dopée à 10 mg/L, et déposées à trois jours différents sur la même électrode. Les voltammogrammes, présentés Figure V. 14, sont à nouveau relativement superposables, ce qui démontre que l'électrode peut être utilisée sur

plusieurs jours dans les mêmes conditions sans changement significatif des résultats que ce soit au niveau du potentiel ou de l'intensité de pic.

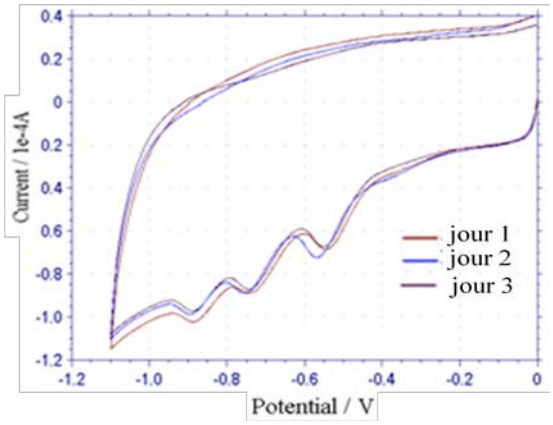


Figure V. 14 : voltammogrammes correspondant à trois acquisitions réalisées à trois jours distincts avec des gouttes composées d'eau/MeOH (50/50, v/v) contenant du phosphate de potassium à 0,05 M et du 2,4,6-TNT à 10 mg/L (conditions fixées initialement présentées en annexe 9, acquisition n°3).

Enfin, des acquisitions ont été réalisées à trois jours distincts sur trois électrodes différentes. Chaque acquisition a été faite en triplicat avec trois gouttes distinctes. Les résultats obtenus sont illustrés Figure V. 15 en reportant l'intensité du premier pic correspondant à un potentiel d'environ – 0,55 V pour les différentes acquisitions.

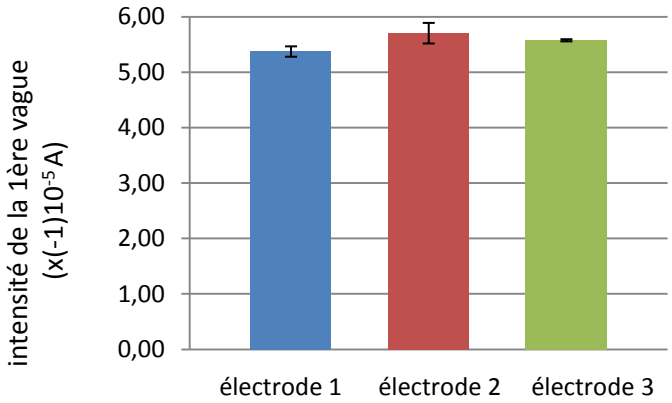


Figure V. 15 : intensités moyennes du pic à environ – 0,55 V, obtenues par voltammétrie cyclique pour une solution contenant du 2,4,6-TNT à 10 mg/L avec trois électrodes distinctes sur trois jours différents (n = 3, acquisition n°3).

Cet histogramme permet de confirmer dans un premier temps la répétabilité de la procédure lorsque celle-ci est appliquée à trois gouttes distinctes à la suite. En effet,

les faibles écart-types témoignent de cette répétabilité. Dans un second temps, les intensités de pic moyennes pour trois électrodes différentes sont très proches et laissent penser que les résultats pouvant être considérés similaires d'une électrode à une autre quelque soit le jour d'acquisition pour toute goutte déposée, exceptée la première goutte qui a été écartée.

Ainsi, ces premiers résultats témoignent du potentiel de ce type de détection notamment pour la répétabilité ce qui était essentiel de vérifier avant une utilisation des puces sur le terrain et à usage unique. Il est maintenant possible de passer à l'optimisation de certains paramètres.

V. 3. 3. 4. *Optimisation de certains paramètres*

(a) *Electrolyte*

La détection électrochimique a pour but d'être utilisée sur le terrain après purification de l'échantillon grâce à l'extraction sur le MIS 1/4/30. La procédure d'extraction conduisant à une fraction d'élution en ACN, il a d'abord été envisagé de faire les acquisitions en milieu organique par ajout d'un électrolyte comme décrit dans certaines études [180, 212, 214, 216]. Ainsi, des essais avec une goutte d'une solution d'ACN contenant 10 mg/L de 2,4,6-TNT avec soit du perchlorate de lithium ou du perchlorate de tétrabutylammonium (TBAP) à 0,05 M ont été réalisés. Malheureusement, aucun pic n'a pu être observé dans ces conditions. L'augmentation de la gamme de balayage des potentiels n'a pas permis non plus d'observer un quelconque pic de réduction. L'absence de pic de réduction peut s'expliquer par le manque d'ions hydrogène en solution puisque l'ACN est un solvant aprotique. Cependant, l'oxydation du 2,4,6-TNT n'a pas non plus été observé dans ces conditions.

D'autres acquisitions ont été réalisées dans des mélanges eau/ACN contenant de 50 à 90 % d'eau et 10 mg/L de 2,4,6-TNT avec différents sels comme le perchlorate de lithium, le phosphate de potassium ou le chlorure de potassium (KCl) à 0,05M. Cette modification de la composition a permis d'obtenir des pics de réduction dont l'intensité était directement dépendante du pourcentage d'eau. Cependant, ces conditions n'ont pu être retenues compte tenu de la trop faible intensité de pic enregistrée par rapport à celle observée lors des essais préliminaires avec le mélange eau/MeOH.

Par la suite, le méthanol a été envisagé pour l'acquisition puisque son utilisation en tant que solvant d'élution du MIS est tout à fait possible. Après un essai avec une solution de MeOH à 0,05 M de perchlorate de lithium contenant 10 mg/L de 2,4,6-TNT non fructueux, des mélanges eau/MeOH (50/50, v/v) contenant le 2,4,6-TNT et un sel à 0,05 M (perchlorate de lithium, phosphate de potassium ou chlorure de potassium) ont été déposés sur la puce pour réaliser les acquisitions. Deux sels, le perchlorate de lithium ou le phosphate de potassium, ont permis d'obtenir des pics de réduction plus grands que ceux obtenus avec le mélange eau/ACN (90/10, v/v). Les solutions eau/MeOH (50/50, v/v) contenant ces sels ont donc été privilégiées pour la suite de l'étude. Dans ces conditions, une simple dilution d'un facteur deux et l'ajout de sel dans la fraction d'élution pourront être effectuées avant la détection électrochimique.

Des acquisitions ont donc été réalisées en suivant la procédure fixée précédemment avec des mélanges eau/MeOH (50/50, v/v) à 10 mg/L de 2,4,6-TNT pour différentes concentrations en perchlorate de lithium (de 0,05 à 0,8 M) ou en phosphate de potassium (de 0,01 à 0,1 M). Les intensités de pic mesurées pour ces différentes conditions sont présentées sous forme d'histogramme en Figure V. 16. Cette dernière montre que le changement de concentration en perchlorate de lithium (Figure V. 16 (a)) n'a pas d'effet majeur sur l'intensité de pic mise à part pour une concentration de 0,5 M qui permettrait une légère augmentation de l'intensité dont la significativité devrait être vérifiée par des études de répétabilité.

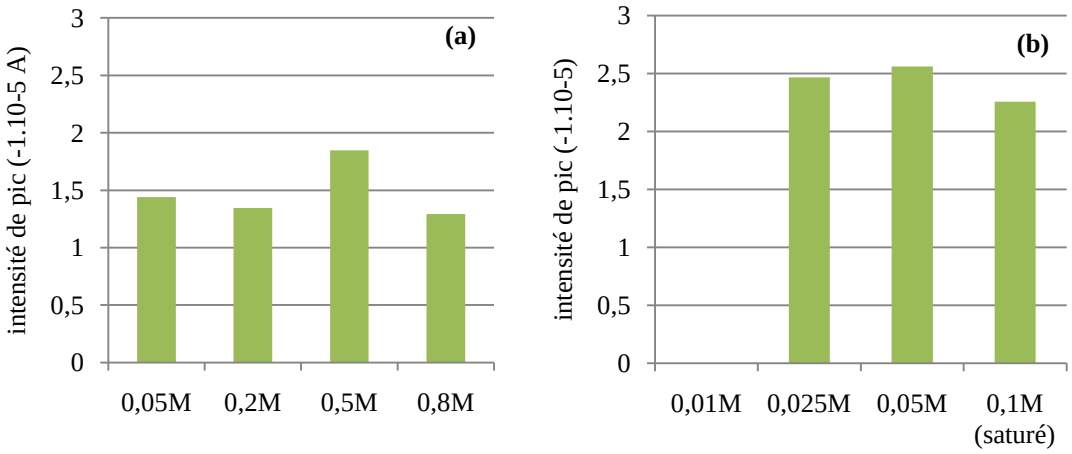


Figure V. 16 : Etude de la concentration (a) en perchlorate de lithium et (b) en phosphate de potassium par comparaison des intensités du pic à – 0,55 V (conditions d'acquisition présentées en annexe 9).

En ce qui concerne les essais menés en présence de phosphate de potassium présentés en Figure V. 16 (b), une concentration de 0,01 M ne permet pas de détecter le 2,4,6-TNT. A partir de 0,025 M de phosphate de potassium, ce dernier est détectable avec des intensités de pics similaires et qui sont plus importantes que celles obtenues avec le perchlorate de lithium. Compte tenu de ces résultats, le phosphate de potassium à 0,05 M dans un mélange eau/MeOH (50/50, v/v) a été conservé comme électrolyte pour la suite de l'étude.

(b) *Vitesse de balayage et délai*

La nature et la concentration de l'électrolyte ont été étudiées avec une vitesse de balayage fixée arbitrairement à 0,1 V/s et qui reste donc à optimiser ainsi que le délai entre les acquisitions réalisées sur une même goutte préalablement fixé à 30 s.

Des acquisitions ont été réalisées à différentes vitesses de balayage comprises entre 0,05 et 0,25 V/s. L'intensité du premier pic de réduction en fonction de la vitesse de balayage est reportée Figure V. 17 (a).

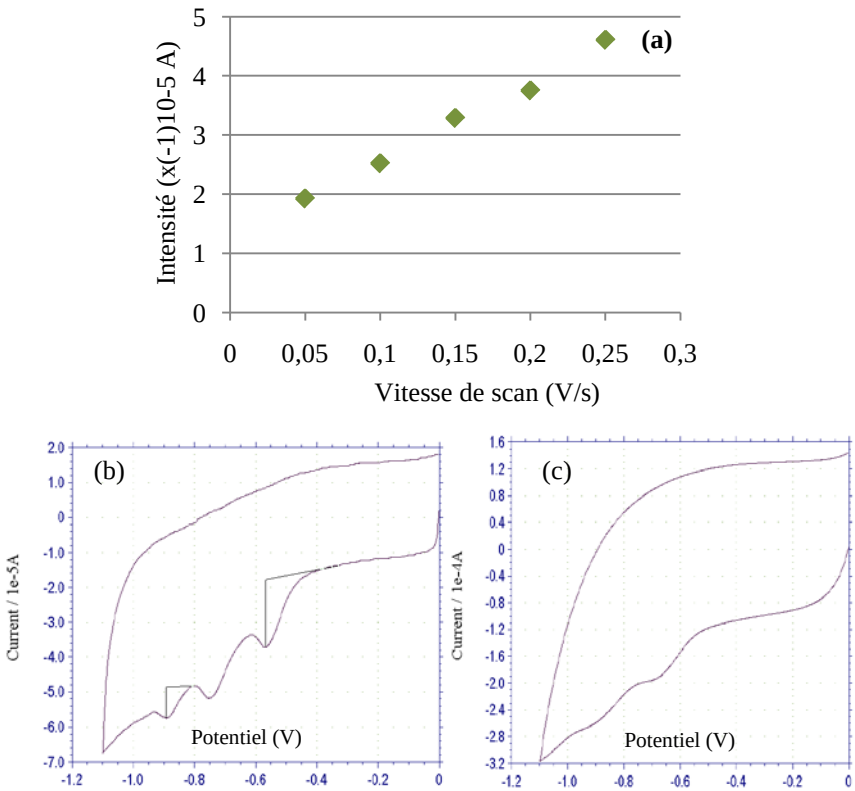


Figure V. 17 : Intensité du pic à – 0,55 V en fonction de la vitesse de balayage (a) voltampérogramme obtenu pour une vitesse de balayage de 0,05 V/s (b) et de 0,5 V/s (c), les autres conditions sont décrites dans les conditions initiales de l'annexe 9.

Il apparaît que l'intensité de pic augmente de façon linéaire avec la vitesse de balayage sur toute la gamme testée. Cependant, l'augmentation de la vitesse de balayage entraîne également l'obtention de pics moins bien définis ce qui rend donc plus difficile l'identification du 2,4,6-TNT. En effet, la comparaison des voltammogrammes présentés en Figure V. 17 (b) et (c) montre cet aplanissement des pics lorsque la vitesse de balayage passe de 0,05 à 0,5 V/s. Pour des vitesses de balayage rapides, l'intensité est effectivement plus grande mais il devient également plus difficile d'effectuer la quantification. Ainsi, un compromis a été fait et la vitesse de balayage a été fixée à 0,2 V/s, ce qui se traduit par une mesure en 13 s.

Deux délais entre les acquisitions, 30 s et 1 min, ont été testés pour déterminer l'impact de celui-ci sur l'intensité de pic. Le délai n'a pas été étudié au-delà de cet intervalle car le volume faible de la goutte peut entraîner une évaporation du solvant constituant celle-ci, ce qui modifierait la concentration initiale à mesurer du 2,4,6-TNT. Des intensités du pic à – 0,55 V de $-2{,}90.10^{-5} \pm 0{,}08.10^{-5}$ A et de $-4{,}17.10^{-5} \pm 0{,}13.10^{-5}$ A ont été obtenues pour des délais de 30 s et d'1 min respectivement. Il est ainsi remarquable que l'intensité de pic est plus importante avec un délai d'1 min qu'avec 30 s. En effet, ce délai permet une meilleure de diffusion du 2,4,6-TNT dans la goutte en vue de la réaction de réduction à la surface de l'électrode.

Un délai d'une minute a donc été privilégié afin d'abaisser les limites de quantification ce qui peut se révéler important pour l'analyse de traces. Un récapitulatif des conditions optimisées est présenté en annexe 9.

V. 3. 3. 5. *Quantification du 2,4,6-TNT par détection électrochimique*

La procédure de détection sur puce par voltammétrie cyclique a été optimisée et sa répétabilité a été démontrée. Il est donc maintenant possible d'étudier l'intensité de pic en fonction de la concentration en 2,4,6-TNT de sorte à vérifier que ce système permette une quantification simple du 2,4,6-TNT. Afin de s'assurer de la linéarité de la réponse électrochimique, des acquisitions ont été réalisées avec des solutions dopées à différentes concentrations en 2,4,6-TNT. La courbe représentant l'intensité du pic à – 0,55 V en fonction de la concentration en 2,4,6-TNT a été tracée et est présentée Figure V. 18. Une réponse linéaire est ainsi obtenue pour des concentrations comprises entre 2,5 et 25 mg/L ce qui permet d'envisager la quantification du 2,4,6-TNT dans des

échantillons inconnus par la suite dans cette gamme de concentration. De plus, de faibles écart-types ont été obtenus jusqu'à 25 mg/L et sont à peines visibles sur la Figure V. 18 alors que l'écart type devient important pour 30 mg/L. Cette valeur semble être au-delà de la gamme de linéarité. En effet, d'autres résultats obtenus sur une autre puce électrochimique ont également montré un affaiblissement du signal pour des valeurs supérieures ou égales à 30 mg/L.

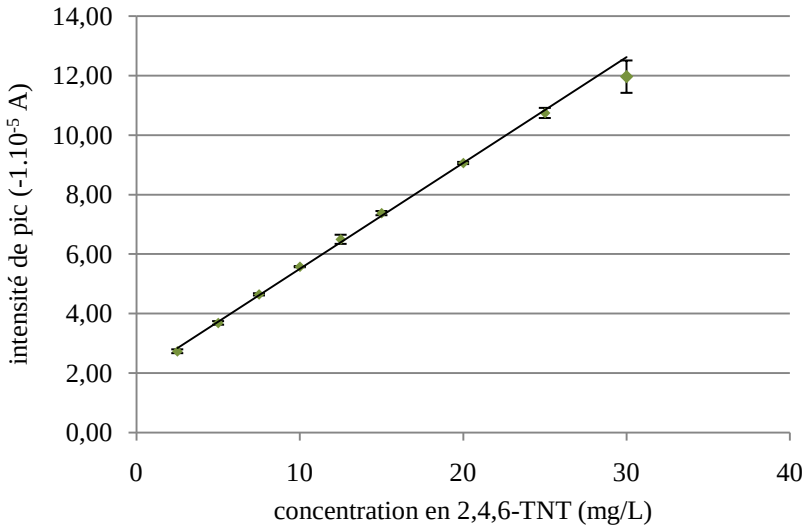


Figure V. 18 : courbe d'étalonnage du pic à – 0,55 V réalisée dans les conditions optimisées décrites en annexe 9 (n = 3 pour chaque concentration).

En ce qui concerne la limite basse de la droite d'étalonnage, la limite de quantification a été estimée à 0,52 mg/L pour un rapport signal sur bruit de 10 et la limite de détection a quant à elle été estimée à 0,16 mg/L pour un rapport signal sur bruit de trois. Cette limite de quantification est similaire à celles reportées dans la littérature. Cependant, aucune solution de concentration inférieure à 1 mg/L n'a été utilisée sur ce système, il serait donc judicieux par la suite de tester des concentrations plus faibles pour confirmer ces résultats.

V. 3. 3. 6. *Conclusions*

Cette étude a permis d'obtenir des résultats très encourageant en voltammétrie cyclique grâce à une détection sur puce facilement transportable sur le terrain. En effet, une procédure d'analyse répétable a ainsi été mise au point par optimisation d'un certain

nombre de paramètres qui ont permis d'estimer une LDD en milieu pur qui est du même ordre de grandeur que celles d'un grand nombre des publications présentées.

Cependant, l'utilisation de cette technique sur le terrain demande encore de poursuivre ces travaux par l'application de ces conditions à un échantillon réel après extraction sur le MIS 1/4/30 afin de vérifier que la purification par le MIS permette l'identification du 2,4,6-TNT. Il est également nécessaire de vérifier l'application de ce type de détection pour les autres explosifs nitrés et également de changer de type de voltammétrie. En effet, la voltammétrie à ondes carrées permet souvent d'augmenter la sensibilité de la détection après une étude de faisabilité en voltammétrie cyclique.

V. 4. Conclusions et perspectives

Les expériences présentées dans ce chapitre ont eu pour but de développer des procédures en format miniaturisé. Tout d'abord, l'utilisation d'une précolonne remplie avec le MIS 1/4/30 a permis de mettre au point une procédure d'extraction et de séparation en ligne. Ainsi, il est possible de disposer d'un système automatisé en laboratoire pour l'identification des explosifs nitroaromatiques avec un volume d'échantillon réduit grâce au gain en sensibilité permis par le couplage en ligne. Ceci permet alors le fractionnement de l'échantillon, pour extraire les nitroaromatiques et les esters nitrés grâce au MIS 1/4/30 d'une part et les autres explosifs à l'aide d'autres précolonnes par exemple d'autre part qui pourrait être monté en série.

Le développement d'un système de terrain qui permet un diagnostic sur site a été également envisagé en deux étapes. La première consiste à extraire sur MIS et la seconde à détecter les analytes extraits par voie électrochimique. La faisabilité de ces deux étapes a été montrée séparément grâce au développement d'une procédure d'extraction sélective sur le MIS 1/4/30 présentée dans le chapitre IV et grâce à l'optimisation des conditions de détection électrochimique du 2,4,6-TNT. Cependant, l'étude de la détection électrochimique doit être étendue aux autres nitroaromatiques pour vérifier s'il est possible d'identifier ces composés ou si la puce permet de donner une information rapide sur la famille des explosifs employés. De plus, l'emploi, après extraction sur MIS d'un échantillon complexe, de la puce doit être réalisée pour vérifier qu'il n'y a pas d'effets de matrice gênant la détection.

La finalisation du test diagnostic serait à présent de miniaturiser l'étape d'extraction puisque quelques gouttes d'éluat suffisent pour la détection électrochimique. A cet effet, deux formats récents utilisés en SPE peuvent être envisagés, les MEPS et les tips, ces formats présentés au chapitre I consistant à introduire le support de SPE dans un corps de seringue pour le premier et dans un cône de pipette pour le second.

Conclusions et perspectives

Au cours de cette étude, une procédure de purification sélective de l'échantillon et de préconcentration des analytes à partir de matrices complexes (huile de moteur, sang humain,…) a été mise au point pour l'extraction des explosifs nitrés, principaux explosifs organiques utilisés pour concevoir des charges explosives. Pour cela, des supports polymériques fondés sur un mécanisme de reconnaissance moléculaire ont été développés.

Dans un premier temps, des supports imprimés synthétisés par voie radicalaire ont été préparés avec le 2,4-DNT, intermédiaire de formation du 2,4,6-TNT, comme molécule empreinte. L'objectif était de pouvoir former des cavités sélectives au sein des supports grâce à des interactions non covalentes. Le développement de liaisons polaires a d'abord été envisagé avec l'utilisation d'acide méthacrylique, d'acrylamide ou de 2-vinylpyridine comme monomère fonctionnel. Cependant, les interactions formées entre le monomère et la molécule empreinte se sont révélées trop faibles pour la formation de cavités sélectives permettant d'assurer une rétention suffisante lors de l'étape d'extraction. Par la suite, le développement de cavités sélectives par interactions hydrophobes et de type π-π a été envisagé notamment avec l'emploi du styrène comme monomère fonctionnel. Cependant, l'inhibition de la polymérisation radicalaire de ce monomère avec le 2,4-DNT a conduit à l'utilisation d'un analogue structural, le 2,4-DAT. Cette synthèse a permis de mettre en évidence la possibilité de concevoir des supports sélectifs par l'exploitation des interactions hydrophobes et de type π-π. En effet, une différence de rétention entre les supports imprimés et des supports non imprimés a été observée. Cependant, la rétention des nitroaromatiques sur le support ne s'est pas révélée suffisamment forte pour poursuivre l'étude de ce support.

Une alternative à la polymérisation radicalaire a donc été envisagée en synthétisant des supports imprimés à base de silice par voie sol-gel. Le phényltriméthoxysilane a alors été choisi comme monomère fonctionnel pour privilégier le développement d'interactions hydrophobes et de type π-π avec le 2,4-DNT utilisé comme molécule empreinte. C'est ainsi qu'un premier support de silice imprimé a été obtenu et a permis pour la première fois l'extraction sélective du 2,4-DNT, du 2,4,6-TNT, du 2,6-DNT et du tétryl avec des rendements d'extraction compris entre 30 et 80 %. Par la suite, l'influence du ratio molaire molécule empreinte/monomère/agent

réticulant a été étudié en comparant trois ratios : 1/1/5, 1/4/20 et 1/4/30. L'augmentation de la quantité de silane par un facteur quatre a permis d'obtenir des rendements d'extraction supérieurs à 80 % pour les quatre nitroaromatiques retenus avec le précédent support. Il est à noter que ce support retient avec un rendement d'extraction élevé (> 79 %) la nitroglycérine et le PETN ce qui élargi la gamme de composés identifiables après une scène d'attentat. De plus, l'augmentation de la quantité d'agent réticulant (ratio 1/4/30) a aussi permis d'augmenter la sélectivité puisqu'une diminution de la rétention par interactions non spécifiques a été observée sur le support non imprimé correspondant. Une caractérisation complète de ce support a permis de mettre en évidence d'autres propriétés intéressantes pour l'extraction comme une grande répétabilité de la synthèse et une capacité élevée (3,2 mg/g de support). Le potentiel de ce support a ensuite été confirmé lors de son utilisation en milieu réel en comparaison avec un support d'extraction conventionnel. Pour ce faire, des échantillons complexes tels que de l'huile de moteur ou du sang humain ont été traités parallèlement sur les deux supports. Dans chaque cas, l'apport en sélectivité du support imprimé a été clairement démontré.

Compte-tenu de la grande capacité du support et une demande forte pour la miniaturisation des outils analytiques afin de tendre vers la mise en place d'analyses rapides sur le terrain, un premier pas vers la miniaturisation du support a été entrepris en développant une procédure d'extraction en ligne des nitroaromatiques. Une rétention et une sélectivité similaires à celle d'une extraction en différé sur cartouches ont été obtenues mais en utilisant environ six fois moins de support tout en gagnant un facteur cinquante en sensibilité.

Enfin, le développement d'un dispositif de diagnostic de terrain a été étudié avec l'objectif de purifier l'échantillon et de préconcentrer les analytes sur support imprimé puis de détecter les composés par une méthode électrochimique sur puce. Pour cela, la détection électrochimique du 2,4,6-TNT sur électrodes imprimées a été réalisée avec succès pour aboutir à une limite de quantification de 0,52 mg/L. Cette étude constitue un premier pas pour le développement d'un test de terrain. Dans un futur proche, il sera nécessaire d'étudier la détection électrochimique des autres explosifs nitrés pour savoir si ce mode de détection peut permettre la quantification individuelle des composés ou fournir une réponse globale en équivalent de 2,4,6-TNT.

Dans tous les cas, un format d'extraction miniaturisé, transportable et simple d'utilisation doit être envisagé pour purifier sélectivement l'échantillon avant la

détection électrochimique. Pour cela, le confinement du support imprimé dans un corps de seringue de type MEPS (MicroExtraction by Packed Sorbent) ou dans un cône de pipette semble être les dispositifs les plus appropriés pour réaliser l'étape d'extraction sur le terrain en utilisant seulement quelques milligrammes de support. Dans le cas du MEPS, il suffit d'un simple transfert sous un nouveau format du support imprimé et d'une réoptimisation des conditions d'utilisation alors que dans le cas d'une utilisation du support dans un cône de pipette, il est nécessaire de revoir le mode de synthèse.

Références bibliographiques

1. Akhavan, J., *The chemistry of explosives*. Classification of explosive materials. 1998, Cambridge: RSC Paperbacks. 18-42.
2. Tachon, R., *Apport de la chromatographie en phase liquide couplée à la spectrométrie de masse pour l'analyse de traces d'expolsifs. Optimisation des conditions d'extraction et de purification pour le traitement d'échantillons récupérés sur une scène d'attentat*, Thèse de doctorat, UPMC, 2008.
3. Quinchon, J., *Les poudres, propergols et explosifs*. Tome 1 : Les explosifs. 1982, Paris: Tec & Doc. 105-129.
4. Quinchon, J., *Les poudres, propergols et explosifs*. Tome 1: Les explosifs. 1982, Paris: Tec & Doc. 131-177.
5. Zukas, J.A., *explosive effects and applications*. The chemistry of explosives, ed. Springer. 1998, New York.
6. Akhavan, J., *the chemistry of explosives*. Manufacture of explosives. 1998, Cambridge: RSC Paperbacks.
7. Calzia, J., *Les substances explosives et leurs nuisances*. Les explosifs secondaires, corps purs. 1969, Paris: Dunod. 80-118.
8. Ebrahimzadeh, H., Yamini, Y., and Kamarei, F., *Optimization of dispersive liquid-liquid microextraction combined with gas chromatography for the analysis of nitroaromatic compounds in water.* Talanta, 2009. **79**(5): p. 1472-1477.
9. Furton, K.G., WU, L., and Almirall, J.R., *optimization of solid phase microextraction (SPME for the recovery of explosives from aqueous and post-blast-explosion debris followed by gas and liquid chromatography analysis.* journal of forensic sciences, 2000. **45**: p. 857.
10. Douse, J.M.F., *Improved method for the trace analysis of explosives by silica capillary column gas chromatography with thermal energy analysis detection.* J. Chromatogr., A, 1987. **410**: p. 181-189.
11. Douse, J.M.F., *Trace analysis of explosives in handswab extracts using Amberlite XAD-7 porous polymer beads, silica capillary column gas chromatography with electron-capture detection and thin-layer chromatography.* J. Chromatogr., A, 1982. **234**(2): p. 415-425.
12. Douse, J.M.F., *Trace analysis of explosives at the low nanogram level in handswab extracts using columns of amberlite xad-7 porous polymmer beads and silica capillary column gas chromatography with thermal energy analysis and electron-capture detection.* J. Chromatogr., A, 1985. **328**: p. 155-165.
13. Jönsson, S., Gustavsson, L., and van Bavel, B., *Analysis of nitroaromatic compounds in complex samples using solid-phase microextraction and isotope dilution quantification gas chromatography-electron-capture negative ionisation mass spectrometry.* J. Chromatogr., A, 2007. **1164**(1-2): p. 65-73.
14. Jenkins, T.F., Walsh, M.E., Miyares, P.H., Hewitt, A.D., Collins, N.H., and Ranney, T.A., *Use of snow-covered ranges to estimate explosives residues from high-order detonations of army munitions.* Thermochim. Acta, 2002. **384**(1-2): p. 173-185.
15. Calderara, S., Gardebas, D., Martinez, F., and Khong, S.P., *Organic explosives analysis using on column-ion trap EI/NICI GC-MS with an external source.* journal of forensic sciences, 2004. **49**(5): p. 1005-1008.

16. Calderara, S., Gardebas, D., and Martinez, F., *Solid phase micro extraction coupled with on-column GC/ECD for the post-blast analysis of organic explosives.* Forensic Science International, 2003. **137**(1): p. 6-12.
17. Barshick, S.-A. and Griest, W.H., *Trace Analysis of Explosives in Seawater Using Solid-Phase Microextraction and Gas Chromatography/Ion Trap Mass Spectrometry.* Anal. Chem., 1998. **70**(14): p. 3015-3020.
18. Perr, J.M., Furton, K.G., and Almirall, J.R., *Gas chromatography positive chemical ionization and tandem mass spectrometry for the analysis of organic high explosives.* Talanta, 2005. **67**(2): p. 430-436.
19. Walsh, M.E., *Determination of nitroaromatic, nitramine, and nitrate ester explosives in soil by gas chromatography and an electron capture detector.* Talanta, 2001. **54**(3): p. 427-438.
20. Bader, M., Göen, T., Müller, J., and Angerer, J., *Analysis of nitroaromatic compounds in urine by gas chromatography-mass spectrometry for the biological monitoring of explosives.* Journal of Chromatography B: Biomedical Sciences and Applications, 1998. **710**(1-2): p. 91-99.
21. Monteil-Rivera, F., Beaulieu, C., and Hawari, J., *Use of solid-phase microextraction/gas chromatography-electron capture detection for the determination of energetic chemicals in marine samples.* J. Chromatogr., A, 2005. **1066**(1-2): p. 177-187.
22. Mayfield, H.T., Burr, E., and Cantrell, M., *Analysis of Explosives in Soil Using Solid Phase Microextraction and Gas Chromatography.* Anal. Lett., 2006. **39**(7): p. 1463 - 1474.
23. Yinon, J. and Maciej, J.B., *Chapter 17 Explosives*, in *Handbook of Analytical Separations*. 2000, Elsevier Science B.V. p. 603-616.
24. Wallenborg, S.R., Markides, K.E., and Nyholm, L., *Oxidative and reductive amperometric detection of phenolic and nitroaromatic compounds in packed capillary column supercritical fluid chromatography.* J. Chromatogr., A, 1997. **785**(1-2): p. 121-128.
25. Lu, Q., Collins, G.E., Smith, M., and Wang, J., *Sensitive capillary electrophoresis microchip determination of trinitroaromatic explosives in nonaqueous electrolyte following solid phase extraction.* Anal. Chim. Acta, 2002. **469**(2): p. 253-260.
26. Groom, C.A., Halasz, A., Paquet, L., D'Cruz, P., and Hawari, J., *Cyclodextrin-assisted capillary electrophoresis for determination of the cyclic nitramine explosives RDX, HMX and CL-20: Comparison with high-performance liquid chromatography.* J. Chromatogr., A, 2003. **999**(1-2): p. 17-22.
27. Groom, C.A., Halasz, A., Paquet, L., Thiboutot, S., Ampleman, G., and Hawari, J., *Detection of nitroaromatic and cyclic nitramine compounds by cyclodextrin assisted capillary electrophoresis quadrupole ion trap mass spectrometry.* J. Chromatogr., A, 2005. **1072**(1): p. 73-82.
28. Northrop, D.M., Martire, D.E., and MacCrehan, W.A., *Separation and identification of organic gunshot and explosive constituents by micellar electrokinetic capillary electrophoresis.* Anal. Chem., 1991. **63**(10): p. 1038-1042.
29. Sarazin, C., Delaunay, N., Varenne, A., Costanza, C., Eudes, V., and Gareil, P., *Capillary and Microchip Electrophoretic Analyses of Explosives and their Residues.* Separation & Purification Reviews, 2010. **39**(1): p. 63 - 94.

30. Mc Cord, B.R. and Whitehurst, F.W., *Analysis and characterization of TNT using liquid chromatography with photodiode array detection.* Journal of forensic sciences, 1992. **76**: p. 1574.
31. Monteil-Rivera, F., Beaulieu, C., Deschamps, S., Paquet, L., and Hawari, J., *Determination of explosives in environmental water samples by solid-phase microextraction-liquid chromatography.* J. Chromatogr., A, 2004. **1048**(2): p. 213-221.
32. Furton, K.G., Almirall, J.R., Bi, M., Wang, J., and Wu, L., *Application of solid-phase microextraction to the recovery of explosives and ignitable liquid residues from forensic specimens.* J. Chromatogr., A, 2000. **885**(1-2): p. 419-432.
33. Ragnvaldsson, D., Brochu, S., and Wingfors, H., *Pressurized liquid extraction with water as a tool for chemical and toxicological screening of soil samples at army live-fire training ranges.* J. Hazard. Mater., 2007. **142**(1-2): p. 418-424.
34. Smith, M., Collins, G.E., and Wang, J., *Microscale solid-phase extraction system for explosives.* J. Chromatogr., A, 2003. **991**(2): p. 159-167.
35. Marple, R.L. and LaCourse, W.R., *A platform for on-site environmental analysis of explosives using high performance liquid chromatography with UV absorbance and photo-assisted electrochemical detection.* Talanta, 2005. **66**(3): p. 581-590.
36. Emmrich, M., Kaiser, M., Rüden, H., and Sollinger, S., *Determination of RDX, 2,4,6-trinitrotoluene and other nitroaromatic compounds by high-performance liquid chromatography with photodiode- array detection.* J. Chromatogr., A, 1993. **645**(1): p. 89-94.
37. Didaoui, L., Lewin-Kretzschmar, U., Touabet, A., and Engewald, W., *Computer-assisted optimization in the development of high-performance liquid chromatographic methods for the analysis of some explosives and related compounds.* Chromatographia, 2003. **57**(0): p. S129-S135.
38. Marple, R.L. and LaCourse, W.R., *Application of Photoassisted Electrochemical Detection to Explosive-Containing Environmental Samples.* Anal. Chem., 2005. **77**(20): p. 6709-6714.
39. Zhao, X. and Yinon, J., *Characterization and origin identification of 2,4,6-trinitrotoluene through its by-product isomers by liquid chromatography-atmospheric pressure chemical ionization mass spectrometry.* J. Chromatogr., A, 2002. **946**(1-2): p. 125-132.
40. Song, L. and Bartmess, J.E., *Liquid chromatography/negative ion atmospheric pressure photoionization mass spectrometry: a highly sensitive method for the analysis of organic explosives.* Rapid Commun. Mass Spectrom., 2009. **23**(1): p. 77-84.
41. Maskarinec, M.P., Manning, D.L., Harvey, R.W., Griest, W.H., and Tomkins, B.A., *Determination of munitions components in water by resin adsorption and high-performance liquid chromatography--electrochemical detection.* J. Chromatogr., A, 1984. **302**: p. 51-63.
42. Schmidt, A., Niehus, B., Matysik, F., and Engewald, W., *Identification and Quantification of Polar Nitroaromatic Compounds in Explosive-Contaminated Waters by means of HPLC-ESI-MS-MS and HPLC-UV.* Chromatographia, 2006. **63**(1): p. 1-11.
43. Hilmi, A., Luong, J.H.T., and Nguyen, A.-L., *Determination of explosives in soil and ground water by liquid chromatography-amperometric detection.* J. Chromatogr., A, 1999. **844**(1-2): p. 97-110.

44. Wu, L., Almirall, J.R., and Furton, K.G., *An Improved Interface for Coupling Solid-Phase Microextraction (SPME) to High Performance Liquid Chromatography (HPLC) Applied to the Analysis of Explosives.* J. High Resolut. Chromatogr., 1999. **22**(5): p. 279-282.
45. Lang, M.J. and Burns, S.E., *Improvement of EPA method 8330: complete separation using a two-phase approach.* J. Chromatogr., A, 1999. **849**(2): p. 381-388.
46. Halasz, A., Groom, C., Zhou, E., Paquet, L., Beaulieu, C., Deschamps, S., Corriveau, A., Thiboutot, S., Ampleman, G., Dubois, C., and Hawari, J., *Detection of explosives and their degradation products in soil environments.* J. Chromatogr., A, 2002. **963**(1-2): p. 411-418.
47. Voyksner, R.D. and Yinon, J., *Trace analysis of explosives by thermospray high-performance liquid chromatography--mass spectrometry.* J. Chromatogr., A, 1986. **354**: p. 393-405.
48. Borch, T. and Gerlach, R., *Use of reversed-phase high-performance liquid chromatography-diode array detection for complete separation of 2,4,6-trinitrotoluene metabolites and EPA Method 8330 explosives: influence of temperature and an ion-pair reagent.* J. Chromatogr., A, 2004. **1022**(1-2): p. 83-94.
49. Ochsenbein, U., Zeh, M., and Berset, J.-D., *Comparing solid phase extraction and direct injection for the analysis of ultra-trace levels of relevant explosives in lake water and tributaries using liquid chromatography-electrospray tandem mass spectrometry.* Chemosphere, 2008. **72**(6): p. 974-980.
50. Kaiser, M., *HPLC Investigation of Explosives and Nitroaromatic Compounds with a Cyanopropyl Phase.* Propellants, Explos., Pyrotech., 1998. **23**(6): p. 309-312.
51. Gaurav, Malik, A.K., and Rai, P.K., *Development of a new SPME-HPLC-UV method for the analysis of nitro explosives on reverse phase amide column and application to analysis of aqueous samples.* J. Hazard. Mater., 2009. **172**(2-3): p. 1652-1658.
52. Batlle, R., Carlsson, H., Holmgren, E., Colmsjö, A., and Crescenzi, C., *On-line coupling of supercritical fluid extraction with high-performance liquid chromatography for the determination of explosives in vapour phases.* J. Chromatogr., A, 2002. **963**(1-2): p. 73-82.
53. Sanchez, C., Carlsson, H., Colmsjo, A., Crescenzi, C., and Batlle, R., *Determination of Nitroaromatic Compounds in Air Samples at Femtogram Level Using C18 Membrane Sampling and On-Line Extraction with LC/MS.* Anal. Chem., 2003. **75**(17): p. 4639-4645.
54. Holmgren, E., Carlsson, H., Goede, P., and Crescenzi, C., *Determination and characterization of organic explosives using porous graphitic carbon and liquid chromatography-atmospheric pressure chemical ionization mass spectrometry.* J. Chromatogr., A, 2005. **1099**(1-2): p. 127-135.
55. Crescenzi, C., Albiñana, J., Carlsson, H., Holmgren, E., and Batlle, R., *On-line strategies for determining trace levels of nitroaromatic explosives and related compounds in water.* J. Chromatogr., A, 2007. **1153**(1-2): p. 186-193.
56. Tachon, R., Pichon, V., Borgne, M.B.L., and Minet, J.-J., *Use of porous graphitic carbon for the analysis of nitrate ester, nitramine and nitroaromatic explosives and by-products by liquid chromatography-atmospheric pressure chemical ionisation-mass spectrometry.* J. Chromatogr., A, 2007. **1154**(1-2): p. 174-181.

57. *Method EPA 8330B*, in http://www.caslab.com/EPA-Method-8330B/. 2006.
58. Renner, T., Baumgarten, D., and Unger, K., *Analysis of organic pollutants in water at trace levels using fully automated solid-phase extraction coupled to high-performance liquid chromatography*. Chromatographia, 1997. **45**(1): p. 199-205.
59. Jenkins, T.F., Miyares, P.H., Myers, K.F., McCormick, E.F., and Strong, A.B., *Comparison of solid phase extraction with salting-out solvent extraction for preconcentration of nitroaromatic and nitramine explosives from water*. Anal. Chim. Acta, 1994. **289**(1): p. 69-78.
60. Hennion, M.-C., *Graphitized carbons for solid-phase extraction.* Journal of Chromatography A, 2000. **885**(1-2): p. 73-95.
61. Hennion, M.-C., Coquart, V., Guenu, S., and Sella, C., *Retention behaviour of polar compounds using porous graphitic carbon with water-rich mobile phases.* J. Chromatogr., A, 1995. **712**(2): p. 287-301.
62. West, C., Elfakir, C., and Lafosse, M., *Porous graphitic carbon: A versatile stationary phase for liquid chromatography*. J. Chromatogr., A, 2010. **1217**(19): p. 3201-3216.
63. Vial, J., Hennion, M.-C., Fernandez-Alba, A., and Agüera, A., *Use of porous graphitic carbon coupled with mass detection for the analysis of polar phenolic compounds by liquid chromatography*. J. Chromatogr., A, 2001. **937**(1-2): p. 21-29.
64. Reepmeyer, J.C., Brower, J.F., and Ye, H., *Separation and detection of the isomeric equine conjugated estrogens, equilin sulfate and [Delta]8,9-dehydroestrone sulfate, by liquid chromatography-electrospray-mass spectrometry using carbon-coated zirconia and porous graphitic carbon stationary phases*. J. Chromatogr., A, 2005. **1083**(1-2): p. 42-51.
65. Batlle, R., Carlsson, H., Tollbäck, P., Colmsjö, A., and Crescenzi, C., *Enhanced Detection of Nitroaromatic Explosive Vapors Combining Solid-Phase Extraction-Air Sampling, Supercritical Fluid Extraction, and Large-Volume Injection-GC.* Anal. Chem., 2003. **75**(13): p. 3137-3144.
66. Astratov, M., Prei, A., Levsen, K., and Wünsch, G., *Identification of pollutants in ammunition hazardous waste sites by thermospray HPLC/MS.* Int. J. Mass Spectrom. Ion Processes, 1997. **167-168**: p. 481-502.
67. Cassada, D.A., Monson, S.J., Snow, D.D., and Spalding, R.F., *Sensitive determination of RDX, nitroso-RDX metabolites, and other munitions in ground water by solid-phase extraction and isotope dilution liquid chromatography-atmospheric pressure chemical ionization mass spectrometry*. J. Chromatogr., A, 1999. **844**(1-2): p. 87-95.
68. Sun, Q., Chen, Z., Yuan, D., Yu, C.-P., Mallavarapu, M., and Naidu, R., *On-Line SPE Coupled with LC–APCI–MS for the Determination of Trace Explosives in Water*. Chromatographia, 2011. **73**(7): p. 631-637.
69. Psillakis, E. and Kalogerakis, N., *Developments in liquid-phase microextraction.* TrAC Trends in Analytical Chemistry, 2003. **22**(9): p. 565-574.
70. Leggett, D.C., Jenkins, T.F., and Miyares, P.H., *Salting-out solvent extraction for preconcentration of neutral polar organic solutes from water*. Anal. Chem., 1990. **62**(13): p. 1355-1356.
71. Jeannot, M.A. and Cantwell, F.F., *Solvent microextraction into a single drop.* Analytical Chemistry, 1996. **68**(13): p. 2236-2240.

72. Psillakis, E. and Kalogerakis, N., *Solid-phase microextraction versus single-drop microextraction for the analysis of nitroaromatic explosives in water samples.* J. Chromatogr., A, 2001. **938**(1-2): p. 113-120.
73. Psillakis, E. and Kalogerakis, N., *Application of solvent microextraction to the analysis of nitroaromatic explosives in water samples.* J. Chromatogr., A, 2001. **907**(1-2): p. 211-219.
74. Rezaee, M., Assadi, Y., Milani Hosseini, M.-R., Aghaee, E., Ahmadi, F., and Berijani, S., *Determination of organic compounds in water using dispersive liquid-liquid microextraction.* J. Chromatogr., A, 2006. **1116**(1-2): p. 1-9.
75. Nagaraju, D. and Huang, S.-D., *Determination of triazine herbicides in aqueous samples by dispersive liquid-liquid microextraction with gas chromatography-ion trap mass spectrometry.* J. Chromatogr., A, 2007. **1161**(1-2): p. 89-97.
76. Testard, F., Zemb, T., Bauduin, P., Martinet, L., Tchakalova, V., Prévost, S., and Gadou, R., *Systèmes organisés et reconnaissance ionique : extraction, réactivité, structure.* http://iramis.cea.fr/sis2m/Phocea/Vie_des_labos/Ast/ast_visu.php?id_ast=1060, 2008.
77. Testard, F., Zemb, T., Bauduin, P., Martinet, L., Tchakalova, V., Prévost, S., Gadou, R. *Systèmes organisés et reconnaissance ionique : extraction, réactivité, structure*. 2011; Available from: http://iramis.cea.fr/Phocea/Vie_des_labos/Ast/ast_visu.php?id_ast=1060.
78. Beiraghi, A., Zarei, A.R., and Babaee, S., *Cloud-Point Formation Based on Mixed Micelles for the Extraction, Preconcentration and Spectrophotometric Determination of Trace Amounts of Beryllium in Water Samples.* Anal. Sci., 2007. **23**(5): p. 527-531.
79. Mazzola, P.G., Lopes, A.M., Hasmann, F.A., Jozala, A.F., Penna, T.C.V., Magalhaes, P.O., Rangel-Yagui, C.O., and Pessoa Jr, A., *Liquid–liquid extraction of biomolecules: an overview and update of the main techniques.* Journal of Chemical Technology & Biotechnology, 2008. **83**(2): p. 143-157.
80. Mahugo Santana, C., Sosa Ferrera, Z., Esther Torres Padrón, M., and Juan Santana Rodríguez, J., *Methodologies for the Extraction of Phenolic Compounds from Environmental Samples: New Approaches.* Molecules, 2009. **14**(1): p. 298-320.
81. Ortega, A.C., da Silva, D.C., Visentainer, J.V., de Souza, N.E., de Cinque Almeida, V., and Oliveira, C.C., *Determination of Vitamins A and E Exploiting Cloud Point Extraction and Micellar Liquid Chromatography.* Anal. Lett., 2011. **44**(5): p. 778 - 786.
82. Goswami, A., Nath, J., and Purkait, M.K., *Cloud Point Extraction of Nitrobenzene using TX-100.* Sep. Sci. Technol., 2011. **46**(5): p. 744 - 753.
83. Babaee, S. and Beiraghi, A., *Micellar extraction and high performance liquid chromatography-ultra violet determination of some explosives in water samples.* Anal. Chim. Acta, 2010. **662**(1): p. 9-13.
84. Pardasani, D., Kanaujia, P.K., Gupta, A.K., Tak, V., Shrivastava, R.K., and Dubey, D.K., *In situ derivatization hollow fiber mediated liquid phase microextraction of alkylphosphonic acids from water.* Journal of Chromatography A, 2007. **1141**(2): p. 151-157.
85. Liu, J., Cai, X., Li, Z., and Jiang, G., *Development of negligible depletion hollow fiber membrane-protected liquid-phase microextraction for simultaneous determination of partititoning coefficients and acid dissociation constants.* J. Chromatogr. A, 2009. **1216**: p. 2583-2586.

86. Hultgren, S., Larsson, N., Nilsson, B., and Jönsson, J., *Ion-pair hollow-fiber liquid-phase microextraction of the quaternary ammonium surfactant dicocodimethylammonium chloride.* Analytical and Bioanalytical Chemistry, 2009. **393**(3): p. 929-937.
87. Saaid, M., Saad, B., Ali, A.S.M., Saleh, M.I., Basheer, C., and Lee, H.K., *In situ derivatization hollow fibre liquid-phase microextraction for the determination of biogenic amines in food samples.* J. Chromatogr. A, 2009. **1216**: p. 5165-5170.
88. Li, P., Duan, J., and Hu, B., *High-sensitivity capillary electrophoresis for speciation of organomercury in biological samples using hollow fiber-based liquid-liquid-liquid microextraction combined with on-line preconcentration by large-volume sample stacking.* Electrophoresis, 2008. **29**: p. 3081-3089.
89. Pichon, V., *Extraction sur phase solide pour l'analyse de composés organiques*. Techniques de l'ingénieur. 2006, P1420.
90. Chapuis, F., Pichon, V., and Hennion, M.-C., *Méthode de préconcentration par extraction en phase solide : principe et application aux industries environnementales et pétrolières.* Oil & Gas Science and Technology - Rev. IFP, 2005. **60**(6): p. 899-912.
91. Gilson, *Guide for SPE automation.*
92. Pichon, V., *Extraction sur phase solide pour l'analyse de composés organiques*. Techniques de l'ingénieur. déc. 2006, P1420.
93. Majors, R.E., *New Designs and Formats in Solid-Phase Extraction Sample Preparation.* LCGC Europe, 2001. **December**.
94. *http://www.waters.com/webassets/other/catalogimages/sepplates.jpg*. 2010; Available from: http://www.waters.com/webassets/other/catalogimages/sepplates.jpg.
95. Abdel-Rehim, M., *Recent advances in microextraction by packed sorbent for bioanalysis.* J. Chromatogr., A, 2010. **1217**(16): p. 2569-2580.
96. Hasegawa, C., Kumazawa, T., Lee, X.-P., Marumo, A., Shinmen, N., Seno, H., and Sato, K., *Pipette tip solid-phase extraction and gas chromatography – mass spectrometry for the determination of methamphetamine and amphetamine in human whole blood.* Anal. Bioanal. Chem., 2007. **389**(2): p. 563-570.
97. Abdel-Rehim, M., Andersson, L.I., Altun, Z., and Blomberg, L.G., *Microextraction in Packed Syringe Online with Liquid Chromatography-Tandem Mass Spectrometry: Molecularly Imprinted Polymer as Packing Material for MEPS in Selective Extraction of Ropivacaine from Plasma.* J. Liq. Chromatogr. Relat. Technol., 2006. **29**(12): p. 1725 - 1736.
98. Altun, Z., Abdel-Rehim, M., and Blomberg, L.G., *New trends in sample preparation: on-line microextraction in packed syringe (MEPS) for LC and GC applications: Part III: Determination and validation of local anaesthetics in human plasma samples using a cation-exchange sorbent, and MEPS-LC-MS-MS.* J. Chromatogr., B, 2004. **813**(1-2): p. 129-135.
99. El-Beqqali, A., Kussak, A., and Abdel-Rehim, M., *Fast and sensitive environmental analysis utilizing microextraction in packed syringe online with gas chromatography-mass spectrometry: Determination of polycyclic aromatic hydrocarbons in water.* J. Chromatogr., A, 2006. **1114**(2): p. 234-238.
100. Abdel-Rehim, M., Persson, C., Altun, Z., and Blomberg, L., *Evaluation of monolithic packed 96-tips and liquid chromatography-tandem mass spectrometry for extraction and quantification of pindolol and metoprolol in human plasma samples.* J. Chromatogr., A, 2008. **1196-1197**: p. 23-27.

101. Altun, Z., Blomberg, L.G., and Abdel-Rehim, M., *Increasing Sample Preparation Throughput Using Monolithic Methacrylate Polymer as Packing Material for 96-Tip Robotic Device.* J. Liq. Chromatogr. Relat. Technol., 2006. **29**(10): p. 1477 - 1489.
102. Altun, Z., Hjelmström, A., Abdel-Rehim, M., and Blomberg, L.G., *Surface modified polypropylene pipette tips packed with a monolithic plug of adsorbent for high-throughput sample preparation.* J. Sep. Sci., 2007. **30**(12): p. 1964-1972.
103. Altun, Z., Skoglund, C., and Abdel-Rehim, M., *Monolithic methacrylate packed 96-tips for high throughput bioanalysis.* J. Chromatogr., A, 2010. **1217**(16): p. 2581-2588.
104. Pichon, V., *Extraction sur phase solide pour l'analyse de composés organiques* Techniques de l'ingénieur, 2006. **P1420**.
105. Rodriguez-Mozaz, S., Alda, M.J.L.d., and Barceló, D., *Advantages & limitations of on-line solid phase extraction coupled to liquid chromatography–mass spectrometry technologies vs biosensors for monitoring of emerging contaminants in water.* J. Chromatogr., A, 2007. **1152**: p. 97-115.
106. Dias, N.C. and Poole, C.F., Chromatographia, 2002. **56**: p. 269-275.
107. Hennion, M.-C., *Solid-phase extraction: method development, sorbents, and coupling with liquid chromatography.* J. Chromatogr., A, 1999. **856**(1-2): p. 3-54.
108. Cook, S.E. and Pinkerton, T.C., journal of chromatogaphy, 1986. **368**: p. 233-248.
109. Souverain, S., Rudaz, S., and Veuthey, J.-L., *Restricted access materials and large particle supports for on-line sample preparation: an attractive approach for biological fluids analysis.* Journal of Chromatography B, 2004. **801**(2): p. 141-156.
110. Boos, K.S. and Rudolphi, A., LC-GC, 1997. **15**: p. 602.
111. *Method EPA 3535A*, in http://www.caslab.com/EPA-Method-3535/.
112. Charles, P.T., Dingle, B.M., Van Bergen, S., Gauger, P.R., Patterson, C.H., and Kusterbeck, A.W., *Enhanced biosensor performance for on-site field analysis of explosives in water using solid-phase extraction membranes.* Field Analytical Chemistry & Technology, 2001. **5**(6): p. 272-280.
113. Harvey, S.D. and Clauss, T.R.W., *Rapid on-line chromatographic determination of trace-level munitions in aqueous samples.* J. Chromatogr., A, 1996. **753**(1): p. 81-89.
114. Kruppa, J., Preiß, A., Levsen, K., and Kabus, H.P., *Off-line and On-line Extraction of Explosives and Related Compounds from Aqueous Samples Using Solid Sorbents.* Acta Hydrochim. Hydrobiol., 1996. **24**(5): p. 226-231.
115. Godejohann, M., Preiss, A., Levsen, K., Wollin, K.-M.,, *Determination of polar organic pollutants in aqueous sampls of fromer ammunition sites in lower Saxony by means of HPLC/Photodiode Array Detection (HPLC/PDA) and proton nuclear magnetic resonance spectrometry (1H-NMR).* Acta Hydrochim. Hydrobiol., 1998. **26**: p. 330.
116. Warren, D., Hiley, R.W., Phillips, S.A., and Ritchie, K., *Novel technique for the combined recovery, extraction and clean-up of forensic organic and inorganic trace explosives samples.* Science & Justice, 1999. **39**(1): p. 11-18.
117. Lloyd, J.B.F., *Adsorption characteristics of organic explosives compounds on adsorbents typically used in clean-up and related trace analysis techniques.* J. Chromatogr., A, 1985. **328**: p. 145-154.

118. Lloyd, J.B.F., *Microcolumn clean-up and recovery techniques for organic explosives compounds and for propellants traces in firearms discharge residues.* J. Chromatogr., A, 1985. **330**: p. 121-129.
119. Strobel, R.A., Tontarski, R. E. *Organic solvent extract of explosive debris : clean-up procedures using bonded phase sorbents*. in *Proceedings of 1st International Symposium on analysis and detection of explosives*. 1983. Quantico.
120. Thompson, R.Q., Fetterrolf, D.D., Miller, M.L., and II, R.F.M., *Aqueous recovery from cotton swabs of organic explosives residue followed by solid phase extraction.* J. Forensic Sci., 1999. **44**(4): p. 795-804.
121. Tachon, R., Pichon, V., Barbe Le Borgne, M., and Minet, J.-J., *Comparison of solid-phase extraction sorbents for sample clean-up in the analysis of organic explosives.* J. Chromatogr., A, 2008. **1185**(1): p. 1-8.
122. Berlardi, R. and Pawliszyn, J., *The application of chemically modified fused silica fibers in the extraction of organics from water matrix and their rapid transfer to capillary columns.* Water Pollut. Res. J. Can., 1989. **24**: p. 179.
123. Risticevic, S., Niri, V., Vuckovic, D., and Pawliszyn, J., *Recent developments in solid-phase microextraction.* Anal. Bioanal. Chem., 2009. **393**(3): p. 781-795.
124. Lord, H. and Pawliszyn, J., *Microextraction of drugs.* J. Chromatogr., A, 2000. **902**(1): p. 17-63.
125. Kataoka, H., Lord, H.L., and Pawliszyn, J., *Applications of solid-phase microextraction in food analysis.* J. Chromatogr., A, 2000. **880**(1-2): p. 35-62.
126. Moller, M., Aleksa, K., Walasek, P., Karaskov, T., and Koren, G., *Solid-phase microextraction for the detection of codeine, morphine and 6-monoacetylmorphine in human hair by gas chromatography-mass spectrometry.* Forensic Science International, 2010. **196**(1-3): p. 64-69.
127. Pragst, F., *Application of solid-phase microextraction in analytical toxicology.* Anal. Bioanal. Chem., 2007. **388**(7): p. 1393-1414.
128. Burgot, G. and Pellerin, F., *Microextraction en phase solide (SPME).* Techniques de l'Ingénieur. 2003, P1430.
129. Pawliszyn, J., ed. *Solid phase microextraction - Theory and parctice*. ed. W. VCH. 1997.
130. de Koning, S., Janssen, H.-G., and Brinkman, U., *Modern Methods of Sample Preparation for GC Analysis.* Chromatographia, 2009. **69**(0): p. 33-78.
131. Pawliszyn, J., *Solid Phase Microextraction - Theory and Practice*. Wiley-VCH. 1997, New-York.
132. De Fátima Alpendurada, M., *Solid-phase microextraction: a promising technique for sample preparation in environmental analysis.* Journal of Chromatography A, 2000. **889**(1-2): p. 3-14.
133. Guan, W., Xu, F., Liu, W., Zhao, J., and Guan, Y., *A new poly(phthalazine ether sulfone ketone)-coated fiber for solid-phase microextraction to determine nitroaromatic explosives in aqueous samples.* J. Chromatogr., A, 2007. **1147**(1): p. 59-65.
134. Horng, J.-Y. and Huang, S.-D., *Determination of the semi-volatile compounds nitrobenzene, isophorone, 2,4-dinitrotoluene and 2,6-dinitrotoluene in water using solid-phase microextraction with a polydimethylsiloxane- coated fibre.* J. Chromatogr., A, 1994. **678**(2): p. 313-318.
135. Gaurav, Malik, A.K., and Rai, P.K., *Solid phase microextraction-high performance liquid chromatographic determination of octahydro-1,3,5,7-tetranitro-1,3,5,7-tetrazocine (HMX) and hexahydro-1,3,5-trinitro-1,3,5-triazine*

(RDX) in the presence of sodium dodecyl sulfate surfactant. J. Sep. Sci., 2008. **31**(12): p. 2173-2181.
136. Stahl, D.C. and Tilotta, D.C., *Screening Method for Nitroaromatic Compounds in Water Based on Solid-Phase Microextraction and Infrared Spectroscopy.* Environmental Science & Technology, 2001. **35**(17): p. 3507-3512.
137. Jenkins, T.F., Leggett, D.C., Miyares, P.H., Walsh, M.E., Ranney, T.A., Cragin, J.H., and George, V., *Chemical signatures of TNT-filled land mines.* Talanta, 2001. **54**(3): p. 501-513.
138. Perr, J.M., Furton, K.G., and Almirall, J.R., *Solid phase microextraction ion mobility spectrometer interface for explosive and taggant detection.* J. Sep. Sci., 2005. **28**(2): p. 177-183.
139. Harvey, S.D., *Selective solid-phase microextraction of explosives using fibers coated with the La(III) complex of p-di(4,4,5,5,6,6,6-heptafluoro-1,3-hexanedionyl)benzene.* J. Chromatogr., A, 2008. **1213**(2): p. 110-117.
140. Sarazin, C., Delaunay, N., Varenne, A., Vial, J., Costanza, C., Eudes, V., Minet, J.-J., and Gareil, P., *Identification and determination of inorganic anions in real extracts from pre- and post-blast residues by capillary electrophoresis.* J. Chromatogr., A, 2010. **1217**(44): p. 6971-6978.
141. Sarazin, C., Delaunay, N., Varenne, A., Costanza, C., Eudes, V., and Gareil, P., *Simultaneous capillary electrophoretic analysis of inorganic anions and cations in post-blast extracts of acid–aluminum mixtures.* J. Sep. Sci., 2010. **33**(20): p. 3177-3183.
142. Hennion, M.-C. and Pichon, V., *Immuno-based sample preparation for trace analysis.* J. Chromatogr., A, 2003. **1000**(1-2): p. 29-52.
143. Delaunay-Bertoncini, N., *Développement d'immunoadsorbants à base d'anticorps monoclonaux pour l'extraction sélective de familles de micropolluants organiques contenus dans des matrices complexes - Comparaison avec des polymères à empreinte moléculaire,* Université Paris VI, 2001.
144. Charles, P.T., Gauger, P.R., Patterson, C.H., and Kusterbeck, A.W., *On-Site Immunoanalysis of Nitrate and Nitroaromatic Compounds in Groundwater.* Environmental Science & Technology, 2000. **34**(21): p. 4641-4650.
145. Charles, P.T., Rangasammy, J.G., Anderson, G.P., Romanoski, T.C., and Kusterbeck, A.W., *Microcapillary reversed-displacement immunosensor for trace level detection of TNT in seawater.* Anal. Chim. Acta, 2004. **525**(2): p. 199-204.
146. Charles, P.T., Shriver-Lake, L.C., Francesconi, S.C., Churilla, A.M., Rangasammy, J.G., Patterson, C.H., Deschamps, J.R., and Kusterbeck, A.W., *Characterization and performance evaluation of in vivo and in vitro produced monoclonal anti-TNT antibodies for the detection of TNT.* J. Immunol. Methods, 2004. **284**(1-2): p. 15-26.
147. Anderson, G.P., Lamar, J.D., and Charles, P.T., *Development of a Luminex Based Competitive Immunoassay for 2,4,6-Trinitrotoluene (TNT).* Environmental Science & Technology, 2007. **41**(8): p. 2888-2893.
148. Larsson, A., Angbrant, J., Ekeroth, J., Månsson, P., and Liedberg, B., *A novel biochip technology for detection of explosives - TNT: Synthesis, characterisation and application.* Sensors and Actuators B: Chemical, 2006. **113**(2): p. 730-748.
149. Shankaran, D.R., Kawaguchi, T., Kim, S.J., Matsumoto, K., Toko, K., and Miura, N., *Fabrication of novel molecular recognition membranes by physical*

adsorption and self-assembly for surface plasmon resonance detection of TNT. Int. J. Environ. Anal. Chem., 2007. **87**(10): p. 771 - 781.

150. Kawaguchi, T., Shankaran, D.R., Kim, S.J., Gobi, K.V., Matsumoto, K., Toko, K., and Miura, N., *Fabrication of a novel immunosensor using functionalized self-assembled monolayer for trace level detection of TNT by surface plasmon resonance.* Talanta, 2007. **72**(2): p. 554-560.
151. Bromberg, A. and Mathies, R.A., *Homogeneous Immunoassay for Detection of TNT and Its Analogues on a Microfabricated Capillary Electrophoresis Chip.* Anal. Chem., 2003. **75**(5): p. 1188-1195.
152. Bromberg, A. and Mathies, R.A., *Multichannel homogeneous immunoassay for detection of 2,4,6-trinitrotoluene (TNT) using a microfabricated capillary array electrophoresis chip.* Electrophoresis, 2004. **25**(12): p. 1895-1900.
153. Smith, R.G., D'Souza, N., and Nicklin, S., *A review of biosensors and biologically-inspired systems for explosives detection.* Analyst, 2008. **133**(5): p. 571-584.
154. Altstein, M., Bronshtein, A., Glattstein, B., Zeichner, A., Tamiri, T., and Almog, J., *Immunochemical Approaches for Purification and Detection of TNT Traces by Antibodies Entrapped in a Sol-Gel Matrix.* Anal. Chem., 2001. **73**(11): p. 2461-2467.
155. Hofmann, H.P., Limmer, S., Hornung, V., and Sprinzl, M., *Ni2+-binding RNA motifs with an asymmetric purine-rich internal loop and a G-A base pair.* RNA, 1997. **3**(11): p. 1289-1300.
156. Jenison, R.D., Gill, S.C., and Polisky, B., *High-Resolution Molecular Discrimination by RNA.* Science, 1994. **263**(5152): p. 1425-1429.
157. Bock, L.C., Griffin, L.C., Latham, J.A., Vermaas, E.H., and Toole, J.J., *Selection of single-stranded DNA molecules that bind and inhibit human thrombin.* Nature, 1992. **355**(6360): p. 564-566.
158. Cerchia, L., Ducongé, F., Pestourie, C., Boulay, J., Aissouni, Y., Gombert, K., Tavitian, B., de Franciscis, V., and Libri, D., *Neutralizing Aptamers from Whole-Cell SELEX Inhibit the RET Receptor Tyrosine Kinase.* PLoS Biol., 2005. **3**(4): p. e123.
159. Mairal, T., Cengiz Özalp, V., Lozano Sánchez, P., Mir, M., Katakis, I., and O'Sullivan, C., *Aptamers: molecular tools for analytical applications.* Anal. Bioanal. Chem., 2008. **390**(4): p. 989-1007.
160. Madru, B., Chapuis-Hugon, F., Peyrin, E., and Pichon, V.r., *Determination of Cocaine in Human Plasma by Selective Solid-Phase Extraction Using an Aptamer-Based Sorbent.* Anal. Chem., 2009. **81**(16): p. 7081-7086.
161. Madru, B., Chapuis-Hugon, F., and Pichon, V., *Novel extraction supports based on immobilised aptamers: Evaluation for the selective extraction of cocaine.* Talanta, 2011. **85**(1): p. 616-624.
162. Chapuis-Hugon, F., du Boisbaudry, A., Madru, B., and Pichon, V., *New extraction sorbent based on aptamers for the determination of ochratoxin A in red wine.* Anal. Bioanal. Chem., 2011. **400**(5): p. 1199-1207.
163. Jayasena, S.D., *Aptamers: An Emerging Class of Molecules That Rival Antibodies in Diagnostics.* Clin Chem, 1999. **45**(9): p. 1628-1650.
164. Ehrentreich-Förster, E., Orgel, D., Krause-Griep, A., Cech, B., Erdmann, V., Bier, F., Scheller, F., and Rimmele, M., *Biosensor-based on-site explosives detection using aptamers as recognition elements.* Anal. Bioanal. Chem., 2008. **391**(5): p. 1793-1800.

165. Cerruti, M., Jaworski, J., Raorane, D., Zueger, C., Varadarajan, J., Carraro, C., Lee, S.-W., Maboudian, R., and Majumdar, A., *Polymer-Oligopeptide Composite Coating for Selective Detection of Explosives in Water.* Anal. Chem., 2009. **81**(11): p. 4192-4199.
166. Haupt, K., *Molecularly Imprinted Polymers: The Next Generation.* Anal. Chem., 2003. **75**(17): p. 376 A-383 A.
167. Sellergren, B., *molecularly imprinted polymers - Man-made mimics of antibodies and their applications in analytical chemistry*. techniques and instrumentation in analytical chemistry, ed. i.t.i.a. chem. Vol. 23. 2001, Amsterdam: elsevier.
168. Quaglia, M., Sellergren, B., and De Lorenzi, E., *Approaches to imprinted stationary phases for affinity capillary electrochromatography.* J. Chromatogr., A, 2004. **1044**(1-2): p. 53-66.
169. Bel Hadj-Kaabi, F., *Développement et caractérisation de polymères à empreintes moléculaires pour l'extraction de composés pharmaceutiques à l'état de traces dans les fluides biologiques. Miniaturisation du format de synthèse et couplage en-ligne à la nano-chromatographie*, Thèse de doctorat, UPMC, 2008.
170. Chapuis, F., *Immunoadsorbants et polymères à empreintes moléculaires pour l'extraction sélective de composés de matrices environnementales et biologiques: synthèse et caractérisation en vue de leur intégration au système d'analyse*, Thèse de doctorat, UPMC, 2004.
171. Díaz-García, M.E. and Laínño, R.B., *Molecular Imprinting in Sol-Gel Materials: Recent Developments and Applications.* Microchim. Acta, 2005. **149**(1): p. 19-36.
172. Gupta, R. and Kumar, A., *Molecular imprinting in sol-gel matrix.* Biotechnol. Adv., 2008. **26**(6): p. 533-547.
173. C. J. Brinker, G.W.S.E., *Sol-gel science*, ed. I. Academic Press. 1990, San Diego.
174. Da Costa Silva, R.G. and Augusto, F., *Sol-gel molecular imprinted ormosil for solid-phase extraction of methylxanthines.* J. Chromatogr., A, 2006. **1114**(2): p. 216-223.
175. Jiang, X., Tian, W., Zhao, C., Zhang, H., and Liu, M., *A novel sol-gel-material prepared by a surface imprinting technique for the selective solid-phase extraction of bisphenol A.* Talanta, 2007. **72**(1): p. 119-125.
176. Olwill, A., Hughes, H., O'Riordain, M., and McLoughlin, P., *The use of molecularly imprinted sol-gels in pharmaceutical separations.* Biosens. Bioelectron., 2004. **20**(6): p. 1045-1050.
177. Farrington, K. and Regan, F., *Molecularly imprinted sol gel for ibuprofen: An analytical study of the factors influencing selectivity.* Talanta, 2009. **78**(3): p. 653-659.
178. Chapuis, F., Pichon, V., Lanza, F., Sellergren, B., and Hennion, M.C., *Retention mechanism of analytes in the solid-phase extraction process using molecularly imprinted polymers: Application to the extraction of triazines from complex matrices.* J. Chromatogr., B, 2004. **804**(1): p. 93-101.
179. Chapuis, F., Mullot, J.-U., Pichon, V., Tuffal, G., and Hennion, M.-C., *Molecularly imprinted polymers for the clean-up of a basic drug from environmental and biological samples.* J. Chromatogr., A, 2006. **1135**(2): p. 127-134.
180. Trammell, S.A., Zeinali, M., Melde, B.J., Charles, P.T., Velez, F.L., Dinderman, M.A., Kusterbeck, A., and Markowitz, M.A., *Nanoporous Organosilicas as*

Preconcentration Materials for the Electrochemical Detection of Trinitrotoluene. Anal. Chem., 2008. **80**(12): p. 4627-4633.
181. Bunte, G., Heil, M., Röseling, D., Hürttlen, J., Pontius, H., and Krause, H., *Trace Detection of Explosives Vapours by Molecularly Imprinted Polymers for Security Measures.* Propellants, Explos., Pyrotech., 2009. **34**(3): p. 245-251.
182. Bunte, G., Hürttlen, J., Pontius, H., Hartlieb, K., and Krause, H., *Gas phase detection of explosives such as 2,4,6-trinitrotoluene by molecularly imprinted polymers.* Anal. Chim. Acta, 2007. **591**(1): p. 49-56.
183. Xie, C., Zhang, Z., Wang, D., Guan, G., Gao, D., and Liu, J., *Surface Molecular Self-Assembly Strategy for TNT Imprinting of Polymer Nanowire/Nanotube Arrays.* Anal. Chem., 2006. **78**(24): p. 8339-8346.
184. Gao, D., Zhang, Z., Wu, M., Xie, C., Guan, G., and Wang, D., *A Surface Functional Monomer-Directing Strategy for Highly Dense Imprinting of TNT at Surface of Silica Nanoparticles.* J. Am. Chem. Soc., 2007. **129**(25): p. 7859-7866.
185. Qu, Y., Liu, Y., Zhou, T., Shi, G., and Jin, L., *Electrochemical Sensor Prepared from Molecularly Imprinted Polymer for Recognition of 1,3-Dinitrobenzene (DNB).* Chin. J. Chem., 2009. **27**(10): p. 2043-2048.
186. Stringer, R.C., Gangopadhyay, S., and Grant, S.A., *Detection of Nitroaromatic Explosives Using a Fluorescent-Labeled Imprinted Polymer.* Anal. Chem., 2010. **82**(10): p. 4015-4019.
187. Alizadeh, T., Zare, M., Ganjali, M.R., Norouzi, P., and Tavana, B., *A new molecularly imprinted polymer (MIP)-based electrochemical sensor for monitoring 2,4,6-trinitrotoluene (TNT) in natural waters and soil samples.* Biosens. Bioelectron., 2010. **25**(5): p. 1166-1172.
188. Roeseling, D., Tuercke, T., Krause, H., and Loebbecke, S., *Microreactor-Based Synthesis of Molecularly Imprinted Polymer Beads Used for Explosive Detection.* Org. Process Res. Dev., 2009. **13**(5): p. 1007-1013.
189. Xie, C., Liu, B., Wang, Z., Gao, D., Guan, G., and Zhang, Z., *Molecular Imprinting at Walls of Silica Nanotubes for TNT Recognition.* Anal. Chem., 2008. **80**(2): p. 437-443.
190. Holthoff, E.L., Stratis-Cullum, D.N., and Hankus, M.E., *A Nanosensor for TNT Detection Based on Molecularly Imprinted Polymers and Surface Enhanced Raman Scattering.* Sensors, 2011. **11**(3): p. 2700-2714.
191. Walker, N.R., Linman, M.J., Timmers, M.M., Dean, S.L., Burkett, C.M., Lloyd, J.A., Keelor, J.D., Baughman, B.M., and Edmiston, P.L., *Selective detection of gas-phase TNT by integrated optical waveguide spectrometry using molecularly imprinted sol-gel sensing films.* Anal. Chim. Acta, 2007. **593**(1): p. 82-91.
192. Edmiston, P.L., Campbell, D.P., Gottfried, D.S., Baughman, J., and Timmers, M.M., *Detection of vapor phase trinitrotoluene in the parts-per-trillion range using waveguide interferometry.* Sens. Actuators, B, 2010. **143**(2): p. 574-582.
193. Saloni, J., Dasary, S., Anjaneyulu, Y., Yu, H., and Hill, G., *Molecularly imprinted polymers for detection of explosives: computational study on molecular interactions of 2,6-dinitrotoluene and methacrylic acid complex.* Struct. Chem., 2010. **21**(6): p. 1171-1184.
194. Saloni, J., Lipkowski, P., Dasary, S.S.R., Anjaneyulu, Y., Yu, H., and Hill Jr, G., *Theoretical study of molecular interactions of TNT, acrylic acid, and ethylene glycol dimethacrylate - Elements of molecularly imprinted polymer modeling process.* Polymer, 2011. **52**(4): p. 1206-1216.

195. Pichon, V., *Selective sample treatment using molecularly imprinted polymers.* J. Chromatogr., A, 2007. **1152**(1-2): p. 41-53.
196. Maisonnette, C., *Développement de phases pour l'extraction sélective de traces de biomarqueurs urinaires d'exposition aux hydrocarbures aromatiques polycycliques. Caractérisation d'immunoadsorbants et de polymères à empreintes moléculaires*, museum national d'histoires naturelles, 2006.
197. Zhang, X., Zhang *Effect of inhibitors on atom transfer radical polymerisation of MMA.* Chinese journal of chemistry, 2005. **23**: p. 913-917.
198. Bratin, K., Kissinger, P.T., Briner, R.C., and Bruntlett, C.S., *Determination of nitro aromatic, nitramine, and nitrate ester explosive compounds in explosive mixtures and gunshot residue by liquid chromatography and reductive electrochemical detection.* Anal. Chim. Acta, 1981. **130**(2): p. 295-311.
199. Wang, J., Lu, F., MacDonald, D., Lu, J., Ozsoz, M.E.S., and Rogers, K.R., *Screen-printed voltammetric sensor for TNT.* Talanta, 1998. **46**(6): p. 1405-1412.
200. Wang, J., Bhada, R.K., Lu, J., and MacDonald, D., *Remote electrochemical sensor for monitoring TNT in natural waters.* Anal. Chim. Acta, 1998. **361**(1-2): p. 85-91.
201. Zhang, H.-X. and Zhang, J.-H., *Voltammetric detection of nitroaromatic compounds using carbon-nanomaterials-based electrodes.* Can. J. Chem., 2011. **89**(1): p. 8-12.
202. Zang, J., Guo, C.X., Hu, F., Yu, L., and Li, C.M., *Electrochemical detection of ultratrace nitroaromatic explosives using ordered mesoporous carbon.* Anal. Chim. Acta, 2011. **683**(2): p. 187-191.
203. Galik, M., O'Mahony, A.M., and Wang, J., *Cyclic and Square-Wave Voltammetric Signatures of Nitro-Containing Explosives.* Electroanalysis, 2011. **23**(5): p. 1193-1204.
204. Polsky, R., Stork, Christopher L., Wheeler, David R., Steen, William A., Harper, Jason C., Washburn, Cody M., and Brozik, Susan M., *Multivariate Analysis for the Electrochemical Discrimination and Quantitation of Nitroaromatic Explosives.* Electroanalysis, 2009. **21**(3-5): p. 550-556.
205. Wang, J., Hocevar, S.B., and Ogorevc, B., *Carbon nanotube-modified glassy carbon electrode for adsorptive stripping voltammetric detection of ultratrace levels of 2,4,6-trinitrotoluene.* Electrochem. Commun., 2004. **6**(2): p. 176-179.
206. Guo, C.X., Lei, Y., and Li, C.M., *Porphyrin Functionalized Graphene for Sensitive Electrochemical Detection of Ultratrace Explosives.* Electroanalysis, 2011. **23**(4): p. 885-893.
207. Krausa, M., Doll, J., Schorb, K., Böke, W., and Hambitzer, G., *Fast electrochemical Detection of Nitro- and Aminoaromates in Soils and Liquids.* Propellants, Explos., Pyrotech., 1997. **22**(3): p. 156-159.
208. Krausa, M. and Schorb, K., *Trace detection of 2,4,6-trinitrotoluene in the gaseous phase by cyclic voltammetry.* J. Electroanal. Chem., 1999. **461**(1-2): p. 10-13.
209. Honeychurch, K.C., Hart, J.P., Pritchard, P.R.J., Hawkins, S.J., and Ratcliffe, N.M., *Development of an electrochemical assay for 2,6-dinitrotoluene, based on a screen-printed carbon electrode, and its potential application in bioanalysis, occupational and public health.* Biosensors and Bioelectronics, 2003. **19**(4): p. 305-312.
210. Riskin, M., Tel-Vered, R., Bourenko, T., Granot, E., and Willner, I., *Imprinting of Molecular Recognition Sites through Electropolymerization of Functionalized*

Au Nanoparticles: Development of an Electrochemical TNT Sensor Based on π-Donor−Acceptor Interactions. J. Am. Chem. Soc., 2008. **130**(30): p. 9726-9733.

211. Chuang, M.-C., Windmiller, J.R., Santhosh, P., Ramírez, G.V., Galik, M., Chou, T.-Y., and Wang, J., *Textile-based Electrochemical Sensing: Effect of Fabric Substrate and Detection of Nitroaromatic Explosives.* Electroanalysis, 2010. **22**(21): p. 2511-2518.
212. Pon Saravanan, N., Venugopalan, S., Senthilkumar, N., Santhosh, P., Kavita, B., and Gurumallesh Prabu, H., *Voltammetric determination of nitroaromatic and nitramine explosives contamination in soil.* Talanta, 2006. **69**(3): p. 656-662.
213. Wang, J., Thongngamdee, S., and Kumar, A., *Highly Stable Voltammetric Detection of Nitroaromatic Explosives in the Presence of Organic Surfactants at a Polyphenol-Coated Carbon Electrode.* Electroanalysis, 2004. **16**(15): p. 1232-1235.
214. de Sanoit, J., Vanhove, E., Mailley, P., and Bergonzo, P., *Electrochemical diamond sensors for TNT detection in water.* Electrochim. Acta, 2009. **54**(24): p. 5688-5693.
215. Fu, X.-C., Chen, X., Wang, J., Liu, J.-H., and Huang, X.-J., *Amino functionalized mesoporous silica microspheres with perpendicularly aligned mesopore channels for electrochemical detection of trace 2,4,6-trinitrotoluene.* Electrochim. Acta, 2010. **56**(1): p. 102-107.
216. Lipnick, R., *environmental chemistry : emphasis on EPA and EPA supported research.* Symposia papers presented before the division of environmental chemistry - American Chemical Society. **40**(2): p. 766-768.
217. Chen, W., Wang, Y., Brückner, C., Li, C.M., and Lei, Y., *Poly[meso-tetrakis(2-thienyl)porphyrin] for the sensitive electrochemical detection of explosives.* Sensors and Actuators B: Chemical, 2010. **147**(1): p. 191-197.
218. Chen, J.-C., Shih, J.-L., Liu, C.-H., Kuo, M.-Y., and Zen, J.-M., *Disposable Electrochemical Sensor for Determination of Nitroaromatic Compounds by a Single-Run Approach.* Anal. Chem., 2006. **78**(11): p. 3752-3757.

Abréviations et notations

1,2-DNB : 1,2-dinitrobenzene

1,3,5-TNB : 1,3,5-trinitrobenzene

1,3-DNB : 1,3-dinitrobenzene

1,4-DNB : 1,4-dinitrobenzene

2,3-DNT : 2,3-dinitrotoluène

2,4,6-TNP : 2,4,6-trinitrophénol

2,4,6-TNT : 2,4,6-Trinitrotoluène

2,4-CNT : 2-chloro-4-nitrotoluène

2,4-DANT : 2,4-diaminonitrotoluène

2,4-DAT : 2,4-diaminotoluène

2,4-DNBA : acide 2,4-dinitrobenzoïque

2,4-DNBS : 2,4-dinitrobenzoïque

2,4-DNT : 2,4-dinitrotoluène

2,4-DNP : 2,4-dinitrophénol

2,5-DNT : 2,5-dinitrotoluène

2,6-DANT : 2,6-diaminonitrotoluène

2,6-DNT : 2,6-dinitrotoluène

2A4NT : 2-amino-4-nitrotoluène

2A6NT : 2-amino-6-nitrotoluène

2ADNT : 2-amino-4,6-dinitrotoluène

2-NBA : 2-nitrobenzaldéhyde

2-NT : 2-nitrotoluène

2-VP : 2-vinylpyridine

3,4-DNT : 3,4-dinitrotoluène

3,5-DNA : 3,5-dinitroaniline

3,5-DNP : 3,5-dinitrophénol

3,5-DNT : 3,5-dinitrotoluène

3-NBA : 3-nitrobenzaldéhyde

3-NT : 3-nitrotoluène

4A2NT : 4-amino-2-nitrotoluène

4ADNT : 4-amino-2,6-dinitrotoluène

4-DATNB : 4-décylamine trinitrobenzène

4-NBA : 4-nitrobenzaldéhyde

4-NT : 4-nitrotoluène

5-NIPA-DME : acide diméthyl ester 5-nitroisophtalique

AA : acrylamide

ACN : acétonitrile

AcAc : acide acétique

Ag : argent

AgCl : chlorure d'argent

AIBN : 2,2'-azo-bis-isobutyronitrile

AN : acrylonitrile

APCI : ionisation chimique à pression atmosphérique

APPI : photoionisation à pression atmosphérique

APTES : aminopropyltriethoxysilane

APTMS : aminopropyltriméthoxysilane

AR: agent réticulant

Au : or

BTEB : bis(trimethoxysilylethyl)benzene

C : carbone

C1-triEOS : méthyltriéthoxysilane

CCM : chromatographie sur couche mince

C_2Cl_4 : perchloroéthylène

CCl_4 : tétrachlorométhane

CE : contre électrode

CH_3 : méthyle

$CHCl_3$: chloroforme

CN : cyanopropyle

CPE : extraction au point trouble (cloud point extraction)

CS_2 : sulfure de carbone

CTAB : cetyl triméthylammonium bromide

Cw : carbowax

Cx : carboxen

DCM : dichlorométhane

DEGN : diéthylène glycol dihydrate

d.i. : diamètre intérieur

dim : dimensions

DLLME : microextraction liquide-liquide par dispersion (dispersive liquid-liquid microextraction)

DMF : diméthylformamide

DMNB : 2,3-diméthyl-2,3-dinitrobutane

Dp : diamètre des particules

DPV : voltammétrie à ondes pulsées

DVB : divynilbenzene

E : élution

EC : électrophorèse capillaire

ECD : détecteur à capture d'électron

ECNI : détecteur à capture d'électron par ionisation négative

ECS : électrode au calomel saturé

ED : détection électrochimique

EGDMA : éthylene glycol diméthacrylate

EGDN : ethylène glycol dintrate

ELL : extraction liquide-liquide

ER : électrode de référence (RE)

ESI : electrospray

ET : électrode de travail (WE)

EtOH : éthanol

FID : détecteur à ionisation de flamme

GC : chromatographie gazeuse

H_2SO_4 : acide sulfurique

HCl : acide chlorydrique

HF-LPME : microextraction en phase liquide assistée par fibre creuse (Hollow Fiber-liquid phase microextraction)

HMX : cyclotétraméthylènetétramine ou octogène (High Melting point eXplosive)

HNS : 1,3,5-Trinitro-2-[2(2,4,6-trinitrophenyl)-vinyl]benzene

HPLC : chromatographie en Phase Liquide Haute Performance

IC : chromatographie ionique

IF : facteur d'impression (Imprinted Factor)

IMS : spectrométrie à mobilité d'ions

IPA : isopropanol

IR : infrarouge

IS : immunoadsorbant

k : facteur de rétention

K : coefficient de partage

KCl : chlorure de potassium

k_I : facteur de rétention du support imprimé

k_{NI} : facteur de rétention du support non imprimé

L : lavage

LC : chromatographie liquide

LCPP : Laboratoire Central de la Préfecture de Police de Paris

LDD : limite de détection

LDQ : limite de quantification

LSABM : Laboratoire des Sciences Analytiques, Bioanalytiques et Miniaturisation

Log : logarithme décimal

m : masse

M : monomère

MA : méthacrylate

MAA : acide méthacrylique (Methacrylic Acid)

MAAM : méthacrylamide

MAAP : methacrylamidoantipyrine

MeOH : méthanol

MIP : polymère à empreinte moléculaire (Molecularly Imprinted Polymer)

MIS : silice à empreinte moléculaire (Molecularly Imprinted Silica)

MPTMS : 3-mercaptopropyltriméthoxysilane

MS : spectrométrie de masse (*Mass Spectrométry*)

MS^2 : spectrométrie de masse en tandem

Na_2HPO_4 : hydrogénophosphate de sodium

NaCl : chlorure de sodium

NB : nitrobenzène

NC : nitrocellulose

NG : nitroglycérine

NH_4TFAc : trifluoro acétate d’ammonium

NIP : polymère non imprimé (Non Imprinted Polymer)

NIS : silice non imprimé (Non Imprinted Silica)

NO_2 : nitro

n.r. : non renseigné

P : percolation

PA : polyacrylamide

PAED : détection électrochimique photoassistée

PBS : tampon phosphate salin

PDMS polydiméthylsiloxane

PETN : tétranitrate de pentaérythrol ou pentrite

PGC : carbone graphite poreux

Poct : coefficient de partage octanol/eau

polyHFBA : poly(2,2,3,4,4,4-hexafluorobutylacrylate)

PPESK : poly(phtalazine ether sulfone ketone)

Pt : platine

PTMS : phényltriméthoxysilane

PVP : polyvinylpyridine

Qté : quantité

RAM : matériel à accès restreint

RDX : cyclotriméthylènetriamine ou hexogène

Ref : référence

RMN : Résonance magnétique nucléaire

SBB-RPS : copolymère de poly(styrènedivylbenzène)

SDME : microextraction sur simple goutte (single drop microextraction)

SDS : Dodécysulfate de sodium

SELEX : Systématic evolution of ligands by exponential enrichment

SEX : 1-acetyloctahydro-3,5,7-tétrazocine

SPE : extraction sur Phase Solide

SPME : microextraction sur phase solide (solid phase microextraction)

Sty : styrène

T : template

t_0 : temps mort

TAX : 1-acetylhexahydro-3,5-dinitro-1,3,5-triazine

TBABr : bromure de tétrabutyl ammonium

TBAF : tetrabutylammonium fluoride

TBAP : perchlorate de tétrabutylammonium

T_{cp} : température de point trouble

TEA : détecteur à chimiluminescence

TEOS : tétraéthoxysilane

TMOS : tétraméthoxysilane

THF : tétrahydrofurane

TMSE-Pyr : 2-(trimethoxysilylethyl)pyridine

Tol : toluène

TPR : résine

t_r : temps de rétention

TRIM : triméthylolpropane triméthacrylate

TSD : détecteur thermoionique spécifique

Ty : tétryl

UV : ultraviolet

V_0 : volume mort

VC : voltammétrie cyclique

V_f : volume de fin de fixation

VL : voltammétrie linéaire

V_r : volume de rétention

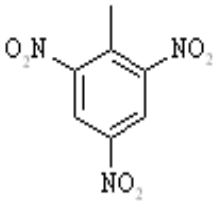
z : charge

Annexe 1 : Analytes étudiés

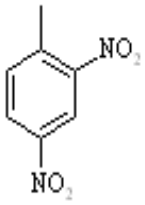
Formules semi-développées des composés étudiés

Nitroaromatiques

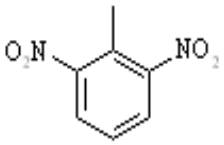
2,4,6-trinitrotoluène (2,4,6-TNT)



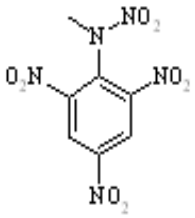
2,4-dinitrotoluène (2,4-DNT)



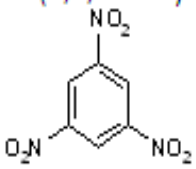
2,6-dinitrotoluène (2,6-DNT)



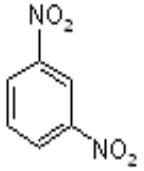
tétryl



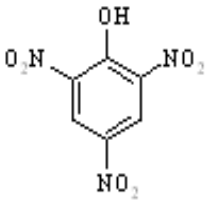
1,3,5-trinitrobenzène (1,3,5-TNB)



1,3-dinitrobenzène (1,3-DNB)

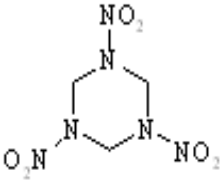


2,4,6-trinitrophénol (2,4,6-TNP)

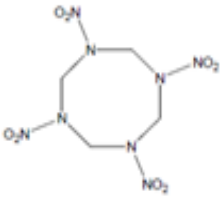


Nitramines

Hexogène (RDX)

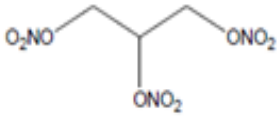


Octogène (HMX)

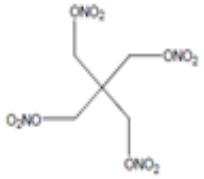


Esters nitrés

Nitroglycérine (NG)



Pentrite (PETN)



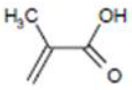
Propriété physico-chimiques

nom	**état**	**M** (g/mol)	**logP**	**Solubilité** (mg/L)	**Point de fusion** (°C)	**m_{vol}** (g/cm^3)	**Pression de vapeur** (Torr)
Nitroaromatiques							
2,4,6-TNT	Solide jaune	227,13	1,60	130	81	1,65	$5{,}8.10^{-6}$
2,4-DNT		182,15	1,98	270	70	1,52	$1{,}1.10^{-4}$
2,6-DNT		182,15	2,10	206	66	1,32	$5{,}7.10^{-4}$
1,3,5-TNB		213,11	1,18	34	123	1,76	$6{,}4.10^{-6}$
1,3-DNB		168,11	1,49	460	90	1,58	$5{,}7.10^{-4}$
2,4,6-TNP		229,10	1,10	14000	122,5	1,76	
Tétryl		287,15	1,64	80	129	1,73	$5{,}7.10^{-9}$
Nitramines							
RDX	Solide blanc	222,12	0,87	42	205,5	1,82	$4{,}6.10^{-9}$
HMX		296,16	0,82	5	283	1,91	$3{,}3.10^{-14}$
Esters Nitrés							
NG	Liquide	227,09	1,62	1500	/	1,6	$2{,}3.10^{-4}$
PETN	Solide cristallisé fin	316,14	2,38	43	141	1,77	$1{,}4.10^{-8}$

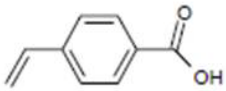
Annexe 2 : Monomères et agents réticulant

Monomères fonctionnels usuels pour la synthèse de MIP :

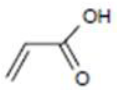
Monomères acides :



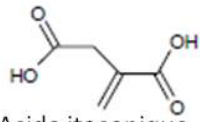
Acide méthacrylique (MAA)



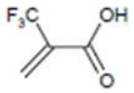
Acide p-vinylbenzoïque



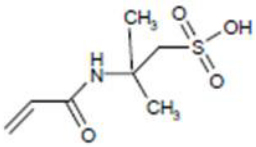
Acide acrylique



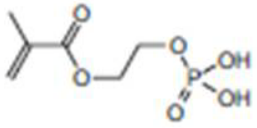
Acide itaconique



Acide Trifluorométhylacrylique (TfMAA)

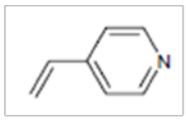


Acide sulfonique 2-acrylamido-2-méthyl-1-propène (AMPSA)

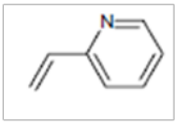


2-(méthacryloyloxy)éthyle phosphate

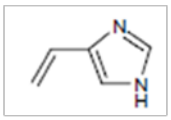
Monomères basiques :



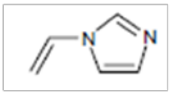
4-vinylpyridine (4-VP)



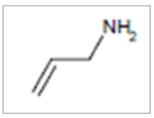
2-vinylpyridine (2-VP)



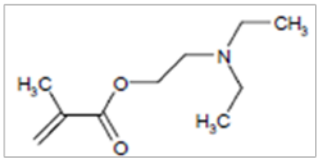
4-(5)-vinylimidazole



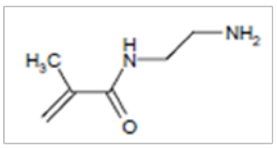
1-vinylimidazole



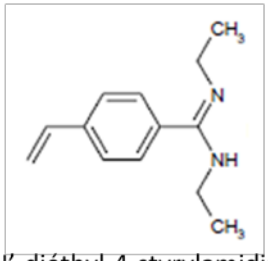
allylamine



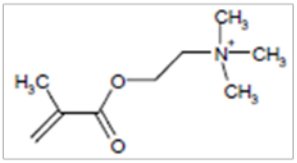
N,N'-diéthyl aminoéthyl méthacrylamide (DEAEM)



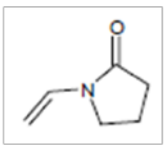
N-(2-aminoéthyl)-méthacrylamide



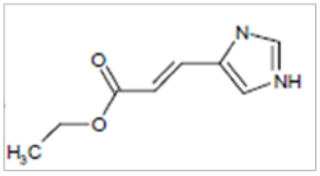
N,N'-diéthyl-4-styrylamidine



N,N,N-triméthyl aminoéthylméthacrylate

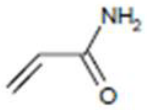


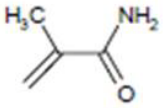
N-vinylpyrrolidone

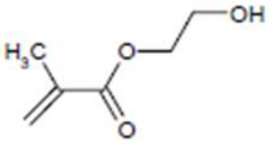


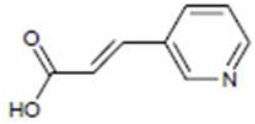
Ester éthyle urocanique

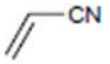
Monomères neutres :

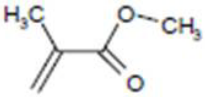

acrylamide

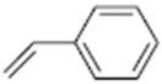

méthacrylamide


2-hydroxyethyl méthacrylate (2-HEMA)


Acide trans-3-(3-pyridyl)-acrylique

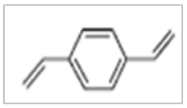

Acrylonitrile AN)

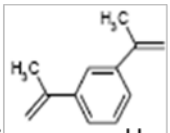

Méthyl méthacrylate

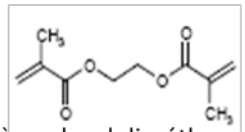

styrène

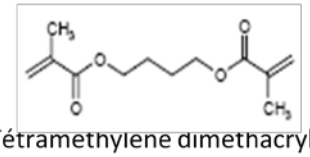

éthylstyrène

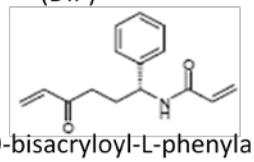
<u>Agents réticulant usuels pour la synthèse de MIP :</u>

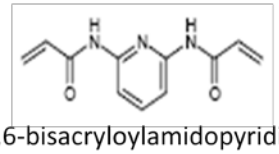

Divinylbenzène (DVB)

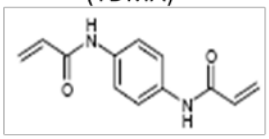

1,3-diisopropenyl benzène (DIP)

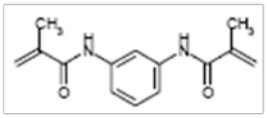

Éthylène glycol diméthacrylate (EDGMA)

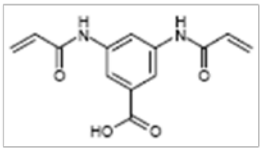

Tétramethylene dimethacrylate (TDMA)

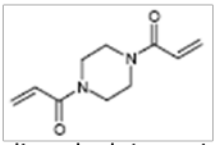

N,O-bisacryloyl-L-phenylalaninol

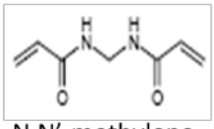

2,6-bisacryloylamidopyridine

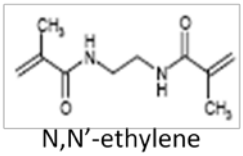

1,4-phénylene diacrylamide

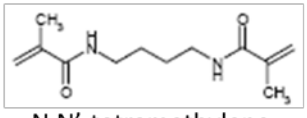

N,N'-1,3-phenylenebis (2-methyl-2-propenamide)

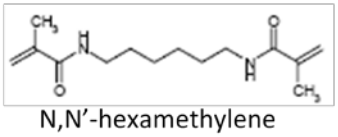

Acide 3,5-bisacrylamidobenzoique

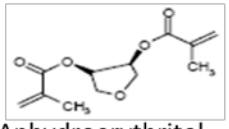

1,4-diacryloylpiperazine (DAP)

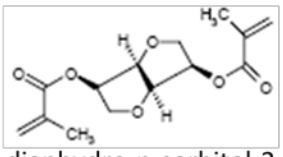

N,N'-methylene Bisacrylamide (MDAA)


N,N'-ethylene Bisacrylamide

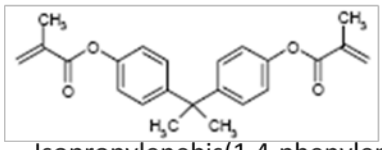

N,N'-tetramethylene Bismethacrylamide


N,N'-hexamethylene Bismethacrylamide

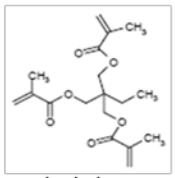

Anhydroerythritol dimethacrylate



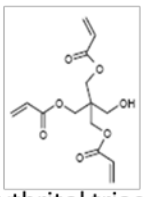
1,4;3,6-dianhydro-p-sorbitol-2,5-dimethacrylate



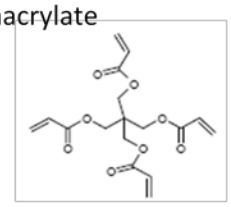
Isopropylenebis(1,4-phenylene) dimethacrylate



Trimethylolpropane trimethacrylate (TRIM)



Pentaerythritol triacrylate (PETRA)

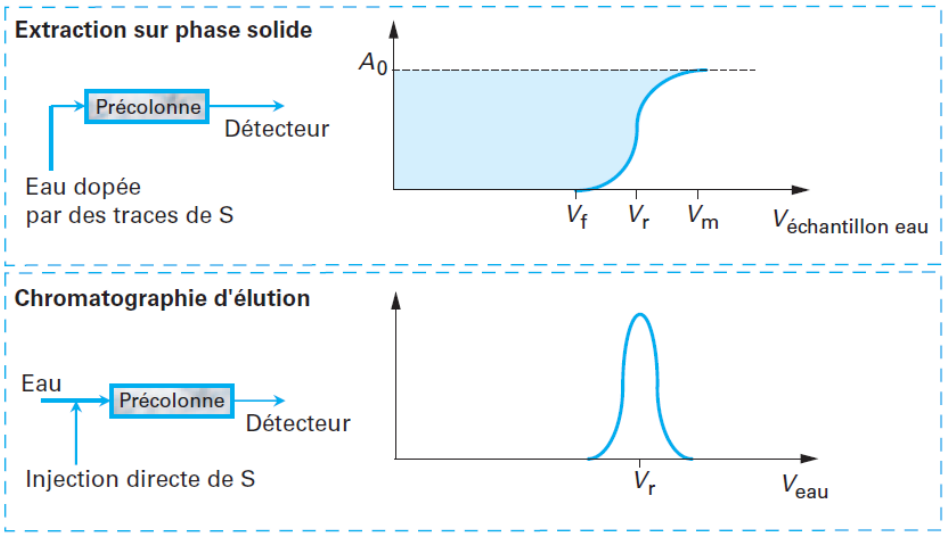


Pentaerythritol tetraacrylate (PETRA)

Annexe 3 : Volume de fin de fixation

Lors de la préconcentration d'un analyte, le facteur d'enrichissement doit être maximal. Pour cela, il est nécessaire d'avoir un rendement proche de 100 % tout en ayant un rapport entre le volume de percolation et le volume d'élution le plus grand possible. Cependant, ce rendement maximal n'est pas toujours atteint notamment lorsque la rétention du soluté par le support est insuffisante et que celui-ci est élué par le solvant de l'échantillon. Le solvant provoque alors la migration des composés dans le support au fur et à mesure de la percolation de l'échantillon jusqu'à ce que ceux-ci se retrouvent dans la fraction de percolation. Le volume à partir duquel les solutés cibles sont élués par le solvant de l'échantillon est appelé volume de fin de fixation (V_f), la percolation d'un volume supérieur à cette valeur entraînera une chute des rendements d'extraction. Ce volume peut donc être relié à l'affinité du soluté pour l'adsorbant. En effet, pour avoir un grand volume de fin de fixation, il est nécessaire de choisir un adsorbant présentant une plus grande affinité pour le soluté que le solvant de l'échantillon.

Pour être certain que le V_f n'est pas responsable d'un faible rendement, il est nécessaire de s'assurer que les volumes d'échantillon percolés soient toujours inférieurs à cette valeur en la déterminant avant même de mettre au point une procédure d'extraction. Pour cela, il existe deux méthodes dont la première consiste à réaliser une analyse frontale. Un échantillon dopé avec le soluté cible est percolé en continu dans une précolonne contenant la phase stationnaire et installée en amont d'un dispositif d'absorption UV. Le composé est dans un premier temps retenu sur le support, le signal du détecteur est donc nul. Cependant, dès que le signal atteint 1 % de l'absorbance initiale de l'échantillon, cela signifie que le composé commence à être élué et par conséquent que le volume de fin de fixation est atteint. La poursuite de la percolation de l'échantillon va permettre l'augmentation progressive de l'absorbance et donc de la concentration en soluté à la sortie de la colonne jusqu'à atteindre une valeur constante. Le front d'élution a ainsi une allure de courbe bi-logarithmique présenté sur la figure dont le point d'inflexion correspond au volume de rétention qui aurait été obtenu si le soluté avait été injecté sur la même précolonne en chromatographie d'élution.



Analogie entre la SPE et la chromatographie d'élution [89]

Devant la difficulté de mise en œuvre de cette méthode, elle reste peu utilisée et est remplacée par une estimation du V_f obtenu par analogie entre la SPE et la chromatographie liquide. Pour cela, le V_f doit être assimilé, en première approximation au volume de rétention ($Vr = V_0(1 + k)$), qui peut être déterminé en utilisant une précolonne contenant l'adsorbant, comme précédemment, mise à la place de la colonne de séparation dans une chaîne chromatographique. La phase mobile est alors composée du même solvant que l'échantillon pour connaître le V_f dans ces conditions d'extraction.

Dans le cas où le volume de fin de fixation déterminé pour un support donné est inférieur au volume d'échantillon à percoler durant l'étape de SPE, l'alternative est d'augmenter la quantité de phase stationnaire. Ceci a pour effet d'augmenter le volume d'échantillon percolable sans affecter la rétention des analytes. Des cartouches contenant de 20 mg à 1 g de support sont disponibles sur le marché pour permettre l'utilisation de la quantité optimale de support. En effet, une quantité de phase stationnaire trop grande aura pour conséquence d'utiliser un volume de solvant d'élution plus important, diminuant le facteur d'enrichissement ou un solvant plus éluant pas toujours compatible avec l'analyse chromatographique et qui risque d'entraîner d'avantage d'interférents.

Annexe 4 : Conditions d'analyses en LC/UV

Description de la chaîne chromatographique utilisée pour cette étude

Pompe : LC-10AD, Shimadzu

Passeur automatique : Waters 715 Ultra Wisp

Détecteur : SPD-M10A, Shimadzu

Logiciel : Shimadzu LCsolution (version 1.22 SP1.2 (SEG))

Longueurs d'onde d'acquisition :

2,4,6-TNT, Tétryl, 1,3,5-TNB et HMX : 228 nm

2,4-DNT et RDX : 247 nm

2,6-DNT, 1,3-DNB : 237 nm

NG et PETN : 205 nm

Description des différentes conditions testées lors de la mise au point des conditions chromatographiques

Conditions d'analyse pour les nitroaromatiques sur la colonne de PGC :

Colonne : PGC (hypercarb, Thermo), 100 mm x 2,1mm d.i., dp = 5 µm.

Dimensions de la colonne :

Eluant A : eau/ACN (70/30, v/v)

Eluant B : ACN/IPA (40/60, v/v)

Gradient :

Temps (min)	0	3	20	21	40
% B	55	55	70	55	55

Température du four : 70°C

Débit de la phase mobile : 0,2 mL/min

Volume injecté : 10 µL

Conditions d'analyse pour les nitroaromatiques sur colonne diphényle :

Colonne : XRs diphényle (Varian), 100 mm x 3mm d.i., dp = 5 µm.

Phase mobile : eau/ACN (65/35, v/v)

Température du four : 28°C

Débit de la phase mobile : 0,4 mL/min

Volume injecté : 20 µL

Conditions d'analyse possible pour les nitroaromatiques sur une colonne C18 :

Colonne : YMC pack J'sphere H80 (C18), 150 mm x 3mm d.i., dp = 4 µm.

Phase mobile : Méthanol/eau (62/38, v/v)

Température du four : 28°C

Débit de la phase mobile : 0,4 mL/min

Volume injecté : 10 µL

Conditions finales d'analyse pour les explosifs nitrés utilisées:

Colonne : Symmetry Shield RP18, 250 mm x 3mm d.i., dp = 5 µm.

Phase mobile : Méthanol/eau (60/40, v/v)

Température du four : 28°C

Débit de la phase mobile : 0,4 mL/min

Volume injecté : 20 µL

Annexe 5 : Analyse des nitroaromatiques par LC/MS

Description de l'appareillage :

Pompe : Varian 212 LC

Passeur automatique : Varian Prostar 410

Détecteur : MS Varian 320 MS

Logiciel : MS workstation

Paramètres de séparation :

Colonne : Symmetry Shield RP18, 250 mm x 3mm d.i., dp = 5 µm.

Phase mobile : Méthanol/eau (60/40, v/v)

Température du four : 28°C

Débit de la phase mobile : 0,4 mL/min

Volume injecté : 20 µL

Paramètres d'ionisation :

Source d'ionisation : APCI en mode négatif

Gaz de vaporisation : 17 psi, 350°C

Gaz nébulisant : 60 psi

Gaz auxiliaire : 12 psi, 150°C

Courant de décharge : 5 µA

Tension du capillaire : -50V excepté pour le 2,4-DNT à -30V

Analyte	Ion père (m/z)	Attribution de l'ion père	Ion fils (m/z)	Attribution de l'ion fils	Energie de collision (eV)
2,4-DNT	180,6	$[M-H]^-$	134,7	$[M-H-NO_2]^-$	20
2,6-DNT	181,8	$M^{\cdot -}$	151,5	$[M-NO]^-$	5
2,4,6-TNT	226,7	$M^{\cdot -}$	209,5	$[M-OH]^-$	10
Ty	240,7	$[P-H]^-$*	180,5	$[P-CH_2-NO_2]^-$	5
1,3-DNB	167,7	$M^{\cdot -}$	137,5	$[M-NO]^-$	5
1,3,5-TNB	212,6	$M^{\cdot -}$	182,5	$[M-NO]^-$	15

(*P est le produit de dégradation du tétryl : la N-méthylpicramide)

Annexe 6 : Procédure de synthèses des supports imprimés étudiés

Procédure de synthèses des MIP par voie radicalaire :

Le tableau ci-dessous présente les réactifs utilisés pour chacune des synthèses de MIP sachant que le ratio molaire *template*/monomère/agent réticulant est de 1/4/20. Un NIP est systématiquement synthétisé en parallèle sans introduire le *template*.

MIP	template	monomère	Agent réticulant	solvant
MIP 1	2,4-DNT	2-VP	EGDMA	ACN
MIP 2	2,4-DNT	MAA	EGDMA	ACN
MIP 3	2,4-DNT	AA	EGDMA	ACN
MIP 4	2,4-DNT	MAA	EGDMA	DCM
MIP 5	2,4-DNT	AA	EGDMA	Chloroforme
MIP 6	2,4-DNT	MAA	DVB	DCM
MIP 7	2,4-DAT	Styrène	DVB	MeOH

Dans un premier temps, tous les réactifs nécessaires à la synthèse sont introduits dans un flacon : le *template* (0,5 mmol), le monomère fonctionnel (2 mmol), l'agent réticulant (10 mmol), le solvant (2,8 mL pour l'ACN, le MeOH et le DCM, et 5,6 mL pour le chloroforme) et l'initiateur (20 mg). Les réactifs sont mélangés par agitation du flacon pour obtenir une solution limpide. Puis cette dernière est transvasée dans un tube à sceller plongé dans de la glace et dégazé sous un léger flux d'azote pendant 10 min. Ceci permet d'éliminer l'oxygène dissout, capable de produire des radicaux libres qui perturberaient la polymérisation. Le flacon est ensuite bouché pour que l'air ne puisse plus pénétrer à l'intérieur. Enfin, les tubes sont placés au bain-marie à 60°C pour procéder à une initiation thermique pendant 24 heures.

L'étape suivante est le broyage et le tamisage des polymères obtenus alors sous forme de bloc (monolithe) qu'il faut récupérer en cassant les tubes à sceller à l'aide d'un marteau. Le but est d'obtenir des particules dont la granulométrie est comprise entre 25

et 36 µm. Le broyage peut être effectué à la main dans un mortier ou à l'aide d'un broyeur automatique. Le tamisage est réalisé manuellement ou automatiquement.

La troisième étape est la sédimentation qui sert à éliminer les particules trop fines encore présentes dans la poudre obtenue après le tamisage. Pour cela, un mélange eau/MeOH (20/80, v/v) est versé dans les flacons qui sont agités pour que les particules de polymère se dispersent. Il faut ensuite attendre 20 min durant lesquelles se produit la décantation des particules les plus grosses et le surnageant est retiré à l'aide d'une pipette. Cette opération est réalisée jusqu'à ce que la solution devienne limpide, puis on laisse sécher les particules de polymère.

Procédure de synthèse des MIS par voie sol-gel:

Le tableau ci-dessous présente les réactifs et les quantités utilisés pour chacune des synthèses de MIS. Un NIS est systématiquement synthétisé en parallèle sans introduire le *template.*

Rôle	**MIS 1/1/5**	**MIS 1/4/20**	**MIS 1/4/30**	**MIS^{DAT}**	**MIS^{APTMS}**
Template	2,4-DNT			2,4-DAT	2,4-DNT
Monomère	PTMS				APTMS
Agent réticulant	TEOS				
Ratio (mmol)	0,5/0,5/2,5	0,5/2/10	0,5/2/15	0,5/0,5/2,5	0,5/2/10
eau	1 mL	4 mL	5,7 mL	1 mL	4 mL
Catalyseur : NH_4OH à 32%	200 µL	800 µL	1140 µL	200 µL	800 µL

Le 2,4-DNT est prélevé et pesé dans le flacon de 8 mL servant au mélange des réactifs. Ensuite, l'eau est ajoutée et le flacon est agité de sorte à solubiliser au maximum la molécule empreinte. Le monomère et l'agent réticulant sont également

ajoutés avant d'agiter longuement le mélange au vortex de sorte à obtenir une solution la plus homogène possible avec dissolution complète du 2,4-DNT. Enfin, le catalyseur est versé dans le mélange qui est ensuite agité et dans lequel un barreau aimanté est placé. Le flacon est alors bouché et placé dans un bain d'huile chauffé à 40°C à l'aide d'un agitateur magnétique permettant d'agiter le mélange pendant la formation du support. Le flacon est laissé 24h dans le bain d'huile.

Une fois que le flacon est retiré du bain d'huile, il est débouché et laissé pendant deux heures à l'air libre. Le flacon est ensuite placé dans une étuve à 120°C pendant 18h pour sécher le support et vieillir le matériel.

Pour finir, le MIS est broyé directement dans le flacon avec une baguette en verre, tamisé délicatement avec cette même baguette pour limiter les pertes de support. La sédimentation est ensuite effectuée dans les mêmes conditions que pour les MIP.

Annexe 7 : Traitement des fractions d'extraction avant analyse

Les fractions obtenues après extractions sur MIP ou MIS sont de nature différente suivant le support imprimé utilisé. Les fractions aqueuses sont injectées directement. Celles constituées de plus de 50 % d'ACN ou de MeOH sont diluées par un volume d'eau équivalent lors du développement de méthode (dilution d'un facteur 2) de sorte à avoir une force éluante dans la fraction injectée plus faible que la phase mobile lors de l'analyse. Certaines fractions à analyser contiennent du DCM, elles ne peuvent donc pas être injectées directement en chromatographie et nécessitent une étape d'évaporation à sec. Pour tenir compte du rendement de cette dernière, l mL d'une solution contenant 500 ng de 2,4-DNT dans du DCM a été évaporé. Le résidu obtenu a été repris dans 500 µL d'un mélange MeOH/eau en proportion égale et a été analysé. Cela a permis de calculer la quantité d'analyte encore présente en solution puis le rendement d'évaporation. Ce test a été répété trois fois et la moyenne des trois résultats qui est de 91,5 ± 5 % a été prise en compte dans les calculs de rendements quand cette étape a été réalisée.

Les fractions ont ensuite été analysées par LC/UV selon les conditions récapitulées dans l'annexe 4. Les quantités contenues dans chaque fraction sont déduites de la droite d'étalonnage obtenue en UV pour chacun des composés et ajustées selon les rendements d'évaporation quand cela s'est avéré nécessaire.

En ce qui concerne les échantillons complexes dopés à l'état de traces, les fractions d'élution composées de MeOH ou d'ACN ont été évaporées à sec, en présence de trois témoins systématiquement pour tenir compte du rendement d'évaporation, puis reprises dans un mélange eau/MeOH (50/50, v/v) avant les analyses chromatographiques en LC/UV ou en LC/MS.

Annexe 8 : Procédures optimisées d'extraction sur phase solide

Les procédures d'extractions optimisées sur les supports imprimés qui ont montré une grande sélectivité sont présentées dans le tableau ci-dessous ainsi que la procédure d'extraction sur le support polymérique Oasis HLB. Enfin, la procédure en ligne sur le MIS 1/4/30 est également récapitulée.

fractions	**MIS 1/1/5**	**MIS 1/4/20**	**MIS 1/4/30**	**Oasis HLB**	**MIS 1/4/30 en ligne**
C	5 mL d'eau			1 mL d'ACN 1 mL de MeOH 1 mL d'eau	5 mL d'eau
P	Eau/MeOH (90/10) dopé avec l'analyte				
L	1 mL d'eau/MeOH (40/60)	1 mL d'eau/ACN (75/25)	1,5 mL d'eau/ACN (80/20)	1 mL d'eau/MeOH (50/50)	400 µL d'eau/ACN (80/20)
E	2 mL de MeOH	1 mL d'ACN			Phase mobile

C : conditionnement, P : percolation, L : lavage et E : élution.

Annexe 9 : Procédure de la détection électrochimique sur électrodes imprimées

Description de l'appareillage

Potentiostat : CH instrument

Interface : dropsens

Electrode sur puce : DRP 150 (ET : carbone, ER : Ag/AgCl et CE : Pt)

Logiciel : CHi620a

Description des conditions de détection fixées imitialement

Type de détection : voltammétrie cyclique

Potentiel initial : E_{init} = 0 V

Potentiel maximum : E_{max} = 0 V

Potentiel minimum : E_{min} = - 1,1 V

Nombre de segments : 2

Vitesse de scan : 0,1 V/s

Délai entre les acquisitions : 30 s

L'intervalle entre les points d'acquisition est fixé à 10^{-3} V et la sensibilité à 10^{-4} A/V.

Description des conditions finales de détection

Type de détection : voltammétrie cyclique

Solution électrolytique : phosphate de potassium/MeOH (50/50, v/v) à 0,05 M

Potentiel initial : E_{init} = 0 V

Potentiel maximum : E_{max} = 0 V

Potentiel minimum : E_{min} = - 1,1 V

Vitesse de scan : 0,2 V/s

Délai entre les acquisitions : 1 min

Une goutte de solution à analyser est déposée sur la surface des électrodes à l'aide d'une pipette. Le cycle de potentiel est ensuite appliqué à 3 reprises avec un délai d'1 min entre chaque cycle réalisé. Les résultats obtenus avec la première goutte ne sont

pas conservées car elle sert à conditionner l'électrode avant d'appliquer ce même protocole sur une autre goutte pour pouvoir enregistrer l'acquisition du 3ème cycle qui servira à analyser les résultats.

Liste des figures et tableaux

Liste des figures :

Chapitre I :

Figure I. 1. : Structures des principaux explosifs nitrés. 6
Figure I. 2. : Mécanisme de nitration, (a) formation d'un ion nitronium et (b) mononitration du toluène (adapté de [2]). 8
Figure I. 3. : Produits formés à partir de la nitration du toluène (adapté de [2]). 9
Figure I. 4. : Chromatogramme UV de composés étalons séparés sur colonne SelectaPore C18 (250 x 4,6 mm, 5 µm) avec une phase mobile eau/MeOH (50/50, v/v) [35]. 20
Figure I. 5. : Chromatogramme UV de composés étalons séparés sur colonne Spherisorb-ODS2 (250 x 4 mm, 5µm) avec une phase mobile eau/MeOH (45/55, v/v) [37]. 20
Figure I. 6. : Chromatogramme UV de composés étalons séparés grâce à l'association d'une précolonne CN et d'une colonne C18 avec un mélange d'eau/MeOH (50/50, v/v) [45]. 21
Figure I. 7. : Structure du PGC [62]. 22
Figure I. 8. : Chromatogramme obtenu en LC/MS de composés étalons à 10 mg/L séparés en mode gradient sur une colonne PGC (hypercarb) à 70°C [2]. 24
Figure I. 9. : schéma de la procédure de SDME, (1) introduction de la seringue dans l'échantillon, (2) formation de la goutte de solvant organique par pression sur le piston, (3) Prélèvement de la goutte dans la seringue, (4) injection en GC (adapté de [72]). 28
Figure I. 10. : Schéma de la procédure de DLLME, (1) injection du solvant de dispersion, (2) formation d'un état trouble après agitation, (3) séparation de phase après centrifugation, (4) prélèvement du solvant d'extraction (adapté de [75]). .. 30
Figure I. 11. Image d'une solution avant et après séparation des phases grâce au point trouble [77]. 31
Figure I. 12. : Schéma du dispositif de microextraction à l'aide d'une fibre creuse (HF-LPME). 32
Figure I. 13. : Principe de l'extraction sur phase solide (adapté de [91]). 35
Figure I. 14. : Formats disponibles pour l'extraction sur phase solide en différé. 37

Figure I. 15. : Couplage en ligne de l'extraction sur phase solide avec la chromatographie en phase liquide [104]. 39
Figure I. 16. : Motif de la phase Oasis HLB. 41
Figure I. 17. : Principe de fonctionnement d'une phase à accès restreint (RAM). Adapté de [109]. 43
Figure I. 18. : Chromatogramme obtenu par R. Tachon pour un étalon (en bleu), après extraction d'un échantillon complexe sur un support Oasis HLB après percolation d'eau pure dopée suivi d'un lavage composé d'un mélange eau/MeOH (50/50) et d'un élution à l'ACN (en rose) et sans extraction (en vert) (adapté de [2, 121]). 51
Figure I. 19. : Représentation du dispositif de SPME (adapté de [130]). 52
Figure I. 20. : Schéma global d'analyse des résidus d'explosifs. 58

Chapitre II :

Figure II. 1. : Principe de l'impression moléculaire, adapté de [166]. 68
Figure II. 2. : Schéma de l'amorçage de la polymérisation radicalaire du MAA avec l'AIBN (adapté de [167]). 70
Figure II. 3. : Réaction de propagation lors de la polymérisation du MAA [167]. 71
Figure II. 4. : Monomères fréquemment utilisés lors de la synthèse de MIP. 73
Figure II. 5. : Agents réticulant fréquemment utilisés lors de la synthèse de MIP. 73
Figure II. 6. : Récapitulatif des différentes étapes de la synthèse d'un MIP, adapté de [170]. 76
Figure II. 7. : Principe des tests de fixation et profil type d'isothermes de fixation (adapté de [169]). 82
Figure II. 8. : Principe de l'extraction sur MIP [169]. 83
Figure II. 9. : Type de profil idéal après une procédure d'extraction réalisée sur un support imprimé et un support non imprimé. 84
Figure II. 10. : Représentation d'une courbe de capacité pour un support imprimé pour la rétention sélective de l'alfusozine et un support non imprimé [179]. 85
Figure II. 11. : Profil de la réponse obtenue pour le support imprimé et ses supports de contrôle. 92

Chapitre III :

Figure III. 1. : Chromatogrammes obtenues à 228 nm après injection des nitroaromatiques sur une colonne de PGC (100 x 2,1 mm, 3 µm) pour un mélange à 0,25 mg/L. 98
Figure III. 2. : Chromatogramme à 247 nm d'un mélange de nitroaromatiques à 0,25 mg/L séparés par un mélange eau/ACN (65/35, v/v) sur colonne XRs diphényle à 28°C. 99
Figure III. 3. : Chromatogrammes à 247 nm obtenus pour un mélange de nitroaromatiques sur la colonne (a) Symmetry Shield RP 18 (250 x 3 mm, 5 µm) à 28°C (0,25 mg/L) avec un mélange eau/MeOH (40/60, v/v) et (b) JSphère H80 (150 x 3 mm, 4 µm) à 28°C avec un mélange eau/MeOH (38/62, v/v). 100
Figure III. 4. : Chromatogrammes correspondant à la séparation sur la colonne Symmetry Shield RP 18 (250 x 3 mm, 5 µm) à 28°C (a) des nitramines et des nitroaromatiques à 247 nm (b) des esters nitrés à 205 nm (conditions d'analyses présentées en annexe 4). 101
Figure III. 5. : Chromatogrammes correspondant à la séparation sur la colonne Symmetry Shield RP 18 (250 x 3 mm, 5 µm) en LC/MS accompagné des extraits d'ions auxquels s'effectue la quantification (37,5 µg/L). 104
Figure III. 6 : Profils d'élution moyen obtenus avec les MIP 1, 2 et 3 ; P : 1 mL d'ACN dopé avec le 2,4-DNT (500 ng), L : 1 mL d'ACN/MeOH (90/10, v/v) et E : 1 mL de MeOH. 109
Figure III. 7. : Profils d'élution obtenus après percolation (a) sur le MIP/NIP 4 d'une solution de DCM dopée avec le 2,4-DNT (2 µg, P, L, E : 2 mL) et (b) sur le MIP/NIP 5 d'une solution d'ACN dopé avec le 2,4-DNT (500 ng, P, L, E : 1 mL). 111
Figure III. 8 : Profils d'élution obtenus après percolation sur le MIP 1 et le NIP correspondant d'eau dopée avec le 2,4-DNT (1 µg) suivie d'une élution progressive au MeOH (fractions de 1 mL). 112
Figure III. 9. : Profils d'élution obtenus avec le MIP et le NIP 6 ; P : 500 µL de DCM dopée avec le 2,4-DNT (500 ng), L : 1 mL de DCM/MeOH (90/10, v/v) et E : 1 mL de MeOH. 113
Figure III. 10. : Profils d'élution obtenus avec le MIP/NIP 6 ; P : 1 mL d'eau dopée avec le 2,4-DNT (1 µg), L1 : 1 mL d'eau/MeOH (95/5, v/v), L2 : 1 mL d'eau/MeOH (90/10, v/v), E1 et E2 : 1 mL de MeOH). 114

Figure III. 11 : Profils d'élution obtenus avec le MIP/NIP 7 ; P : 1 mL d'eau dopée par (a) le 2,4-DNT (1 µg) ou (b) le 2,4,6-TNT (500 ng), L : 1 mL d'eau/MeOH (40/60, v/v), E1 : 1 mL de MeOH et E2 : 1 mL de MeOH/AcAc (95/5, v/v). 116

Chapitre IV :

Figure IV. 1 : Schéma présentant la molécule empreinte et le monomère fonctionnel choisi. 120
Figure IV. 2 : Distribution de la quantité totale de 2,4-DNT relarguée du MIS 1/1/5 dans les différentes fractions. P : 1 mL d'eau pure, L1 et L2 : 500 µL d'eau/MeOH (40/60, v/v) et E : 2 mL de MeOH (n = 3). 122
Figure IV. 3. : Profils d'élution après percolation d'eau dopée en 2,4-DNT (500 ng) suivie de fractions de force éluante croissante (volume des fractions : 1mL, résultats corrigés)..... 123
Figure IV. 4.: Profils d'élution obtenus après percolation sur le MIS et sur le NIS 1/1/5 d'eau dopée par le 2,4,6-TNT (500 ng) suivi par des solutions de force éluante croissante (fractions de 1 mL)..... 124
Figure IV. 5 : Profils d'élution obtenus avec le MIS et le NIS 1/1/5; P : 1 mL d'eau/MeOH (90/10, v/v) dopée avec le 2,4-DNT (500 ng), L : 1 mL d'eau/MeOH (40/60, v/v) et E : 2 mL de MeOH (résultats corrigés). 125
Figure IV. 6: Profils d'élution obtenus avec le MIS et le NIS 1/1/5; P : 1 mL d'eau/MeOH (90/10, v/v) dopé avec (a) 2,4-DNT (500 ng) et de (b) 2,4,6-TNT (500 ng) , L : 750 µL d'eau/MeOH (40/60, v/v) et E : 2 mL de MeOH (n = 3). 126
Figure IV. 7: Profil d'extraction obtenus sur le MIS et le NIS 1/1/5 ; P : 1 mL d'eau/MeOH (90/10, v/v) dopée avec 500 ng (a) de 2,4,6-TNP, (b) de 2,6-DNT et (c) de tétryl, L : 750 µL d'eau/MeOH (40/60, v/v) et E : 2 mL de MeOH. 127
Figure IV. 8: Courbes de fixation réalisées en appliquant la procédure d'extraction optimisée pour des solutions d'eau pure dopées en concentrations croissantes (P : 1 mL d'eau, L : 750 µL d'eau/MeOH (40/60, v/v) et E : 2 mL de MeOH). 129
Figure IV. 9 : Rendements d'extraction obtenus pour 50 mg de MIS issus de quatre synthèses distinctes après percolation d'une solution d'eau dopée de (a) 2,4-DNT suivie d'une fraction d'1 mL d'eau/MeOH (40/60, v/v) et de 2 mL de MeOH (b) d'une solution d'eau dopée au 2,4,6-TNT suivi de 500 µL, d'eau/MeOH (40/60, v/v) et de 2 mL de MeOH (n = 3). 130

Figure IV. 10 : Chromatogrammes correspondant à l'analyse LC/UV (228 nm) des fractions d'élution obtenues après percolation sur le MIS ou l'Oasis HLB d'un échantillon simulé avec de l'huile de moteur dont l'extrait a été dopé par du 2,4-DNT et du 2,4,6-TNT. 132
Figure IV. 11. : Profils d'élution obtenus avec le MIS^{DAT} et sur le NIS^{DAT} ; P : 1 mL d'eau contenant du 2,4-DNT (500 ng), L1 et L2 : 500 µL d'eau/MeOH (50/50, v/v), E : 1 mL de MeOH. 135
Figure IV. 12. : Profils d'élution obtenus avec le MIS^{DAT} et sur le NIS^{DAT} ; P : 1 mL d'eau contenant du 2,4,6-TNT (500 ng), L1 et L2 : 500 µL d'eau/MeOH (50/50, v/v), E : 1 mL de MeOH. 135
Figure IV. 13 : Formule de l'APTMS 136
Figure IV. 14 : Profil d'élution obtenus avec le MIS^{APTMS} et le NIS^{APTMS} ; P : 1 mL d'ACN dopé avec le 2,4-DNT (500 ng), L : 1mL d'ACN/MeOH (90/10, v/v) et E : 1 mL de MeOH. 136
Figure IV. 15 : Profils d'élution obtenus avec le MIS 1/4/20 et sur le NIS correspondant ; P : 1 mL d'eau dopée avec le 2,4-DNT (500 ng), L1, L2, et L3 :1 mL d'eau/ACN (75/25, v/v) et enfin d'une fraction 1 mL d'ACN. 138
Figure IV. 16 : Profils d'élution obtenus avec le MIS et le NIS 1/4/30 ; P : 1 mL d'eau/MeOH (90/10, v/v) dopé avec le 2,4-DNT (500 ng), L : d'1 mL d'eau/ACN (75/25, v/v) et E : 1 mL d'ACN..... 139
Figure IV. 17 : Profils d'élution obtenus avec (a) le MIS et le NIS 1/4/20 et (b) le MIS et le NIS 1/4/30 ; P : 1 mL d'eau/MeOH (90/10, v/v) dopé avec le 2,4-DNT (500 ng), L : (a) 1 mL d'eau/ACN (75/25, v/v) ou (b) 1,5 mL d'eau/ACN (80/20, v/v) et E : 1 mL d'ACN (n = 3). 140
Figure IV. 18 : Rendements d'extraction moyens obtenus après percolation des nitroaromatiques (500 ng) suivie des protocoles optimisés présentés en annexe 8 (a) sur le MIS et le NIS 1/4/20 et (b) sur le MIS et le NIS 1/4/30 (n = 3)..... 141
Figure IV. 19 : Courbes de capacité obtenus pour les MIS 1/4/20 et 1/4/30 ainsi que les NIS correspondant (conditions d'extraction décrites en annexe 8)..... 143
Figure IV. 20 : Rendements d'extraction obtenus pour le 2,4-DNT et le 2,4,6-TNT sur les MIS 1/4/20 et 1/4/30 et les NIS correspondant issus de trois synthèses distinctes après application de la procédure optimisée décrite en annexe 8 (n = 3). 144

Figure IV. 21 : Rendements d'extraction moyens obtenus après percolation d'un échantillon simulé à l'huile de moteur suivie des procédures décrites en annexe 8 sur le MIS 1/4/20 et le support conventionnel Oasis HLB (n = 3). 146
Figure IV. 22 : Chromatogrammes des fractions d'élution obtenus après extraction d'un échantillon simulé contenant de l'huile de moteur et injection (a) en LC/UV (247 nm) et (b) en LC/MS (rouge : MIS 1/4/20, vert : support polymérique d'Oasis HLB, conditions d'analyses en LC/UV décrites en annexe 4, en LC/MS décrites en annexe 5, conditions d'extraction présentées en annexe 8)..... 147
Figure IV. 23 : Chromatogrammes des fractions d'élution obtenues après extraction d'un échantillon simulé contenant du sang humain post-mortem et injection (a) en LC/UV (247 nm) et (b) en LC/MS (rouge : MIS 1/4/20, vert : support conventionnel, conditions analytiques décrites en annexe 4 pour la LC/UV, en annexe 5 pour la LC/MS et en annexe 8 pour les procédures d'extraction)..... 149
Figure IV. 24 : Chromatogrammes obtenus après injection en LC/UV (228 nm) des fractions d'élution obtenues après extraction sur le MIS 1/4/20, le MIS 1/4/30 et l'Oasis HLB d'un échantillon réel contenant le 2,4,6-TNT (conditions d'extraction décrites en annexe 8 et conditions analytiques décrites en annexe 4 avec utilisation de la colonne JSphère H80)..... 151
Figure IV. 25 : Profil d'extraction obtenu avec le MIS^{HMX} et le NIS^{HMX} ; P : 1 mL d'eau/MeOH (90/10, v/v) dopé avec le HMX (500 ng), L1 : 1 mL d'eau/ACN (90/10, v/v), L2 : 1 mL d'eau/ACN (80/20, v/v) et E : 1 mL d'ACN. 153
Figure IV. 26 : Profils d'élution avec le MIS 1/4/30 et le NIS correspondant ; P : 1 mL d'eau/MeOH (90/10, v/v) dopé avec 2,5 µg de (a) PETN et (b) NG, L : 1,5 mL d'eau/ACN (80/20, v/v) et E : 1 mL d'ACN (n = 3)..... 154

Chapitre V :

Figure V. 1. : Schéma du montage en ligne. 158
Figure V. 2 : Profils d'élution obtenus avec des précolonnes de MIS et de NIS 1/4/30 ; P : 1 mL d'eau/MeOH (90/10) dopé avec 200 ng de (a) 2,4-DNT et de (b) 2,4,6-TNT, L : 250 µL d'eau/ACN (80/20), E : 200 µL d'ACN. 159
Figure V. 3. : Chromatogrammes LC/UV (247 nm) obtenus après une procédure d'extraction en ligne avec le MIS (en bleu) et avec le NIS (en rouge) ; P : 1 mL d'eau/MeOH (90/10, v/v) dopé avec 20 ng de 1,3,5-TNB et de 1,3-DNB et 5 ng

de 2,4-DNT, de 2,6-DNT, de 2,4,6-TNT et de tétryl, L : 250 µL d'eau/ACN (80/20, v/v) et E : phase mobile (eau/MeOH, 40/60, v/v). 161
Figure V. 4. : Chromatogrammes LC/UV (247 nm) obtenus après une procédure d'extraction en ligne avec le MIS (en vert) et avec le NIS (en rouge) décrite dans le Tableau V. 1. 162
Figure V. 5 : Rendements d'extraction obtenus grâce à la procédure en ligne décrite dans le Tableau V. 1 (n = 3). 163
Figure V. 6 : Chromatogrammes (247 nm) obtenus à partir de l'extraction en ligne, décrite dans le Tableau V. 1, d'un échantillon complexe dopé avec les explosifs avec application de l'étape de lavage (en rose) et sans cette étape (en vert). 164
Figure V. 7. : Courbe intensité-potentiel en voltammétrie cyclique. 167
Figure V. 8. : Voltampérogramme du 2,4,6-TNT obtenu par voltammétrie cyclique. 168
Figure V. 9 : Schéma du dispositif d'analyse sur le terrain par détection électrochimique via une électrode imprimée. 170
Figure V. 10. : Voltampérogrammes obtenus par voltammétrie à ondes carrées pour des solutions contenant le 2,4,6-TNT en concentration croissante (les conditions sont décrites dans le Tableau V. 2) [204]. 171
Figure V. 11 : Schéma de la puce électrochimique utilisée dans cette étude. 176
Figure V. 12 : voltammogrammes représentant 5 acquisitions réalisées à 30 s d'intervalle pour une solution d'eau/MeOH (50/50, v/v) contenant du phosphate de potassium à 0,05M et du 2,4,6-TNT à 10 mg/L (conditions fixées initialement et présentées en annexe 9). 177
Figure V. 13 : voltammogrammes correspondant à des acquisitions du signal obtenu pour trois gouttes distinctes composées d'eau/MeOH (50/50, v/v) contenant du phosphate de potassium à 0,05 M et du 2,4,6-TNT à 10 mg/L et déposées sur la même électrode (conditions fixées initialement présentées en annexe 9, acquisition n°3). 178
Figure V. 14 : voltammogrammes correspondant à trois acquisitions réalisées à trois jours distincts avec des gouttes composées d'eau/MeOH (50/50, v/v) contenant du phosphate de potassium à 0,05 M et du 2,4,6-TNT à 10 mg/L (conditions fixées initialement présentées en annexe 9, acquisition n°3). 179

Figure V. 15 : intensités moyennes du pic à environ – 0,55 V, obtenues par voltammétrie cyclique pour une solution contenant du 2,4,6-TNT à 10 mg/L avec trois électrodes distinctes sur trois jours différents (n = 3, acquisition n°3). 179
Figure V. 16 : Etude de la concentration (a) en perchlorate de lithium et (b) en phosphate de potassium par comparaison des intensités du pic à – 0,55 V (conditions d'acquisition présentées en annexe 9). 181
Figure V. 17 : Intensité du pic à – 0,55 V en fonction de la vitesse de balayage (a) voltampérogramme obtenu pour une vitesse de balayage de 0,05 V/s (b) et de 0,5 V/s (c), les autres conditions sont décrites dans les conditions initiales de l'annexe 9. 182
Figure V. 18 : courbe d'étalonnage du pic à – 0,55 V réalisée dans les conditions optimisées décrites en annexe 9 (n = 3 pour chaque concentration). 184

Liste des tableaux :

Chapitre I :

Tableau I. 1. : Propriétés physico-chimiques des explosifs organiques usuels. 13
Tableau I. 2. : Analyses des nitroaromatiques, des nitramines et/ou des esters nitrés par chromatographie liquide, A, B et C présentent les mélanges de solvant pour chaque voie lors de l'application d'un gradient de mélanges. 15
Tableau I. 3. Présentation des études d'extraction sur phase solide des explosifs organiques (les rendements présentés sont ceux obtenus pour les composés en gras également ciblés dans notre étude). 45
Tableau I. 4. : Résumé des études portant sur les procédures de SPME destinées à l'extraction des explosifs organiques (les conditions optimums sont présentés en rouge lorsque plusieurs conditions ont été testées, *LDD des composés en gras). 54

Chapitre II :

Tableau II. 1. : Conditions de synthèses des supports imprimés pour les explosifs nitrés publiées. 87

Chapitre III :

Tableau III. 1. : Récapitulatif des longueurs d'ondes d'analyse et des limites de quantification en µg/L de chacun des composés étudiés. 102
Tableau III. 2. : Rapports m/z des différents ions obtenus et les LDQ en µg/L en mode MS, MS^2 et en UV après séparation chromatographique (conditions analytiques décrites en annexe 5). 103
Tableau III. 3. : Synthèses par polymérisation radicalaire réalisées au cours de cette étude. 107

Chapitre V :

Tableau V. 1. : Procédure d'extraction en ligne. 161
Tableau V. 2 : Conditions de détection électrochimique des explosifs nitrés 174