

Systemes analytiques dédiés à l'extraction, la séparation et la détection d'ions et de petites molécules

Valérie Pichon et Nathalie Delaunay

Résumé

Quel que soit le domaine d'application, le challenge analytique est souvent lié aux faibles teneurs recherchées mais aussi à la diversité des composés présents dans des échantillons complexes. L'électrophorèse capillaire présente de nombreux avantages, notamment en termes de pouvoir séparatif élevé et de faible consommation de solvants et de réactifs. Le transfert des méthodes en capillaires vers les microsystèmes est aussi relativement aisé. Cependant, les faibles niveaux de concentration requièrent d'introduire des étapes de préconcentration avant analyse suffisamment sélectives pour éliminer un grand nombre de composés interférents et compenser la perte en résolution induite par la diminution des distances de séparation. Parmi les approches envisageables, il est possible de développer des supports d'extraction mettant en jeu un mécanisme de rétention plus sélectif que celui induit par les supports d'extraction conventionnels car fondés sur un principe de reconnaissance moléculaire par l'utilisation d'anticorps, d'aptamères ou de polymères à empreintes moléculaires qui constituent un atout évident pour la miniaturisation des dispositifs d'analyse.

Mots-clés

Électrophorèse capillaire, puce, microsystème, nanochromatographie, immunoabsorbant, polymère à empreintes moléculaires, oligoabsorbant, échantillon complexe.

Abstract

Analytical systems for extraction, separation and detection of ions and small molecules

Whatever the field of application, the analytical challenge is often related to the low levels of concentration that have to be reached, but also to the diversity of the compounds present in complex samples. Capillary electrophoresis has many advantages, particularly in terms of high separation power and low consumption of solvents and reagents. The transfer of capillary electrophoresis methods to microsystems is also relatively straightforward. However, low concentration levels require the introduction of a preconcentration step that is sufficiently selective to remove most of the interfering compounds present in the sample and to compensate the resolution loss induced by the decrease in separation distances. Among the possible approaches, it is possible to develop extraction sorbents involving a more selective retention mechanism than that induced by those of conventional extraction. These supports are based on a principle of molecular recognition by the use of antibodies, aptamers or molecularly imprinted polymers and constitute powerful tools for the miniaturization of the analytical devices.

Keywords

Capillary electrophoresis, chip, microsystem, nanochromatography, immunosorbent, molecularly imprinted polymer, oligosorbent, complex samples.

Bien que les molécules ciblées puissent être de natures très diverses, les demandes des domaines de la santé publique, la sécurité alimentaire, l'environnement, l'industrie pharmaceutique, les fraudes... ont beaucoup de points communs. En effet, les analyses doivent être de plus en plus rapides, fiables, peu coûteuses, respectueuses de l'environnement, être réalisées à partir de petits volumes d'échantillons, si possible sur le terrain ou *in vivo*, et permettre la détection des composés à l'état de traces et ultra-traces dans des échantillons très complexes. Pour répondre à ces demandes, les méthodes analytiques telles que les méthodes séparatives doivent évoluer et, en particulier, se miniaturiser. Dans ce contexte, l'électrophorèse capillaire (« capillary electrophoresis », CE) s'est développée depuis une bonne vingtaine d'années car elle combine avantageusement une très haute performance de séparation avec des temps d'analyse courts et des volumes d'échantillons et d'électrolyte

de séparation réduits (quelques dizaines de microlitres). Cette technique peut aussi être transférée au format microsystème.

Cependant, si la miniaturisation constitue un des enjeux majeurs du domaine de l'analyse, elle ne règle en rien la complexité des échantillons à analyser. L'introduction d'une étape de traitement de l'échantillon pour extraire et concentrer les composés ciblés présents à l'état de trace demeure incontournable. Or, il est possible de développer des supports d'extraction générant un mécanisme de rétention très sélectif, par reconnaissance moléculaire, permettant d'extraire une molécule ou une famille structurale de molécules en l'isolant des autres constituants de l'échantillon. Ces supports à base d'anticorps, d'aptamères ou de polymères à empreintes moléculaires conduisent à des procédures analytiques plus fiables et plus sensibles que les phases d'extraction sur phase solide conventionnelles et constituent donc un atout essentiel pour le développement de systèmes miniaturisés.

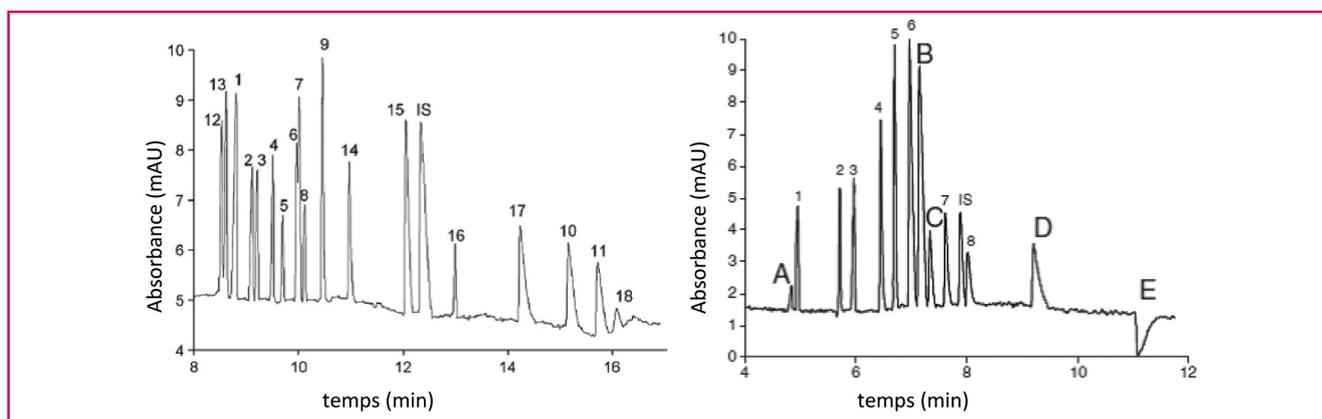


Figure 1 - Électrophérogrammes correspondant à l'analyse d'un mélange (gauche) de 19 anions (11 spécifiques des explosifs, 1 étalon interne et 7 interférents potentiels) et (droite) de 19 cations (9 spécifiques des explosifs, 1 étalon interne et 9 interférents potentiels). Gauche : capillaire de silice modifié avec du polybrène 50 μm x 96 cm (détection à 88,5 cm). Électrolyte : CrO_3 25 mM, Na_2CrO_4 25 mM et Tris 100 mM pH 8,2 contenant 6 % (v/v) d'éthanol (UV indirect, 254 nm). 1 : Cl^- ; 2 : NO_2^- ; 3 : NO_3^- ; 4 : $\text{S}_2\text{O}_3^{2-}$; 5 : ClO_4^- ; 6 : SCN^- ; 7 : N_3^- ; 8 : ClO_3^- ; 9 : SO_4^{2-} ; 10 : CO_3^{2-} ; 11 : PO_4^{2-} ; 12 : I^- ; 13 : Br^- ; 14 : CN^- ; 15 : F^- ; 16 : ClO_2^- ; 17 : CH_3COO^- ; 18 : $\text{C}_2\text{O}_4^{2-}$; IS (internal standard) : HCOO^- [11]. Droite : capillaire de silice modifié avec du (i) polybrène et (ii) du polyvinylsulfonate 75 μm x 80 cm (détection à 70 cm). Électrolyte : acétate de guanidinium 15 mM pH 4 (UV indirect, 190 nm). 1 : NH_4^+ ; 2 : K^+ ; 3 : CH_3NH_4^+ ; 4 : Ca^{2+} ; 5 : Na^+ ; 6 : Mg^{2+} ; 7 : Sr^{2+} ; 8 : Ba^{2+} ; A : Cs^+ ; B : $\text{Fe}^{2+} + \text{Co}^{2+} + \text{Mn}^{2+} + \text{Ni}^{2+}$; C : Zn^{2+} ; D : Cu^{2+} ; E : Pb^{2+} ; IS : Li^+ . D'après [8-9].

Techniques séparatives électrocinétiques

Les méthodes de séparation électrocinétiques existent depuis le début des années 1980 en format capillaire avec classiquement un diamètre interne de 50 ou 100 μm et une longueur de quelques dizaines de cm. Ainsi, le volume d'électrolyte contenu dans le capillaire est de l'ordre du μL et le volume d'échantillon injecté est de quelques nL, ce qui classe ces méthodes dans les techniques miniaturisées. De plus, elles sont automatisées, rapides et très performantes car en électrophorèse capillaire de zone par exemple, le front de vitesse est plat, contrairement aux méthodes chromatographiques où il est parabolique et contribue donc de manière non négligeable à l'élargissement des pics.

Les méthodes électrocinétiques sont par définition basées sur la mise en œuvre d'un champ électrique (de l'ordre de quelques centaines de volts par cm) pour induire le déplacement des analytes dans un capillaire rempli d'un électrolyte. Dans ce cas, le déplacement d'un analyte résulte de deux contributions : l'électromigration, qui conduit à une vitesse électrophorétique qui est le produit du champ électrique et de la mobilité électrophorétique propre au composé (proportionnelle au ratio de la charge du composé sur son rayon hydrodynamique solvaté), et l'électroosmose, qui est l'écoulement de l'électrolyte remplissant le capillaire lorsque la paroi interne de celui-ci possède une charge de surface et qu'une tension est appliquée à ses extrémités.

Électrophorèse capillaire de zone

En l'absence de toute autre contribution à la vitesse de déplacement des composés que celles de l'électromigration et de l'électroosmose, la séparation est basée sur un mécanisme d'électrophorèse dit de zone (« capillary zone electrophoresis », CZE). C'est ce mode de séparation qui est le plus souvent mis en œuvre pour séparer des ions inorganiques et des petites molécules ionisées [1]. Les domaines d'application sont extrêmement variés tels que la pharmacie, la biologie, l'environnement, l'agroalimentaire ou la science forensique comme cela a été illustré dans des revues [2-6].

Des applications industrielles existent également comme l'illustre par exemple une étude récente où la CZE a contribué à la caractérisation physico-chimique de deux métaux stratégiques, le niobium et le tantale, et à leur analyse à différentes étapes du procédé d'extraction du minerai puis de purification afin d'améliorer leur efficacité [7]. Cette étude illustre aussi comment développer et optimiser une séparation en CZE, où de très nombreux paramètres interviennent (longueur, diamètre et état de surface du capillaire, pH, force ionique, nature et composition de l'électrolyte, tension et température de séparation).

Détection en spectrophotométrie d'absorbance UV

La spectrophotométrie d'absorbance UV est le mode de détection le plus souvent utilisé en CE. Cependant, comme la plupart des ions inorganiques n'absorbent pas en UV, on peut les détecter de manière indirecte en introduisant dans l'électrolyte un ion dit chromophore, de même charge que celle des analytes ciblés et absorbant fortement en UV. C'est sur ce principe qu'ont été développées, par exemple, deux méthodes complémentaires à la chromatographie ionique, puisque basées sur des mécanismes de séparation différents, pour la détermination de cations et d'anions caractéristiques d'explosifs sur des prélèvements post-attentats (figure 1) [8-9]. Une autre approche possible lorsque les ions ciblés n'absorbent pas en UV est la mise en œuvre d'une étape de complexation avec un ligand qui lui absorbe en UV. Ainsi, par exemple, trois métaux de transition (Fe(II) , Ni(II) et Co(II)) ont été complexés, après leur séparation en CZE, directement au sein du capillaire (*in situ*) grâce à l'introduction préalable en fin de capillaire d'une zone contenant un ligand absorbant, l'orthophénantroline [10].

Pour l'analyse de petites molécules autres que des ions inorganiques et ne possédant pas de propriétés d'absorbance en UV, il est possible de les dériver soit avant d'injecter l'échantillon dans le capillaire, soit *in situ* si la réaction présente une cinétique rapide (de l'ordre de quelques secondes ou dizaines de secondes) afin de minimiser la quantité de réactifs nécessaires qui peuvent être parfois très coûteux et de supprimer des manipulations longues tout en réduisant le risque de contamination de l'échantillon [11].

Enfin, il a été démontré récemment qu'il est possible de détecter en UV direct des composés tels que des sucres ou des acides aminés, qui n'absorbent pas en UV, lorsque l'électrolyte est très alcalin (pH voisin de 13), grâce à la formation d'un intermédiaire de dégradation par photo-oxydation des composés lors de leur passage dans la fenêtre UV [12]. Cette approche innovante et très prometteuse a été utilisée pour la détermination de sucres ou d'oligosaccharides dans des échantillons pharmaceutiques, alimentaires et forensiques, après optimisation et validation de la méthode CZE [13-14].

Quelle que soit l'approche choisie pour détecter les analytes en UV, les limites de détection (LDD) en masse sont bonnes, de l'ordre de 10^{-12} à 10^{-15} moles, car les volumes injectés et donc les quantités injectées sont très petits. Cependant, les LDD en concentration sont faibles, de l'ordre de 10^{-5} à 10^{-7} mol L⁻¹. En effet, la détection se fait directement à travers le capillaire et le chemin optique est donc quasi égal au diamètre interne du capillaire, soit quelques dizaines de μm , ce qui est très court.

Autres modes de détection

Un autre mode de détection possible est la conductimétrie sans contact à couplage capacitif [15]. Bien qu'il soit le plus intuitif en CZE puisque universel pour les ions, il est rarement mis en œuvre car les LDD sont faibles (de l'ordre de 10^{-5} à 10^{-6} mol L⁻¹) et qu'il impose de fortes contraintes sur la composition et le pH de l'électrolyte. En effet, pour que le bruit de fond reste faible, il n'est pas possible d'utiliser des électrolytes fortement acides ou alcalins qui seraient trop concentrés en ions H₃O⁺ ou OH⁻ qui sont des ions extrêmement conducteurs, puisqu'il y a au moins un ordre de grandeur au niveau de leur réponse par rapport à n'importe quel autre ion. Le domaine de pH usuel est donc compris entre 5 et 9.

Afin d'améliorer les LDD, il est possible de mettre en œuvre de la fluorescence induite par laser (LIF). On atteint alors des valeurs de LDD en masse de l'ordre de 10^{-18} à 10^{-20} moles et en concentration de l'ordre de 10^{-9} à 10^{-12} mol L⁻¹. Cependant, très peu de composés ont une fluorescence native ; il faut donc faire de la détection indirecte, complexer les analytes avec des sondes de fluorescence ou les dériver avant l'injection ou *in situ* [16].

Enfin, la spectrométrie de masse (« mass spectrometry », MS) est la technique par excellence pour quantifier mais aussi identifier les composés et elle peut bien sûr être couplée à la CE [17]. Le mode d'ionisation par électrospray est celui qui est majoritairement utilisé, mais d'autres modes tels que le MALDI (« matrix assisted laser desorption ionization ») ou l'APPI (« atmospheric pressure photoionization ») sont possibles. Les difficultés du couplage CE-MS sont liées aux très faibles débits de la CE (quelques dizaines de nL min⁻¹), à la nécessité de maintenir une continuité électrique et d'utiliser des électrolytes de séparation volatils (formiate, acétate ou carbonate d'ammonium). Plusieurs interfaces ont ainsi été développées telles que celle dite à liquide additionnel, dont la robustesse et la sensibilité ont déjà été largement démontrées. La CE et la MS sont extrêmement complémentaires ; ainsi, dans une étude portant sur la détermination d'agents chimiques de guerre dont l'utilisation est révélée par la recherche de leurs métabolites, les acides alkylphosphoniques, certains isomères qui co-migraient en CE ont pu être identifiés par leur spectre MS-MS alors que d'autres isomères ayant des spectres MS-MS identiques étaient eux séparés en CE [18].

Amélioration de la sensibilité par préconcentration électrocinétique

Les différentes méthodes de préconcentration électrocinétique constituent une autre façon d'améliorer les LDD en CE [19]. Elles peuvent être classées en deux grandes familles : celles basées sur des phénomènes électrophorétiques et celles basées sur des phénomènes de partage avec une phase ou pseudo-phase distincte. Ainsi, la technique par amplification du champ électrique, qui consiste à injecter de manière électrocinétique les analytes d'un échantillon ayant une conductivité inférieure d'au moins un ordre de grandeur à celle de l'électrolyte de séparation pour que les analytes subissent une forte décélération et donc leur accumulation lors de leur entrée dans le capillaire, a été utilisée pour analyser des anions caractéristiques de certains explosifs [8]. Dans un autre cas, une préconcentration des composés a été obtenue par balayage du créneau échantillon par des micelles suivi d'une inversion du sens de déplacement des analytes à leur sortie du créneau échantillon [20]. Les approches basées sur des phénomènes électrophorétiques et de partage peuvent être combinées afin d'augmenter encore les facteurs d'enrichissement, bien que les phénomènes mis en jeu deviennent alors plus complexes à interpréter et le nombre de paramètres à optimiser plus élevé [21]. De même, il est parfaitement possible aussi de coupler ces techniques de préconcentration à une détection par spectrométrie de masse [18, 22].

Chromatographie électrocinétique

Afin de pouvoir séparer des composés neutres en CE, il est possible de mettre en œuvre de la chromatographie électrocinétique (« electrokinetic chromatography », EKC), technique qui consiste à introduire dans l'électrolyte une pseudo-phase stationnaire [1]. L'approche la plus courante utilise des micelles chargées ; on parle alors de chromatographie électrocinétique micellaire (« micellar electrokinetic chromatography », MEKC). Le sodium dodécyl sulfate (SDS) est le tensioactif le plus utilisé. Pour des concentrations supérieures à sa concentration micellaire critique égale à quelques mM, il forme des micelles dont l'intérieur est hydrophobe et l'extérieur hydrophile et chargé négativement. Ces micelles ont donc une migration électrophorétique de sens opposé à l'écoulement électroosmotique cathodique classique. Ainsi, plus un composé a une forte affinité pour les micelles, plus il est retardé. Cette approche permet de séparer des composés neutres selon leur hydrophobie, mais aussi d'améliorer la séparation de composés chargés selon un mécanisme mixte basé sur la migration électrophorétique et des interactions avec les micelles de type hydrophobe mais aussi électrostatique (attraction si l'analyte à une charge opposée à celle des micelles ou répulsion si de même charge). Bien que le SDS soit très majoritairement utilisé, parfois il n'apporte pas assez de sélectivité. Il est alors possible de le remplacer par des tensioactifs cationiques, des sels biliars ou des cyclodextrines (CD). Ainsi, la figure 2 présente la séparation de dix-neuf hydrocarbures aromatiques polycycliques (HAP) en milieu pur ou après dopage d'un extrait d'huile avec un électrolyte qui contient un mélange de deux CD dont les concentrations respectives ont été optimisées [23].

Après la MEKC, une autre technique phare de la chromatographie électrocinétique est celle ayant pour objectif de séparer des composés chiraux par addition d'un sélecteur chiral dans l'électrolyte [1]. L'aspect miniaturisé de la CE permet de réduire très fortement la consommation du sélecteur

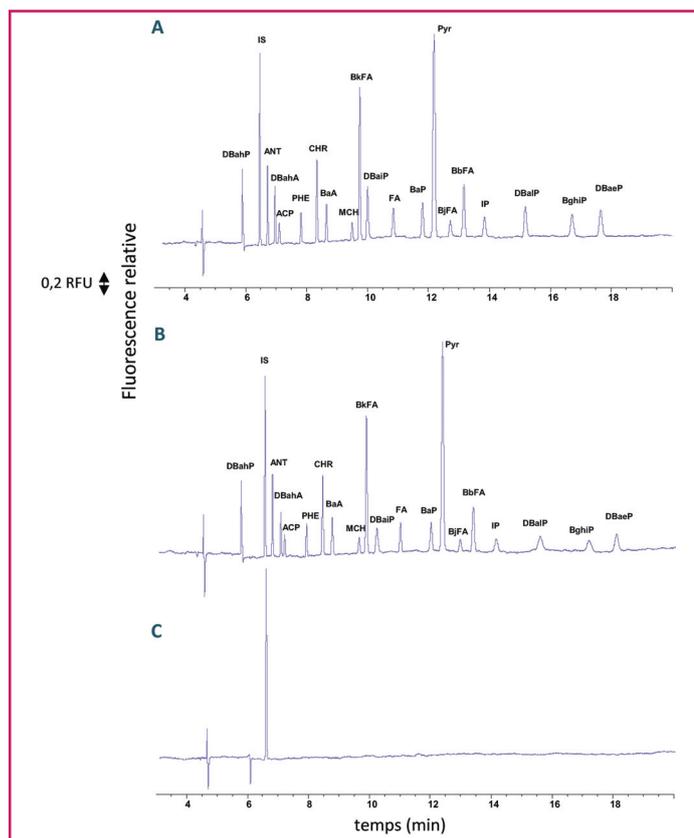


Figure 2 - Électrophorégrammes correspondant à l'analyse en chromatographie électrocinétique de 19 HAP (A) en mélange standard ou (B) après extraction et dopage à $100 \mu\text{g L}^{-1}$ d'une huile Isio 4@. (C) Huile extraite et dopée uniquement avec l'étalon interne (IS). Capillaire de silice vierge, $50 \mu\text{m} \times 49 \text{ cm}$ (détection à $33,5 \text{ cm}$). Électrolyte : SBE- β -CD 9,4 mM et 14,1 mM Me- β -CD dans un mélange eau-MeOH 88,8:11,2 (v/v) ; détection LIF ($\lambda_{\text{exc}} = 325 \text{ nm}$, $\lambda_{\text{em}} > 350 \text{ nm}$). RFU : « relative fluorescence unit ». D'après [23].

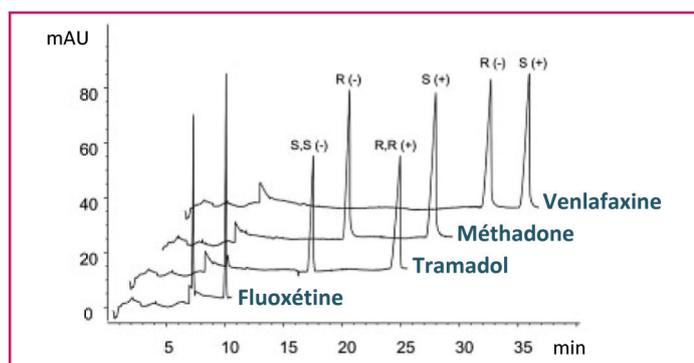


Figure 3 - Électrophorégrammes correspondant à la séparation chirale par chromatographie électrocinétique de mélanges racémiques de molécules pharmaceutiques. Le rendement est de 100 %. Capillaire de silice vierge, $50 \mu\text{m} \times 64,5 \text{ cm}$ (détection à 56 cm). Électrolyte : HS- γ -CD 2 % dans du formiate d'ammonium 30 mM à pH 2,5 (détection UV à 200 nm). D'après [41].

chiral. Allié aux très hautes performances de la CE, il est aussi possible de tester rapidement différents sélecteurs chiraux (CD neutres ou chargées, antibiotiques macrocycliques, polysaccharides...) et de varier leur concentration par simple dilution dans l'électrolyte qui peut être renouvelé entre chaque analyse [24]. La figure 3 présente un exemple de séparations chirales obtenues avec cette approche en

introduisant une cyclodextrine hautement sulfatée (HS- γ -CD) dans l'électrolyte. Il existe enfin d'autres techniques de chromatographie électrocinétique où la pseudo-phase stationnaire peut être constituée de dendrimères, de gouttes d'un solvant non miscible...

Pour la détection en EKC, les détecteurs optiques pourront être utilisés sans soucis, mais pour le couplage EKC-MS, il y a des limitations car toutes les pseudo-phases stationnaires ne sont pas forcément compatibles. On peut dans ce cas mettre en œuvre une approche soit de remplissage partiel du capillaire, soit de migration inversée des additifs utilisés.

Électrochromatographie

Il est possible d'introduire une phase stationnaire dans le capillaire ; on parle alors d'électrochromatographie (« capillary electrochromatography », CEC) [1]. Cette technique hybride allie les hautes performances de la CE et la sélectivité des phases stationnaires de la chromatographie en phase liquide. Le mécanisme de séparation est alors basé sur des interactions entre les composés, la phase stationnaire et la phase mobile et, pour les composés chargés, s'ajoutent les phénomènes électrophorétiques. Les groupements ionisés à la surface de la phase stationnaire, tels que des silanols résiduels sur une silice greffée, génèrent l'écoulement de la phase mobile par électroosmose.

L'une des difficultés de la CEC concerne le remplissage homogène et reproductible d'une portion du capillaire avec des billes de phase stationnaire et leur immobilisation *via* des frittes, fragiles et propices à la génération de bulles d'air. Une autre option consiste donc à déposer la phase stationnaire sous forme d'un film mince [25], comme cela existe pour les colonnes de chromatographie en phase gazeuse. Cela nécessite des capillaires de faible diamètre ($10 \mu\text{m}$) pour favoriser les interactions analytes-phase stationnaire, ce qui limite la sensibilité avec une détection optique. De plus, le ratio phase stationnaire/phase mobile est très faible.

L'option la plus pertinente consiste donc à synthétiser la phase stationnaire directement au sein du capillaire sous forme d'un monolithe inorganique, organique ou hybride. Pour le futur ancrage du monolithe à la paroi, il y a d'abord une première étape de silanisation du capillaire avec une solution contenant un agent qui possède un groupement silane trifonctionnel pouvant se lier à la paroi de silice du capillaire et une fonction qui participera à la polymérisation du monolithe. L'agent le plus utilisé est le 3-(triméthoxysilyl) propyl méthacrylate. Ensuite, un mélange de réactifs est introduit et la polymérisation est initiée thermiquement ou par photo-irradiation. Cette synthèse est donc facile, rapide, reproductible et donne un matériau homogène sur toute la longueur du capillaire. Une très large gamme de monomères est disponible, ce qui donne des monolithes ayant des propriétés de rétention et des écoulements électroosmotiques très variés. Il est également possible de modifier chimiquement la surface du monolithe ultérieurement à sa synthèse. De très grandes efficacités de séparation peuvent être obtenues pouvant atteindre plusieurs centaines de milliers de plateaux par mètre [26].

Puces électrophorétiques

Un microsystème, dit aussi puce, séparatif est un ensemble de quelques cm^2 résultant de l'assemblage de deux éléments : une plaque inférieure contenant un réseau de canaux dont les sections sont de quelques centaines de

μm^2 et une plaque supérieure comportant des orifices jouant le rôle de réservoirs et/ou permettant l'interfaçage du réseau de canaux avec l'extérieur. Toutes les techniques électrophorétiques préalablement décrites en format capillaire peuvent se transposer en format puce, avec comme avantages supplémentaires visés l'analyse haut débit, en particulier *via* la parallélisation et la portabilité. En effet, les capillaires et les canaux d'une puce ont des sections du même ordre de grandeur. En ce qui concerne les longueurs de séparation, elles sont beaucoup plus courtes, traditionnellement de 5 à 10 cm sur puce contre 30 à 90 cm en capillaire. Les analyses sont donc beaucoup plus rapides sur puce, mais les résolutions seront moins bonnes, d'un facteur 2 à 3.

C'est Terry *et coll.* qui ont publié pour la première fois en 1979 un microsystème séparatif, mettant en œuvre de la chromatographie en phase gazeuse dans ce cas [27], puis Manz *et coll.* ont présenté en 1989 pour la première fois le concept de μ -TAS, pour « micro-total analysis system », c'est-à-dire une puce intégrant toutes les étapes nécessaires à une analyse, du traitement de l'échantillon à la détection des analytes, en passant si besoin par des étapes de dérivation, de digestion... [28]. Ils ont ensuite publié en 1992 les premières séparations sur puce de nature électrophorétique (« microchip electrophoresis », MCE), plus simples à mettre en œuvre que celles de type chromatographique puisqu'il suffit de remplir un canal avec un électrolyte et d'imposer une différence de potentiel *via* des électrodes plongeant dans les réservoirs [29]. Ensuite, de très nombreux travaux en MCE ont été publiés [30].

Le verre reste pour l'instant encore le matériau idéal : inerte chimiquement, transparent, avec un contrôle aisé de l'écoulement électroosmotique et des technologies variées de microélectronique pour la gravure des canaux ou l'intégration d'électrodes par exemple. Cependant, le coût de fabrication reste élevé et de très nombreux groupes de recherche portent leurs efforts sur le développement de nouvelles approches, soit pour diminuer les coûts de fabrication de puces en verre, soit pour synthétiser et fonctionnaliser des puces à base de matériau polymère (polydiméthylsiloxane, polyméthacrylate de méthyl...).

Une infinité de géométries des canaux est envisageable, ce qui offre de multiples possibilités. De plus, même avec une géométrie en croix toute simple, différentes approches sont possibles, par exemple pour l'étape d'injection [31]. En revanche, les modes de séparation tels qu'en zone, en chromatographie électrocinétique ou en électrochromatographie sont très proches en formats capillaire et microsystème, et c'est pourquoi ils ne seront pas repris de manière plus détaillée ici. L'un des domaines qui est plus varié en format puce qu'en capillaire est celui de la fonctionnalisation de surface (nature et protocole) pour limiter l'adsorption des analytes et/ou contrôler le sens et l'amplitude de l'écoulement électroosmotique, surtout quand les puces sont à base de polymères. Enfin, ce qui est unique aux puces, c'est la possibilité de coupler différents modes de séparation, donc de faire des séparations bidimensionnelles, *via* l'infinité de géométries possibles des réseaux de canaux qui peuvent être gravés sur une puce et le développement de puces 3D [30].

Sur les puces, le mode de détection très majoritairement utilisé est le LIF pour sa très grande sensibilité, ce qui est souvent nécessaire à cause, comme en CE, des très petits volumes d'échantillons et des faibles chemins optiques [30]. L'une des évolutions actuelles est basée sur le développement de diodes électroluminescentes (LED) dans l'UV, car les LED sont beaucoup moins coûteuses qu'un laser et sont intégrables sur les puces grâce à leur très faible taille. Cependant,

que la fluorescence soit induite par un laser ou une LED, une étape de dérivation est souvent requise puisque très peu de composés fluorescents nativement. D'autres types de détecteurs optiques basés sur de l'absorbance UV ont été et sont toujours en cours de développement [30]. Il est bien sûr aussi possible de faire de la détection par conductimétrie sans contact, avec les mêmes contraintes qu'en format capillaire. Contrairement au format capillaire, la détection électrochimique est très utilisée sur les puces pour son caractère miniaturisé, mais elle souffre comme le LIF de son caractère non universel, avec en plus des difficultés liées au découplage des champs électriques de séparation et de détection. Pour ces deux derniers modes de détection, il existe un domaine très actif de recherche afin de proposer de nouveaux modes de fabrication ou de nouveaux matériaux, comme les nanotubes de carbone par exemple, pour intégrer les électrodes nécessaires sur les puces. Enfin, bien sûr, la spectrométrie de masse est l'un des modes de détection possible, même si dans ce cas la notion de portabilité disparaît puisqu'il faut alors coupler la puce à un spectromètre de masse classique.

Bien qu'aujourd'hui de nombreuses applications d'analyses de petites molécules dans des domaines variés ont été publiées [2, 30, 32-35] et que trois systèmes soient commercialisés (2100 Bioanalyzer-Agilent Technologies, LabChip-Perkin Elmer et Experion-Bio-Rad), il n'en demeure pas moins que la MCE et les systèmes microfluidiques dans leur ensemble n'arrivent pas à franchir un réel cap en termes de commercialisation et donc d'adoption par le plus grand nombre. Plusieurs explications sont possibles telles que le coût actuel des puces, le manque de standardisation et des problèmes relatifs à la propriété intellectuelle. Néanmoins, il semble surtout manquer encore aujourd'hui d'une « killer application » qui démontrera que l'analyse en MCE est plus qu'une simple analyse en électrophorèse capillaire transférée au format microsystème [36]. De plus, l'analyse de composés à l'état de traces présents dans des échantillons complexes reste un défi, car trop peu se sont jusqu'à présent penchés sur l'intégration d'une étape de traitement de l'échantillon sélective et performante dans une puce.

Extraction sélective des analytes

Pour pouvoir appliquer ces microsystèmes à l'analyse de traces en milieux complexes, cela nécessite aujourd'hui l'intégration d'outils de préconcentration suffisamment sélectifs pour compenser la diminution de la résolution des systèmes séparatifs inhérente à la réduction des longueurs de séparation qui peut être un frein à des applications en milieu réel ; la sélectivité permet en effet d'éliminer des composés majoritaires pouvant co-éluer avec les composés d'intérêt.

Supports à reconnaissance moléculaire

Aujourd'hui, un apport optimal en sélectivité au niveau du traitement de l'échantillon est possible *via* l'utilisation de supports d'extraction mettant en jeu un mécanisme de rétention très sélectif basé sur la reconnaissance moléculaire en amont de l'analyse conventionnelle par chromatographie en phase liquide ou gazeuse. Ils permettent d'extraire sélectivement une molécule ou une famille structurale de molécules en isolant des autres constituants de l'échantillon de manière à rendre son analyse quantitative plus fiable. Trois approches sont étudiées depuis de nombreuses années au Laboratoire de Sciences Analytiques, Bioanalytiques et Miniaturisation (LSABM, CNRS-ESPCI, Paris).

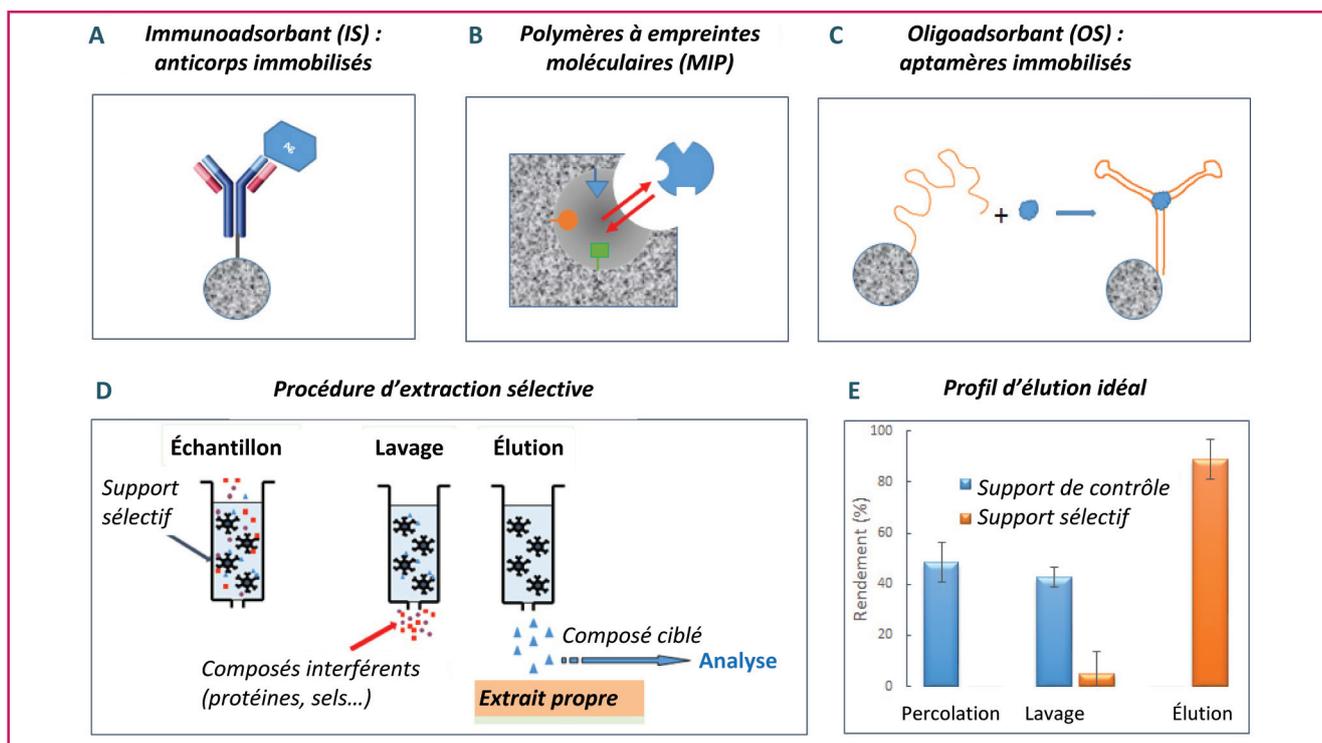


Figure 4 - Représentation schématique d'un immunoabsorbant (A), d'un MIP (B) et d'un oligoabsorbant (C) utilisés pour extraire sélectivement une molécule ciblée et éventuellement des analogues structuraux selon une procédure décrite en (D) afin d'obtenir un profil d'extraction sélectif (E) qui se traduit par une forte rétention sur le support sélectif et une faible rétention sur un support de contrôle utilisé pour évaluer les risques d'interactions non spécifiques.

Parmi celles-ci, on peut citer les immunoabsorbants (IS) constitués d'anticorps, spécifiques d'une molécule ou d'une famille de molécules, immobilisés sur un support solide (silice, gel d'agarose...) (figure 4A). Si la production d'anticorps spécifiques de petites molécules est difficile puisqu'elle nécessite une modification chimique du composé ciblé avant immunisation, elle conduit cependant à un support de fort potentiel pour l'extraction d'un composé seul dans un échantillon complexe mais aussi de plusieurs analogues structuraux. Malgré leur potentiel élevé, leur développement prend du temps et est relativement coûteux.

Ces inconvénients ont conduit au développement de polymères à empreintes moléculaires (MIP) qui sont des matériaux polymères synthétiques possédant des cavités spécifiques conçues pour une molécule modèle impliquant un mécanisme de rétention également basé sur la reconnaissance moléculaire (figure 4B). Ils présentent l'avantage d'être synthétisés en quelques jours. En retour, leur application à des échantillons réels nécessite une optimisation soignée de la procédure d'extraction pour atteindre la sélectivité attendue, cette procédure sélective étant très facile à développer lors de l'utilisation d'anticorps.

Plus récemment, comme alternative aux deux approches précédentes, des aptamères immobilisés sur un support solide, c'est-à-dire un oligoabsorbant (OS), ont été proposés (figure 4C). Grâce à la haute affinité et à la sélectivité élevée de l'interaction qu'offrent les aptamères vis-à-vis de certains analytes cibles, ils constituent également des outils puissants qui permettent une extraction sélective et la concentration d'un analyte cible à partir d'échantillons liquides en une étape ou la purification d'extraits d'échantillons solides.

Le principe d'une procédure d'extraction sélective sur ce type de supports ainsi que le profil idéal attendu lorsque l'on compare ces supports à des supports de contrôle (support

non imprimé pour le MIP ou supports greffés par des anticorps ou des aptamères non spécifiques de la molécule ciblée pour les OS et les IS) sont présentés en figure 4D-E. La comparaison de ces différentes approches développées pour une molécule cible, l'ochratoxine A (OTA), a été récemment décrite dans une revue [37]. Celle-ci met en évidence que si la forte affinité des anticorps pour leur cible conduit à des facteurs d'enrichissement et un degré de purification élevés, les oligoabsorbants à base d'aptamères immobilisés et les polymères à empreintes moléculaires constituent une alternative intéressante aux anticorps car certains d'entre eux présentent des affinités similaires et peuvent être produits à un coût inférieur à celui des immunosorbants. La nature des interactions entre une cible et ces supports (à savoir les résidus de monomères des cavités de MIP, les nucléotides impliqués dans les sites de fixation d'aptamères ou la séquence d'acides aminés des anticorps) est différente, ce qui implique la nécessité d'ajuster la procédure d'extraction à chaque support et explique également une rétention plus ou moins forte d'analogues sur ces différents adsorbants.

Miniaturisation des supports d'extraction sélectifs

Utilisés en amont des méthodes conventionnelles, ces supports se présentent sous la forme de particules de 25-50 μm (billes de silice ou d'agarose greffées par des biomolécules ou billes de MIP) conditionnées entre deux frittés dans une cartouche de polypropylène de quelques mL. Pour l'introduction de ces supports dans des capillaires pour une couplage en nanochromatographie en phase liquide (nanoLC) ou dans des puces, des frittés peuvent être synthétisés, mais leur préparation est fastidieuse et difficile.

Par conséquent, l'introduction de ces supports sélectifs dans de tels dispositifs miniaturisés implique de nouvelles stratégies de synthèse.

À ce titre, des MIP peuvent être générés *in situ* sous forme de monolithes. Contrairement aux polymères issus d'une synthèse dite en bloc (qui sont broyés pour conduire, après tamisage et sédimentation, à des particules de taille adaptée à l'écoulement des fluides), le potentiel de ces supports repose sur la présence de macropores assurant une grande perméabilité du support et sur la génération simultanée des sites de reconnaissance moléculaire.

D'abord synthétisés *in situ* par Schweitz *et coll.* pour la CEC, des monolithes MIP ont plus récemment été préparés pour le développement de dispositifs d'extraction miniaturisés dans des pointes de pipette mais aussi dans des capillaires de 100 μm de diamètre interne. En effet, la preuve de faisabilité de la préparation d'un capillaire contenant un monolithe MIP développé pour l'extraction des aflatoxines B1, B2 et G1, connecté en ligne à la nanoLC et appliqué à l'extraction sélective des aflatoxines à partir d'un échantillon d'eau pure a été faite [38]. De manière similaire, nous avons récemment préparé un MIP pour l'extraction sélective de la benzoylécgonine, métabolite urinaire de la cocaïne (figure 5A). Ce monolithe bien ancré à la paroi du capillaire et couplé en ligne à la nanoLC/UV (figure 5C-D) permet son suivi dans un échantillon d'urine (figure 5B). L'extraction sur MIP permet l'élimination d'un grand nombre de composés présents dans les urines qui apparaissent sur le chromatogramme correspondant à l'injection directe de l'échantillon d'urine (filtré et dilué par deux par un tampon), rendant l'analyse de la benzoylécgonine plus fiable.

Concernant l'intégration des anticorps ou des aptamères dans un système miniaturisé, une stratégie peut consister en l'immobilisation directe des biomolécules sur la paroi interne du capillaire de silice, mais cette approche conduit à une capacité très faible, limitant ainsi la quantité d'analytes pouvant être extraite. Une alternative émergente pour améliorer la densité des biomolécules à l'intérieur du capillaire ou des canaux d'une puce consiste à synthétiser *in situ* un support monolithique, lié aux parois des capillaires/des canaux, et présentant à sa surface les fonctions appropriées pour immobiliser les anticorps ou les aptamères. C'est cette approche que nous avons utilisée pour produire des IS et des OS miniaturisés (mIS, mOS) *via* la synthèse *in situ* d'un monolithe hybride organique-inorganique par voie sol-gel dans un capillaire de silice de 100 μm de diamètre interne suivi d'un greffage covalent des aptamères ou des anticorps grâce à des groupements aminés présents en surface du monolithe [39-40]. Des aptamères dirigés contre l'OTA ont été notamment greffés avec des taux de greffage de l'ordre de 100 %, alors que des greffages d'anticorps, dirigés contre la microcystine LR, dans des conditions similaires, ont conduit à des taux de greffage de l'ordre de 7 %. Cette différence a été attribuée à la différence de taille entre les deux entités, et notamment une limitation par gêne stérique du greffage des anticorps de masse molaire quinze fois plus élevée que les aptamères pris comme modèle d'étude. La reproductibilité de la préparation des mOS a été démontrée par l'obtention de rendements d'extraction similaires et supérieurs à 80 % de l'OTA préconcentrée sur des mOS résultant de plusieurs synthèses indépendantes. Malgré un plus faible taux de greffage pour les anticorps, la répétabilité de la préparation des IS a été démontrée de manière similaire. Pour s'assurer du fait que l'extraction était due à l'établissement d'interactions spécifiques entre les aptamères ou les anticorps et leur cible

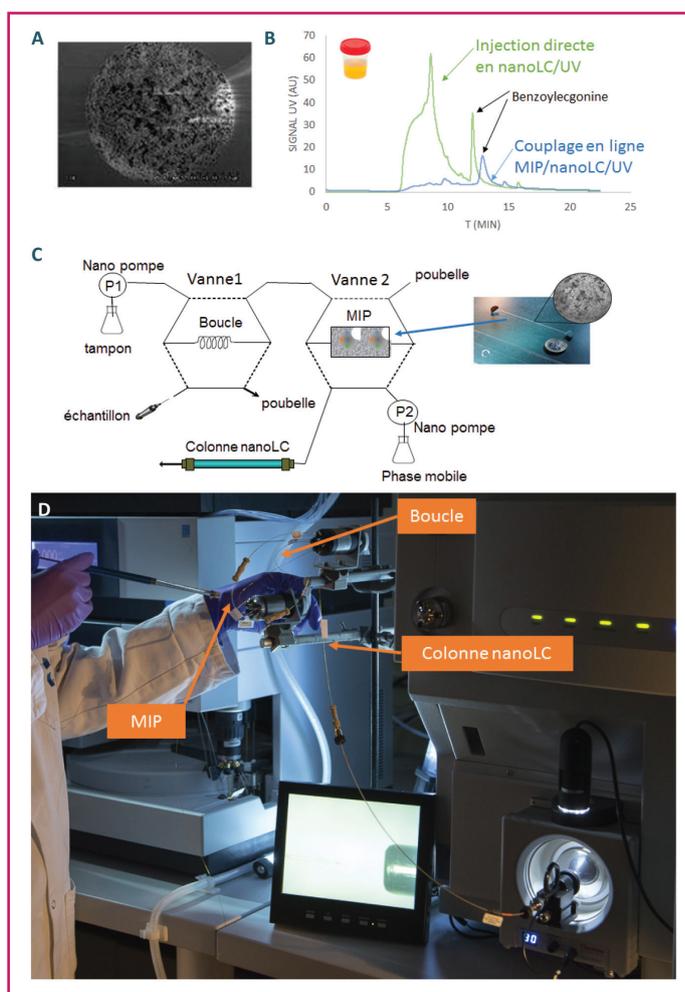


Figure 5 - (A) Observation par MEB d'un MIP préparé *in situ* dans un capillaire de silice de 100 μm de diamètre interne et (B-C) analyse d'un échantillon d'urine (120 nL) dopé par de la benzoylécgonine (10 $\mu\text{g}/\text{mL}$) par injection directe en nanoLC/UV ou par le couplage d'un monolithe de MIP couplé en ligne à la nanoLC/UV. (D) Photo du couplage avec la spectrométrie de masse.

respective, l'OTA ou la microcystine LR, et non pas à des interactions non spécifiques avec le monolithe, des aptamères et des anticorps dirigés contre d'autres cibles ont été greffés de la même manière et il a été vérifié que ces supports ne retenaient pas les molécules ciblées.

Les mOS et les mIS ont été couplés en ligne à la nanoLC selon un montage en ligne identique à celui mis en place pour le MIP (figure 5C) et ont permis l'extraction sélective de l'OTA d'échantillons de bière ou de microcystine LR d'un extrait de culture algale. Les résultats sont présentés en figure 6A et B respectivement [39-40]. Concernant le mOS (figure 6A), la comparaison avec la solution de tampon dopé montre que d'autres composants de la bière ont été éliminés pendant les étapes de percolation et de lavage sur le mOS, alors que l'OTA était au contraire sélectivement retenue sur le mOS conduisant alors à un chromatogramme très similaire à celui correspondant à une solution tampon dopée. En outre, l'OTA n'a pas été retenu sur le support de contrôle (qui correspond au même monolithe greffé avec des aptamères non spécifiques), démontrant la contribution des aptamères OTA dans le processus de rétention sélective. De manière analogue, un chromatogramme similaire à celui d'une injection d'eau pure dopée a été obtenu après injection de 150 nL d'un extrait de cyanobactéries sur le mIS greffé par des anticorps anti-mLR

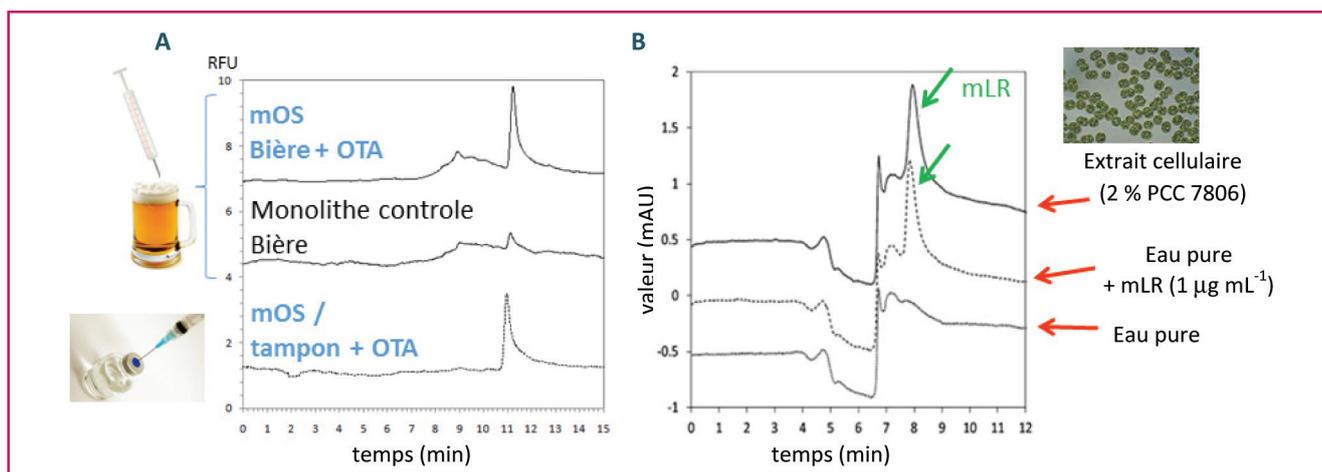
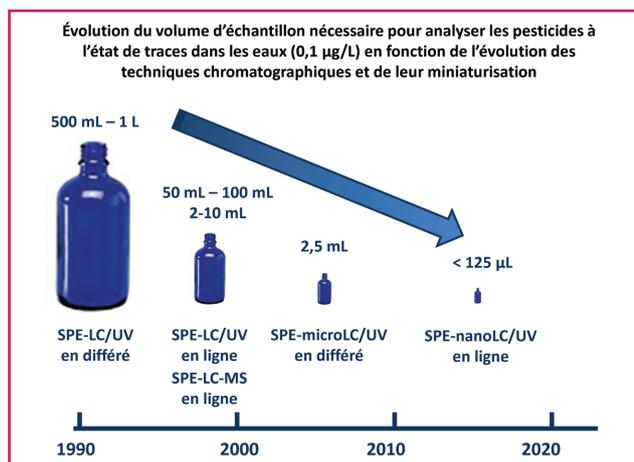


Figure 6 - (A) Analyse de l'OTA dans un échantillon de bière simplement dilué (facteur 2) par un tampon et analyse d'une solution tampon additionnée d'une même quantité d'OTA (75 pg, 250 nL) sur un mOS ou un support de contrôle couplé en ligne à la nanoLC-LIF. (B) Analyse de la microcystine LR présente dans un extrait de culture d'algues et dans de l'eau pure dopée à 1 µg/ml (150 nL) et non dopée par le couplage en ligne mIS/nanoLC/UV. Adapté de [39-40].

et couplé en ligne à une analyse en nanoLC/UV (figure 6B). Ces résultats confirment le succès de l'extraction sélective mais aussi le fort effet de purification induit par ces outils. Il est parallèlement important de noter les faibles volumes injectés dans les systèmes, de 150 à 250 nL, qui permettent néanmoins par la miniaturisation de l'ensemble du dispositif d'atteindre des niveaux de concentration faibles.

Conclusion

De très nombreux efforts sont aujourd'hui réalisés dans le but de miniaturiser les systèmes analytiques afin de répondre aux demandes sociétales pour avoir des analyses rapides, peu coûteuses, fiables, peu consommatrices en solvant et en échantillon. Des approches innovantes sont donc nécessaires, en particulier quand les composés ciblés sont présents à l'état de traces dans un échantillon complexe. Ainsi, c'est l'ensemble des étapes d'une analyse (échantillonnage, traitement de l'échantillon, séparation, détection et traitement des données) qui doit être repensé. Nul doute que le développement de l'approche μ -TAS deviendra un jour un standard incontournable pour certaines applications. Néanmoins, il semble raisonnable de penser que nos approches électrophorétiques et chromatographiques traditionnelles continueront elles aussi à exister puisqu'elles ont elles-mêmes déjà été miniaturisées avec succès et que l'étape de traitement de l'échantillon suit cette voie.



Références

- [1] Buszewski B., Dziubakiewicz E., Szumski M. (eds), *Electromigration Techniques – Theory and Practice*, Springer Series in Chemical Physics, **2013**, p. 105.
- [2] Sarazin C., Delaunay N., Varenne A., Costanza C., Eudes V., Gareil P., Capillary and microchip electrophoretic analyses of explosives and their residues, *Sep. Purif. Rev.*, **2010**, *39*, p. 63.
- [3] de Oliveira M.A.L. et al., Analysis of amino acids, proteins, carbohydrates and lipids in food by capillary electromigration methods: a review, *Anal. Meth.*, **2016**, *8*, p. 3649.
- [4] El Deeb S., Watzig H., Abd El-Hady D., Sanger-van de Griend C., Scriba G.K.E., Recent advances in capillary electrophoretic migration techniques for pharmaceutical analysis (2013-2015), *Electrophoresis*, **2016**, *37*, p. 1591.
- [5] Elbashir A.A., Aboul-Enein H.Y., Separation and analysis of triazine herbicide residues by capillary electrophoresis, *Biomed. Chrom.*, **2015**, *29*, p. 835.
- [6] Hirayama A., Wakayama M., Soga T., Metabolome analysis based on capillary electrophoresis-mass spectrometry, *TRAC-Trend Anal. Chem.*, **2014**, *61*, p. 215.
- [7] Deblonde G.J.-P., Chagnes A., Cote G., Vial J., Rivals I., Delaunay N., Development of a capillary electrophoresis method for the analysis in alkaline media of two strategic metals: niobium and tantalum, *J. Chromatogr. A*, **2016**, *1437*, p. 210.
- [8] Sarazin C., Delaunay N., Varenne A., Vial J., Costanza C., Eudes V., Minet J.-J., 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*, p. 6971.
- [9] Sarazin C., Delaunay N., Costanza C., Eudes V., Gareil P., Capillary electrophoresis analysis of inorganic cations in post-blast residue extracts applying a guanidinium-based electrolyte and bilayer-coated capillaries, *Electrophoresis*, **2011**, *32*, p. 1282.
- [10] Urbanek M., Delaunay N., Michel R., Varenne A., Gareil P., Analysis of sub-ppb levels of Fe(II), Co(II), and Ni(II) by electrokinetic supercharging preconcentration, CZE separation, and in-capillary derivatization, *Electrophoresis*, **2007**, *28*, p. 3767.
- [11] Wuethrich A., Quirino J.P., Derivatization for separation and detection in capillary electrophoresis (2012-2015), *Electrophoresis*, **2016**, *37*, p. 45.
- [12] Sarazin C., Delaunay N., Costanza C., Eudes V., Mallet J.-M., Gareil P., New avenue for mid-UV-range detection of underivatized carbohydrates and amino acids in capillary electrophoresis, *Anal. Chem.*, **2011**, *83*, p. 7381.
- [13] Sarazin C., Delaunay N., Costanza C., Eudes V., Gareil P., Application of a new capillary electrophoretic method for the determination of carbohydrates in forensic, pharmaceutical, and beverage samples, *Talanta*, **2012**, *99*, p. 202.
- [14] Alinat E., Jemmali S., Delaunay N., Archer X., Gareil P., Analysis of underivatized cellodextrin oligosaccharides by capillary electrophoresis with direct photochemically induced UV-detection, *Electrophoresis*, **2015**, *36*, p. 1555.
- [15] Elbashir A.A., Aboul-Enein H.Y., Recent applications and developments of capacitively coupled contactless conductivity detection (CE-C4D) in capillary electrophoresis, *Biomed. Chromatogr.*, **2014**, *28*, p. 1502.
- [16] García-Campaña A.M., Taverna M., Fabre H., LIF detection of peptides and proteins in CE, *Electrophoresis*, **2007**, *28*, p. 208.
- [17] Hommerson P., Khan A.M., de Jong G.J., Somsen G.W., Ionization techniques in capillary electrophoresis-mass spectrometry: principle, design, and application, *Mass Spectrom. Rev.*, **2011**, *30*, p. 1096.

- [18] Lagarrigue M., Bossée A., Bégos A., Delaunay N., Varenne A., Gareil P., Bellier B., Field-amplified sample stacking for the detection of chemical warfare agent degradation products in low-conductivity matrices by capillary electrophoresis-mass spectrometry, *J. Chromatogr. A*, **2008**, *1178*, p. 239.
- [19] Mala Z., Slampova A., Krivankova L., Gebauer P., Bocek P., Contemporary sample stacking in analytical electrophoresis, *Electrophoresis*, **2015**, *36*, p. 15.
- [20] Quirino J.P., Anres P., Sirieix-Plénet J., Delaunay N., Gareil P., Potential of long chain ionic liquids for on-line sample concentration techniques: application to micelle to solvent stacking, *J. Chromatogr. A*, **2011**, *1218*, p. 5718.
- [21] Anres P., Delaunay N., Vial J., Thormann W., Gareil P., Influence of high conductivity buffer composition on field-enhanced sample injection coupled to sweeping in capillary electrophoresis, *Electrophoresis*, **2013**, *34*, p. 353.
- [22] Lagarrigue M., Bossée A., Bégos A., Delaunay N., Varenne A., Gareil P., Bellier B., Analysis of nerve agent degradation products in high conductivity matrices by in-line transient isotachopheresis preconcentration and capillary zone electrophoresis separation coupled to electrospray ionization mass spectrometry, *Electrophoresis*, **2009**, *30*, p. 1522.
- [23] Ferey L., Delaunay N., Rutledge D.N., Huertas A., Raoul Y., Gareil P., Vial J., Rivals I., An experimental design based strategy to optimize a capillary electrophoresis method for the separation of 19 polycyclic aromatic hydrocarbons, *Anal. Chim. Acta*, **2014**, *820*, p. 195.
- [24] Stavrou I.J., Mavroudi M.C., Kapnissi-Christodoulou C.P., Chiral selectors in CE: recent developments and applications (2012-mid 2014), *Electrophoresis*, **2015**, *36*, p. 101.
- [25] Aydogan C., Çetin K., Denizli A., Novel tentacle-type polymer stationary phase grafted with anion exchange polymer chains for open tubular CEC of nucleosides and proteins, *Analyst*, **2014**, *139*, p. 3790.
- [26] Delaunay N., Demesmay C., Rocca J.-L., Development and in-situ synthesis of monolithic stationary phases for electrochromatographic separations, *Electrophoresis*, **2004**, *25*, p. 3204.
- [27] Terry S.C., Jerman J.H., Angell J.B., A gas chromatographic air analyzer fabricated on a silicon wafer, *IEEE T. Electron Dev.*, **1979**, *26*, p. 1880.
- [28] Manz A., Graber N., Widmer H., in *Transducers '89: Proceedings of the 5th International Conference on Solid-State Sensors, Actuators and Eurosensors II* (Montreux, Suisse), S. Middelhoek (ed.), **1989**, p. 244.
- [29] Manz A., Harrison D.J., Verpoorte E.M.J., Fettinger J.C., Paulus A., Ludi H., Widmer H.M., Planar chips technology for miniaturization and integration of separation techniques into monitoring systems capillary electrophoresis on a chip, *J. Chromatogr.*, **1992**, *593*, p. 253.
- [30] Castro E.R., Manz A., Present state of microchip electrophoresis: state of the art and routine applications, *J. Chromatogr. A*, **2015**, *1382*, p. 66.
- [31] Blas M., Delaunay N., Rocca J.-L., Electrokinetic-based injection modes for separative microsystems, *Electrophoresis*, **2008**, *29*, p. 20.
- [32] Ferey L., Delaunay N., Food analysis on electrophoretic microchips, *Sep. Purif. Rev.*, **2016**, *45*, p. 193.
- [33] Ferey L., Delaunay N., Capillary and microchip electrophoretic analysis of polycyclic aromatic hydrocarbons, *Anal. Bioanal. Chem.*, **2015**, *407*, p. 2727.
- [34] Kasicka V., Recent developments in capillary and microchip electroseparations of peptides (2013-middle 2015), *Electrophoresis*, **2016**, *37*, p. 162.
- [35] Nuchtavorn N., Suntornsuk W., Lunte S.M., Suntornsuk L., Recent applications of microchip electrophoresis to biomedical analysis, *J. Pharm. Biomed. Anal.*, **2015**, *113*, p. 72.
- [36] Becker H., Hype, hope and hubris: the quest for the killer application in microfluidic, *Lab Chip*, **2009**, *9*, p. 2119.
- [37] Pichon V., Combès A., Selective tools for the solid-phase extraction of ochratoxin A from various complex samples: immunosorbents, oligosorbents, and molecularly imprinted polymers, *Anal. Bioanal. Chem.*, **2016**, *408*, p. 6983.
- [38] Szumski M., Grzywiński D., Prus W., Buszewski B., Monolithic molecularly imprinted polymeric capillary columns for isolation of aflatoxins, *J. Chromatogr. A*, **2014**, *1364*, p. 163.
- [39] Brothier F., Pichon V., Immobilized antibody on a hybrid organic-inorganic monolith: capillary immunoextraction coupled on-line to nanoLC-UV for the analysis of microcystin-LR, *Anal. Chim. Acta*, **2013**, *792*, p. 52.
- [40] Brothier F., Pichon V., Miniaturized DNA aptamer-based monolithic sorbent for selective extraction of a target analyte coupled on-line to nanoLC, *Anal. Bioanal. Chem.*, **2014**, *406*, p. 7875.
- [41] Rudaz S., Calleri E., Geiser L., Cherkaoui S., Prat J., Veuthey J.-L., Infinite enantiomeric resolution of basic compounds using highly sulfated cyclodextrin as chiral selector in capillary electrophoresis, *Electrophoresis*, **2003**, *24*, p. 2633.



P. Pichon

Valérie Pichon

est professeur à l'UPMC. Elle dirige le Laboratoire de Sciences Analytiques, Bio-analytiques et Miniaturisation (LSABM)* et est directrice adjointe de l'UMR Chimie, Biologie et Innovation 8231 CNRS-ESPCI Paris (dir. J. Bibette).



N. Delaunay

Nathalie Delaunay

est chargée de recherche CNRS au LSABM*.

* LSABM, UMR CBI 8231, CNRS-ESPCI Paris, 10 rue Vauquelin, F-75005 Paris.

Courriels : valerie.pichon@espci.fr ; nathalie.delaunay@espci.fr

C²E - Colloïdes et Fluides complexes pour les Énergies



Compréhension des systèmes :
de la préparation à la conception des procédés

Rueil-Malmaison (près de Paris) ■ 4-6 décembre 2017

www.rs-colloids2017.com

Colloids@ifpen.fr



Pour **PARTAGER, ÉCHANGER, DÉBATTRE** autour des progrès réalisés dans le domaine des **COLLOÏDES** et des **FLUIDES COMPLEXES** avec les acteurs du monde universitaire, de la recherche appliquée et de l'industrie dans les secteurs pétrolier, gazier, nucléaire et énergies renouvelables.

Co-organisé par



@IFPENinnovation

#Colloids2017