

# ÉLECTROPHORÈSE CAPILLAIRE



ÉCOLE TECHNIQUE SUPÉRIEURE DU LABORATOIRE

95, rue du Dessous des Berges, 75013 PARIS

<http://ligodin.free.fr>

[ligodin@free.fr](mailto:ligodin@free.fr)

Licence des Industries Pharmaceutiques, Cosmétologiques et de Santé :  
gestion, production et valorisation, Option CDA

# SOMMAIRE

- I - Aspect théoriques
  - 1) Phénomènes électrocinétiques
  - 2) Électrophorèse
  - 3) Théorie élémentaire de l'électrophorèse
    - 3.1 Expression de la mobilité électrophorétique
    - 3.2 Expression de la densité de courant
    - 3.3 Courant macroscopique
    - 3.4 Conductivité et conductivité équivalente

- 4) Facteurs influençant la mobilité électrophorétiques
  - 4.1 Nature de la molécule
  - 4.2 Composition ionique du tampon d'électrophorèse
  - 4.3 Le champ électrique
- II - Électrophorèse capillaire en pratique
  - 1) Principe
  - 2) Mécanisme de migration
    - 2.1 La migration électrophorétique
    - 2.2 La migration d'électroosmotique

- 4) Les modes de séparation en électrophorèse capillaire

- 4.1 Électrophorèse capillaire en zone libre (FZCE ou Free Zone Capillary Electrophoresis)
- 4.2 Électrophorèse capillaire sur gel (GFCE ou Gel Filled Capillary Electrophoresis)
- 4.3 Électrophorèse en mode micellaire ou chromatographie électrocinétique micellaire (MECC ou Micellar Electrokinetic Capillary Chromatography)
- 4.4 Électrophorèse capillaire à focalisation isoélectrique
- 4.5 Electrochromatographie capillaire
- 4.6 Inversion du flux d'électroendosmose

- 5) Caractéristique de la méthode
  - 5.1 Avantages
    - a) Durée de l'analyse
    - b) Faible volume injecté
    - c) Séparation à température ambiante
    - d) Faible coût d'utilisation
  - 5.2 Les limites
    - a) Sensibilité
    - b) Précision
- 6) Applications

- ▀ Ce sont des méthodes de séparation de composés chargés qui s'effectuent sous l'action d'un champ électrique. La méthode est applicable aussi bien aux ions simples qu'aux macromolécules.
- ▀ Elle est réalisée en veine liquide ou sur support.

L'électrophorèse sur support est aussi appelée électrophorèse de zone.

- ▀ L'électrophorèse fut introduite par Tiselius dans les années 30 à partir d'expériences, dites en veine liquide, de séparation de protéines. Il constate que ces dernières, placées dans un champ électrique, migrent à des vitesses différentes en fonction de leur charges et de leurs masses.

Ce premier procédé a été amélioré et a conduit à l'émergence de différentes techniques où la charge et la masse ne sont plus les seuls critères de séparation. Parmi elles, il convient de citer l'électrophorèse capillaire.

**Arne Wilhelm Kaurin Tiselius (1902-1971)**

**Physicien chimiste suédois, lauréat du prix Nobel 1948**

*Tiselius est né à Stockholm et étudia à l'université d'Uppsala où il fut nommé professeur de biochimie en 1939. Tiselius reçut en 1948 le prix Nobel de chimie pour ses travaux sur la précipitation des colloïdes par électrophorèse (migration des micelles en suspension dans une solution colloïdale lorsqu'on crée un champ électrique entre deux électrodes placées dans la solution), pour laquelle il utilisa un tube appelé tube de Tiselius. Il fut également le premier à développer le plasma sanguin artificiel. De 1960 à 1964, Tiselius fut président de la fondation Nobel, et en 1965, il fut nommé président du comité Nobel de chimie.*



# I- Aspects théoriques

## 1) Phénomènes électrocinétiques

- Il existe à toute interface une double couche de charges électriques opposées analogue aux armatures d'un condensateur chargé.
- Exemple de l'interface constituée par la paroi d'un tube capillaire et la partie de la solution d'un électrolyte qui est au contact du tube :

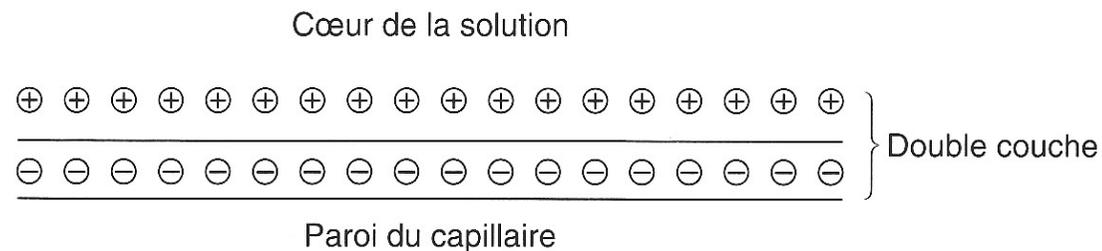


Figure 1 ■ Double couche électrique à une interface.

- Quand l'une des phases chargées se déplace par rapport à l'autre (il ne peut s'agir dans cet exemple que de la solution) des phénomènes électriques importants se produisent, appelés **phénomènes électrocinétiques**.

- Supposons qu'une ddp soit appliquée à travers un tube capillaire rempli d'une solution électrolytique :

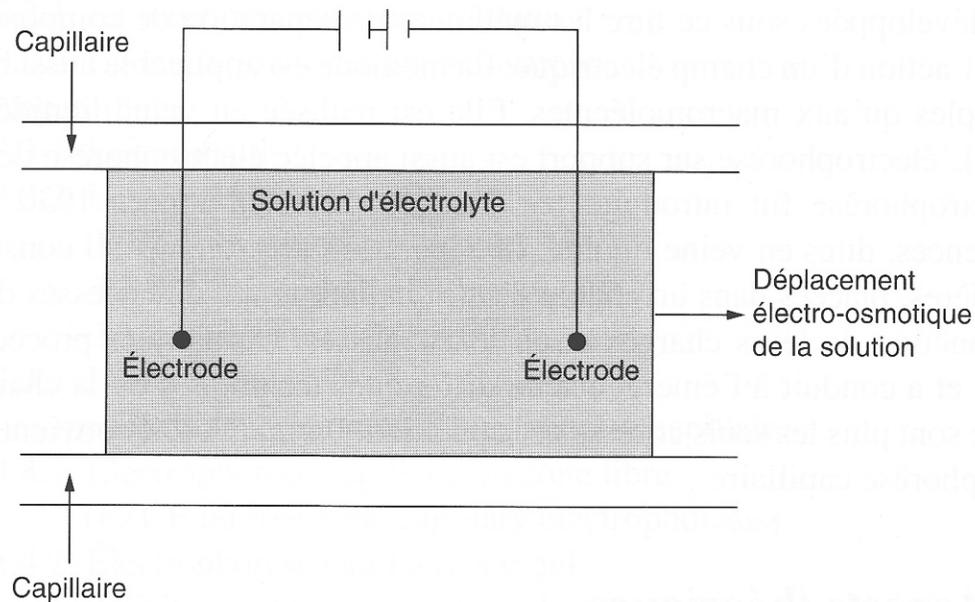


Figure 2 ■ Déplacement électro-osmotique.

- Il apparaît un courant électrique, qui comme prévu, traverse la solution. Il apparaît aussi un phénomène moins prévisible, un déplacement de l'ensemble de la solution. C'est le **phénomène d'électro-osmose** ou **d'électroendosmose**. Le déplacement s'effectue vers la cathode, les cations entraînent avec eux toutes les espèces de la solution qu'elles soient chargées ou pas.

## 2) Électrophorèse

- **L'électrophorèse est le mouvement d'une espèce chargée sous l'influence d'un champ électrique au sein d'un électrolyte stationnaire.**
- Au contact de l'espèce et de l'électrolyte, il existe aussi une double couche électrique. Le **phénomène électrophorétique** est donc de même nature que le **phénomène d'électroosmose** car c'est le déplacement relatif des deux phases chargées à l'interface qui importe.
- Alors que dans l'**électroosmose**, il y a **déplacement de l'ensemble de la solution** par rapport à la paroi du capillaire, dans l'**électrophorèse** la solution peut être considérée comme immobile et **c'est l'espèce chargée qui se déplace.**

**En conséquence, c'est la même théorie qui s'applique.**

# 3) Théorie élémentaire de l'électrophorèse

## 3.1 Expression de la mobilité électrophorétique

- ▀ Les différentes espèces chargées à séparer parcourent une distance donnée (longueur du capillaire) sur des durées différentes, et ce, sous l'action du champ électrique. Il s'agit, ici, de déterminer les paramètres qui conditionnent leur déplacement.
- ▀ Soit un ion soumis à l'influence d'un champ électrique de valeur  $E$ . Il est alors soumis à une force électrique de valeur  $F$  qui lui impose un mouvement. Le mouvement se produisant en milieu liquide donc visqueux, une force de frottement de valeur  $F'$ , opposée à la précédente, apparaît et freine l'ion.
- ▀ Lorsque les valeurs des 2 forces deviennent identiques, l'espèce chargée devient animée d'un mouvement uniforme.
  - ▀ La force électrique a pour valeur :  $F = |q|.E$  ( $q$  étant la charge de l'ion);  
La force de frottement est donnée par la loi de Stokes :  $F' = 6\pi\eta r v$  ( $\eta$  coefficient de viscosité du milieu,  $r$  rayon de l'espèce supposée sphérique et  $v$  sa vitesse)



## Notes

## 3.2 Expression de la densité de courant

- ▀ Le flux d'ions crée une densité de courant  $j$  défini par la relation :

$$j = C_i \cdot z \cdot F_A \cdot v \quad \text{exprimé en A.m}^{-2}$$

- ▀ En écrivant que :  $\mathbf{j} = C_i \cdot z \cdot F_A \cdot \mu \cdot \mathbf{E} = \sigma \cdot \mathbf{E}$

On retrouve la loi d'Ohm microscopique (locale) où  $\sigma = C_i \cdot z \cdot F_A \cdot \mu$  représente la **conductivité** ( $\Omega \cdot m$ ), c.a.d la densité de courant sous l'effet d'un champ unitaire. Comme la mobilité  $\mu$ , la conductivité  $\sigma$  dépend de l'ion  $i$  de charge  $z$  et de concentration  $C_i$  et du milieu.

$F_A = e \cdot N_A$  : constante de Faraday qui s'exprime en  $C \cdot mol^{-1}$ .

## 3.3 Courant macroscopique

- ▀ Il en résulte un courant macroscopique  $\mathbf{i} = \mathbf{j} \cdot \mathbf{S}$  à travers une section  $S$  de surface, ce qui donne :

$$i = C_i \cdot z \cdot F_A \cdot \mu \cdot E \cdot S$$

C.a.d la charge des ions, en concentration  $C_i$  comprise dans le volume  $\mu \cdot E \cdot S = v \cdot S$  et traversant la section  $S$  par seconde.

### 3.4 Conductivité et conductivité équivalente

- On utilise souvent la concentration équivalente  $C_e$ , la conductivité devient :

$$\sigma = C_i \cdot z \cdot F_A \cdot \mu = C_e \cdot F_A \cdot \mu$$

Avec  $C_e = z \cdot C_i = z \cdot \alpha \cdot n \cdot C$  où  $n$  : nbr d'ions libérés.  
 $\alpha$  représentant le coefficient de dissociation d'une espèce donnée.

Pour comparer entre elles les différentes conductivités, on la rapporte à **un équivalent de la solution**. On définit ainsi la **conductivité équivalente, notée  $\Gamma$**  :

$$\Gamma = \sigma / (n \cdot C \cdot z)$$

Comme  $C_e = z \cdot C_i = z \cdot \alpha \cdot n \cdot C \Rightarrow n \cdot C \cdot z = C_e / \alpha \Rightarrow \Gamma = (\sigma / C_e) \cdot \alpha$  et en remplaçant  $\sigma$  par son expression  $\sigma = C_e \cdot F_A \cdot \mu$ , on obtient finalement :

$$\Gamma = \alpha \cdot \mu \cdot F_A$$

**On définit aussi la conductivité équivalente limite, notée  $\Gamma_{\text{lim}}$**  :

$$\Gamma_{\text{lim}} = \mu \cdot F_A = \Gamma / \alpha \quad \text{lorsque} \quad \alpha \rightarrow 1 \quad (\text{dissociation quasi totale})$$

# 4) Facteurs influençant la mobilité électrophorétique

## 4.1 Nature de la molécule

- La **taille** : les petites molécules migrent plus facilement mais leur mobilité dépend également des autres substances dissoutes susceptibles de les solvater et de ↘ leur vitesse.
- La **charge** : Elle influence directement la mobilité. Elle est fonction du pH pour les molécules ionisables, de la force ionique I et éventuellement de la formation de complexes. Le signe de la charge détermine le sens de migration et sa vitesse.

Remarque :

la **force ionique**, notée I, est un des principaux facteurs influençant l'**activité** des **ions** en solution aqueuse, elle se calcule de la façon suivante :

$$I = (1/2)\sum C_i z_i^2$$

où  $C_i$  est la cc de l'ion i et  $z_i$  son nombre de charge.

## 4.2 Composition ionique du tampon d'électrophorèse

- La **force ionique** : La présence d'ions étant nécessaire au passage du courant, un compromis est obtenu avec une force ionique  $I$  comprise entre 0,05 et 1 mol.L<sup>-1</sup>.
- Le **pH** : Celui-ci influe l'ionisation des acides et bases faibles, c'est la raison pour laquelle, il s'avère nécessaire de travailler dans un milieu tamponné.

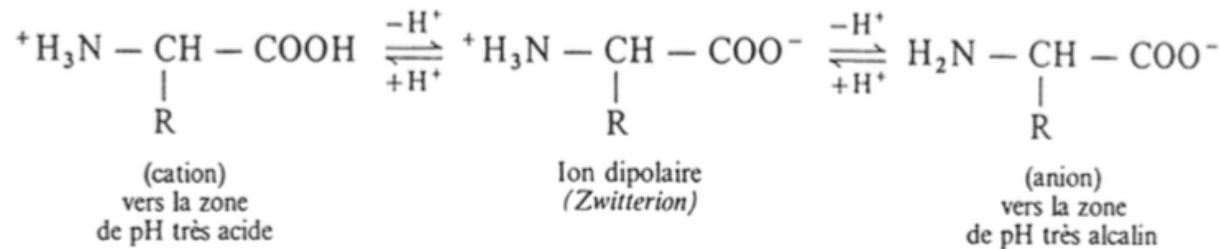
Il existe un déplacement de l'équilibre d'ionisation tout au long du trajet de l'acide faible entre les 2 électrodes. Ainsi :

- \* tout mouvement d'ions A<sup>-</sup> vers l'anode entraîne un déplacement de l'équilibre vers l'ionisation de HA.
- \* au contraire, tout excès d'ions A<sup>-</sup> entraîne un recul d'ionisation de HA.

Les équilibres successifs entre HA et A<sup>-</sup> entraînent une ↘ de  $\mu_e$  de A<sup>-</sup>.

- La plupart des macromolécules sont **zwitterions** (espèce possédant des charges formelles d'une unité, de signes opposés et situées en général sur des atomes non adjacents), la charge dépend du pH de l'environnement.

Chaque composé susceptible de former un zwitterion possède une valeur de pH caractéristique pour laquelle il est sous la **forme zwitterionique globalement neutre** : c'est le pH isoélectrique (ou pHi ou pI). Exemple des acides aminés et par extension des protéines :



Acide aminé	Alanine (Ala; A)
Radical	$  \begin{array}{c}  \text{COO}^- \\    \\  \text{CH-CH}_3 \\    \\  \text{NH}_3^+  \end{array}  $
Remarques	• pKa = 2,3 / pKb = 9,7 / pKr = aucun / pHi = 6,0
Acide aminé	Lysine (Lys; K)
Radical	$  \begin{array}{c}  \text{COO}^- \\    \\  \text{CH-CH}_2\text{-CH}_2\text{-CH}_2\text{-CH}_2\text{-NH}_3^+ \\    \\  \text{NH}_3^+  \end{array}  $
Remarques	• pKa = 2,2 / pKb = 9,0 / pKr = 10,5 / pHi = 9,8

Exemple pour une protéine :  $pH_i = 5,37$  pour SAB dans l'eau pure ;  
 $pH_i = 4,40$  pour SAB dans l'eau salée avec  $[NaCl] = 0,15 \text{ mol.L}^{-1}$ .

Ainsi, **si  $pH = pH_i$  :  $\mu_e = 0$  car la charge globale est nulle ou très faible.**  
**si  $pH > pH_i$  :  $q < 0 \Rightarrow \mu_e < 0$  : déplacement vers l'anode.**  
**si  $pH < pH_i$  :  $q > 0 \Rightarrow \mu_e > 0$  : déplacement vers la cathode.**

➤ La **nature du tampon et de la solution** : À pH et force ionique identiques, 2 tampons de nature différente ne produisent pas toujours des mobilités électrophorétiques identiques.

## 4.3 Le champ électrique

- ▀  $E = \Delta V/L$  avec L distance séparant les électrodes; et  $\Delta V = R.i$  où R est la résistance du milieu entre les électrodes.
  - ▀ Plus  $\Delta V \nearrow$ , plus  $E \nearrow$  et plus la molécule migre rapidement, mais alors  $i \nearrow$  et provoque un effet Joule. Il faut faire un compromis à cause du dégagement de chaleur. D'autre part, celui-ci entraîne des phénomènes d'évaporation de la solution et du tampon  $\Rightarrow$  une modification de  $\eta$  et  $\mu_e$  avec possible précipitation des substances peu solubles.

# II - L'électrophorèse Capillaire en pratique

## 1) Principe

- ▀ Le principe est basé sur la migration différentielle, sous l'effet d'un champ électrique, des espèces neutres ou chargées, dans un capillaire étroit rempli d'électrolyte.
- ▀ C'est une technique plus respectueuse de l'environnement que les techniques CPL car elle n'utilise pas de solvant organique.

## 2) Mécanismes de migration

Le déplacement des substances est régi par 2 phénomènes.

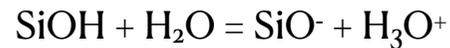
### 2.1 La migration électrophorétique

- ▀ Comme en électrophorèse de zone, les ions ou particules chargées se déplacent, avec une vitesse, fonction de leur masse et de leur charge, donnée par :  $v = \mu_e \cdot E$

## 2.2 La migration électroosmotique

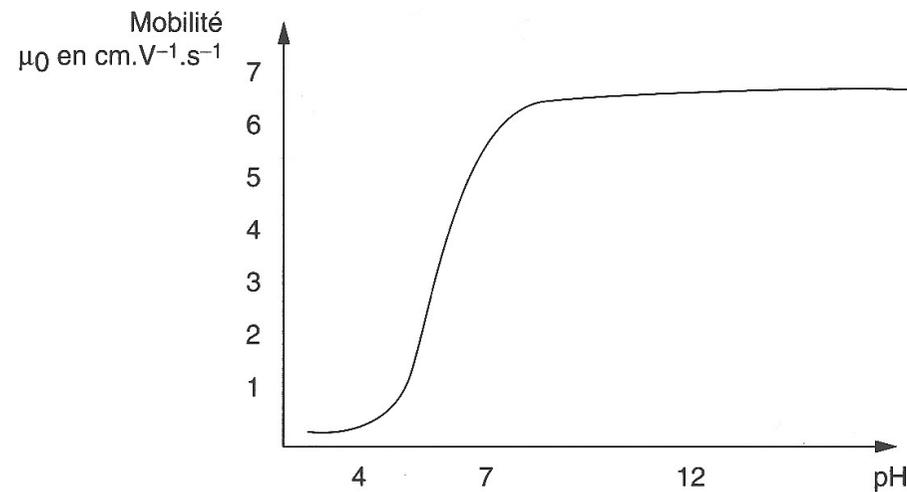
▀ Phénomène parasite en électrophorèse classique, celle-ci est à la base des séparations en électrophorèse capillaire.

▀ Les parois des capillaires en silice fondue portent des groupements silanol SiOH qui s'ionisent au contact de l'eau :



▀ L'équilibre précédent se déplace vers la droite avec le pH.

On constate que l'intensité du flux d'électroendosmose varie donc en fonction du pH et devient constante à pH basique.



■ Évolution de la mobilité d'électroendosmose  $\mu_0$  en fonction du pH.

- ▀ Le déplacement d'un soluté est commandé par la combinaison des deux phénomènes. On définit une mobilité apparente :

$$\mathbf{v} = \mu_{\text{app}} \cdot \mathbf{E} = (\mu_e + \mu_{\text{eo}}) \cdot \mathbf{E} \quad \text{en module}$$

- ▀ Ainsi, avec un injecteur situé près de l'anode et un détecteur près de la cathode :

- Les espèces chargées + ont une mobilité apparente  $\mu_{\text{app}} > \mu_{\text{eo}}$  :

$$\mu_{\text{app}} \rightarrow = \mu_e \rightarrow + \mu_{\text{eo}} \rightarrow$$

- Les espèces chargées - ont une mobilité apparente  $\mu_{\text{app}} < \mu_{\text{eo}}$  :

$$\mu_{\text{app}} \rightarrow = \mu_e \leftarrow + \mu_{\text{eo}} \rightarrow$$

- Les espèces neutres ont une mobilité apparente  $\mu_{\text{app}} = \mu_{\text{eo}}$  :

$$\mu_{\text{app}} \rightarrow = 0 + \mu_{\text{eo}} \rightarrow$$

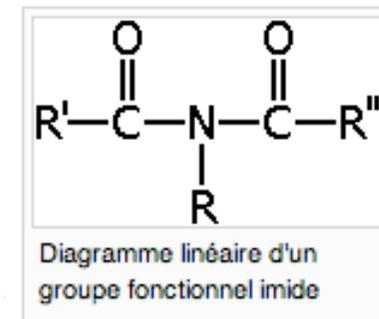
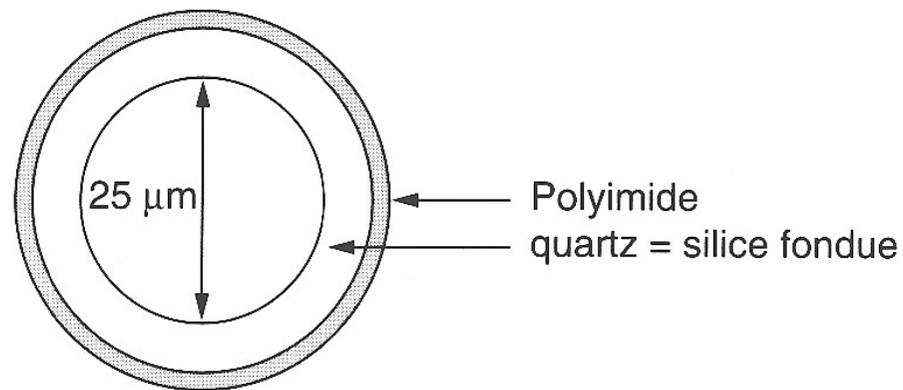


### 3.1 Le capillaire

⇒ Ils sont en général en silice fondue revêtue de polyimide. Le diamètre intérieur varie de 25 à 100  $\mu\text{m}$  pour une longueur de 25 à 100 cm. ils sont remplis d'une solution tampon.

⇒ Le faible diamètre du capillaire fournit un rapport Surface/Volume important qui favorise la dissipation de la chaleur produite par effet Joule. Il devient alors possible d'appliquer des ddp élevées de quelque dizaine de kV.

Pour cela, la durée d'analyse ↘ car les vitesses de migration sont plus grandes.



■ Coupe d'un capillaire.

## 3.2 Les systèmes d'injection

⇒ Le volume introduit n'excède pas 1 à 2  $\mu\text{L}$  pour éviter les problèmes d'élargissement des pics. Trois modes d'injection sont préconisés :

### - a - Injection par gravité

⇒ On élève d'une hauteur  $\Delta h$  le tube échantillon dans lequel plonge le capillaire pendant un temps très court  $\Delta t$ . La quantité introduite est fonction du temps  $\Delta t$  et de la différence de hauteur  $\Delta h$ .

### - b - Injection hydrodynamique

⇒ En appliquant une différence de pression entre les 2 extrémités du capillaire, pendant  $\Delta t$ , il est possible d'introduire l'échantillon dans le capillaire. Avec cette méthode, le volume introduit est fonction de la viscosité de l'échantillon.

### - c - Iniection électrocinétique

⇒ Pour les solutions visqueuses, l'injection est réalisée par application d'une ddp  $\Delta V$  entre les 2 extrémités du capillaire pendant un temps très court  $\Delta t$ . Le volume injecté est fct de  $\Delta V$  et  $\Delta t$ .

### 3.3 Le détecteur

⇒ La détection peut s'effectuer à travers le capillaire ou à l'aide d'une interface :

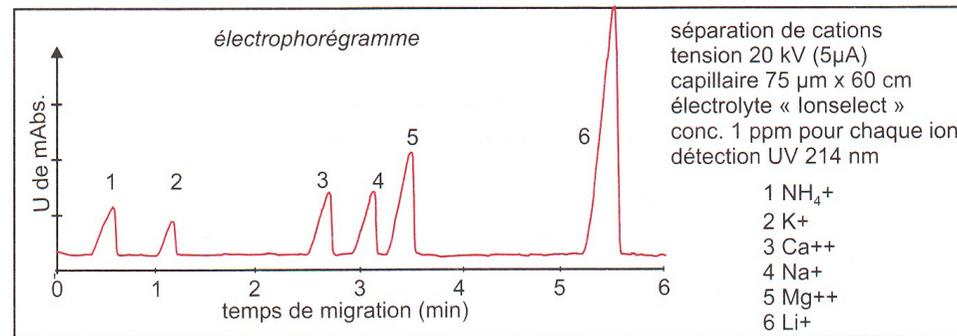
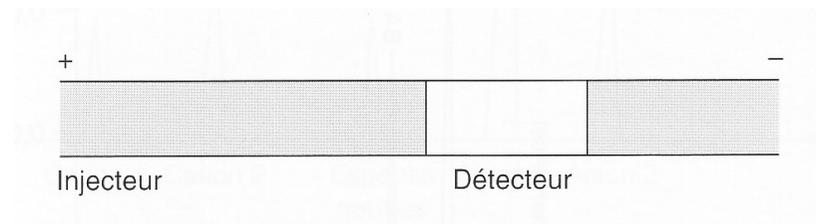
⇒ Les détecteurs utilisés sont du même type que ceux utilisés en HPLC :

➤ le spectrophotomètre UV-Visible ;

➤ le fluorimètre ;

➤ les détecteurs électrochimiques ;

➤ le spectromètre de masse.

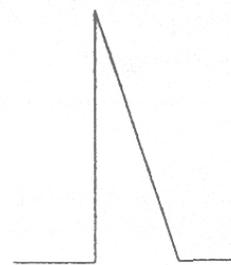


un électrophorégramme typique d'une séparation de quelques cations (ordonnées en unités de milliabsorbance). L'électrolyte est un mélange commercial. La non-symétrie des pics est due à ce que les cations de l'échantillon vont plus vite que les ions de l'électrolyte. Ils seraient symétriques si ces vitesses étaient pratiquement identiques (reproduit avec l'autorisation de la société Waters).

### 3.4 L'électrophorogramme

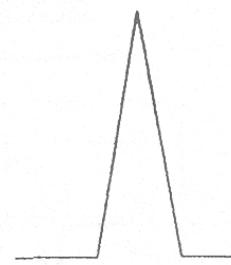
⇒ En électrophorèse capillaire, il n'y a pas de débit imposé par une pompe, comme en HPLC. Les ions vont se déplacer à une vitesse liée à leur mobilité et au FEO (Flux électroosmotique)

⇒ Allure des pics dans un électrophorogramme :



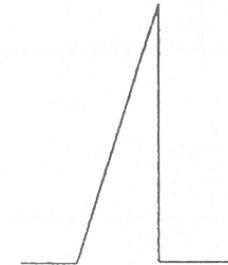
**R > 1**

Pic trainant lorsque l'électrolyte est plus mobile que l'ion analysé



**R = 1**

Les pics sont symétriques lorsque les mobilités sont identiques



**R < 1**

Pic à front diffus lorsque l'électrolyte est moins mobile que l'ion analysé

⇒ Le rapport R entre la mobilité de l'électrolyte et de l'ion analysé détermine la symétrie du

$$\text{pic : } R = \frac{\mu_{\text{électrolyte}}}{\mu_{\text{ion}}}$$

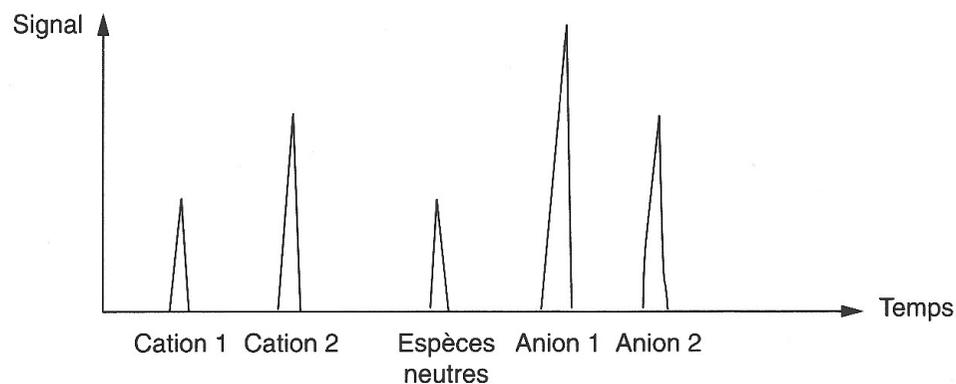
La forme des pics est généralement non gaussienne, mais sous forme de triangle plus ou moins régulier. La symétrie des pics dépend fortement du processus de diffusion électrophorétique causé par les différences de mobilité de l'ion analysé et de l'électrolyte.

## 4) Les modes de séparation en électrophorèse capillaire

### 4.1 Électrophorèse capillaire en zone libre :

#### FZCE ou Free Zone Capillary Electrophoresis

▀ C'est la méthode la plus simple qui correspond au processus décrit précédemment. La composition du tampon (acide (phosphate ou citrate) ou basique (borate)) est homogène sur l'intégralité du capillaire, et le champ électrique est constant au cours de l'analyse. ✓



■ Séparation d'un mélange par électrophorèse capillaire.

Remarque : La FZCE ne permet pas de séparer les espèces neutres les unes des autres.

## 4.2 Électrophorèse capillaire sur gel :

### GFCE ou Gel Filled Capillary Electrophoresis

- ▀ Certains biopolymères tel que l'ARN, l'ADN ne peuvent être séparés avec la technique précédente car ils possèdent un rapport charge/taille identique. Leur séparation peut être réalisée en combinant une séparation électrophorétique et un tamisage moléculaire en remplissant le capillaire d'un gel, par exemple, le **gel de polyacrylamide** qui assure également la séparation des molécules en fonction de leur taille.

## 4.3 Électrophorèse en mode micellaire ou chromatographie électrocinétique micellaire :

### MECC ou Micellar Electrokinetic Capillary Chromatography

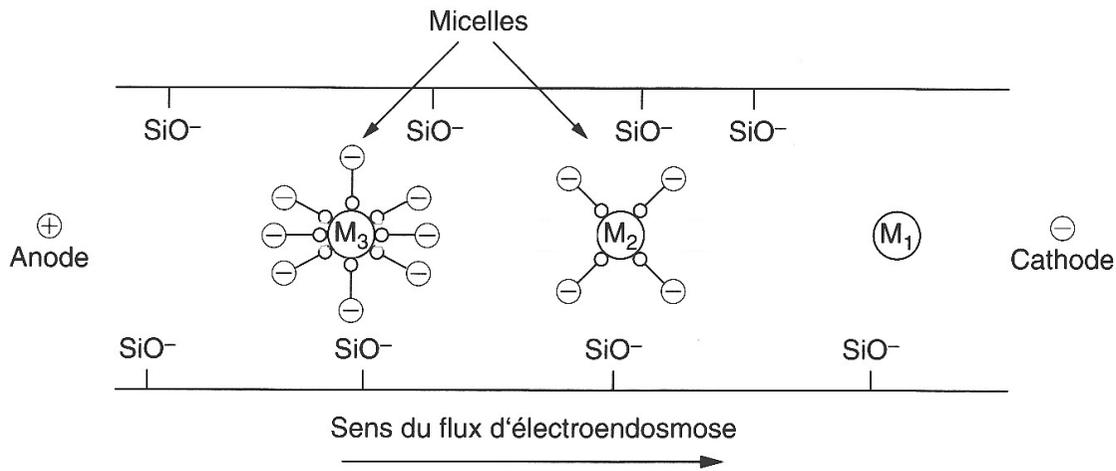
- ▀ Elle permet la séparation des espèces neutres. Elle est intéressante également pour des espèces chargées de mobilité voisine.

- On ajoute au tampon un tensio-actif ionique tel que le SDS ( $\text{CH}_3\text{-(CH}_2\text{)}_{11}\text{-SO}_4\text{;Na}^+$  pour qu'il s'associe aux espèces à séparer en agrégats sphériques appelés micelles constitués de groupements hydrophiles à l'extérieur et hydrophobes orientés vers le centre.

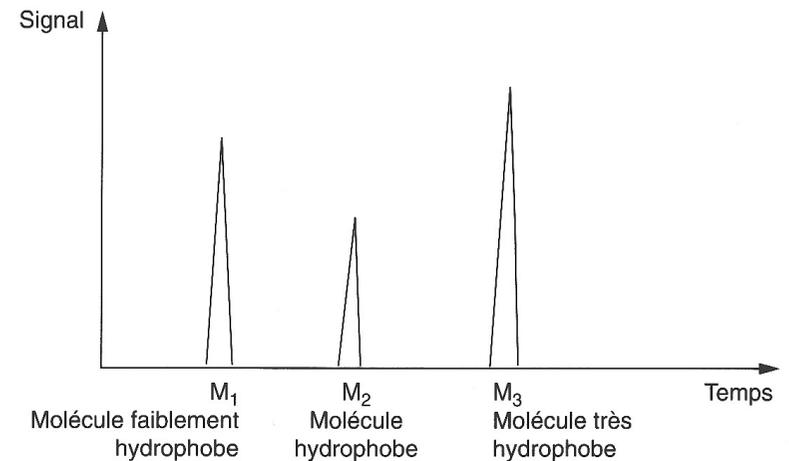
La technique MECC repose sur la combinaison de 2 paramètres : la charge et l'hydrophobicité.

Grâce au pouvoir de solubilisation des micelles, des échantillons complexes comme l'urine ou le plasma peuvent être directement injectés dans le capillaire.

- Les espèces à séparer vont se partager entre la phase micellaire et la solution en fonction de leur hydrophobicité.



■ Électrophorèse en mode micellaire.



■ Électrophorèse en mode micellaire.

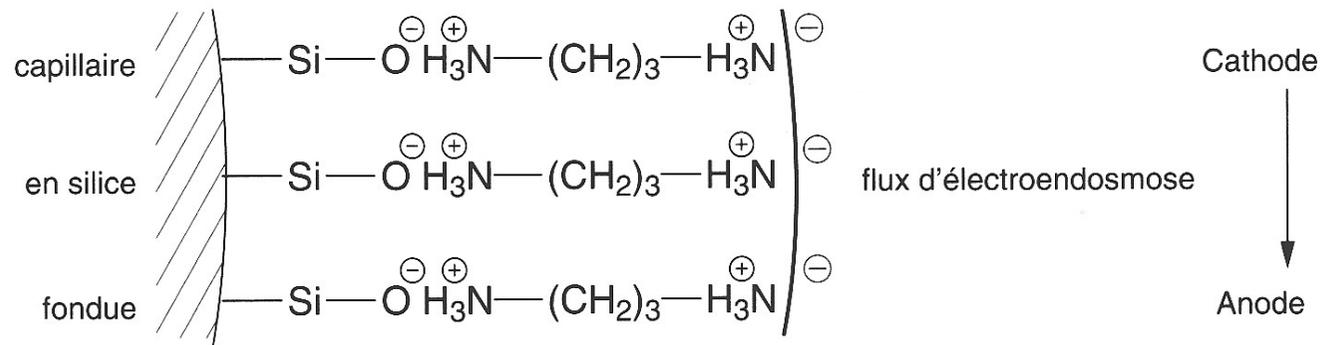
## 4.4 Électrophorèse capillaire à Isofocalisation

- Dans cette technique, le capillaire est rempli d'un mélange d'ampholytes capable de créer un gradient de pH. Les composés migrent dans le capillaire jusqu'à ce qu'ils trouvent un pH équivalent à leur point isoélectrique (pH où leur charge nette est nulle). Il est possible ensuite de déplacer les produits séparés vers le détecteur généralement par pression.

## 4.5 Electrochromatographie capillaire :

- L'ECC est une technique de séparation mettant en oeuvre les mécanismes de l'électrophorèse capillaire et de la CPL.
- La phase mobile se déplace sous l'effet du champ électrique, le système de pompe n'est donc plus nécessaire et le diamètre des particules peut être plus faible améliorant ainsi la résolution des mélanges.
- Les espèces neutres vont se partager comme en CPL entre la phase stationnaire et la phase mobile alors que les séparations des espèces chargées combinent les 2 phénomènes de partage et de migration électrophorétique.

## 4.6 Inversion du flux d'électroendosmose :



- En ajoutant au tampon du 1,3-diaminopropane diprotoné, il est possible de changer le sens du flux d'électroendosmose qui est dirigé alors vers l'anode, ce qui permet une meilleure résolution des mélanges d'anions.

**Remarque :** en pratique, il faut aussi inverser la polarité de la ddp appliquée aux bornes du capillaire, donc cela revient à inverser "virtuellement" la position des électrodes !

# 5) Caractéristique de la méthode

## 5.1 Avantages

### - a - Durée de l'analyse

- ▀ Elle dure de 5 à 20 min. La méthode est plus rapide que les séparations chromatographiques dont la mise en oeuvre nécessite un temps non négligeable pour que les équilibres de pression, de matière et de température soient atteints.

### - b - Faible volume injecté

- ▀ Comme en CPG, le volume d'échantillon injecté est faible, entre 1 et 10  $\mu\text{L}$  et même parfois de l'ordre du nL, ce qui nécessite l'emploi d'un étalon interne. Le volume injecté ne dépasse pas, en général, 1 % du volume du capillaire.

### - c - Séparation à température ambiante

- ▀ Le travail à température ambiante est intéressant pour les molécules thermolabiles. Mais le contrôle de la température est plus important en électrophorèse capillaire qu'en HPLC.

### - d - Faible coût d'utilisation

- ▀ L'absence de solvant organique  $\searrow$  les coûts d'utilisation par rapport aux méthodes chromatographiques.

## 5.2 Les limites

### - a - Sensibilité

- ▀ L'électrophorèse capillaire est moins sensible que l'HPLC.

La détection des ions simples n'absorbant pas en spectrophotométrie, nécessite de rajouter à l'électrolyte des contre-ions absorbant, la détection étant indirecte, puisqu'elle mesure la diminution de l'absorbance du complexe ainsi formé.

### - b - Précision

- ▀ La précision de l'électrophorèse capillaire en matière de déterminations quantitatives est inférieure à celle des méthodes chromatographiques (HPLC et CPG) en raison du faible volume injecté et malgré l'emploi systématique d'un étalon interne.
- ▀ La difficulté d'obtention d'un flux électroosmotique reproductible surtout en mode micellaire contribue au manque de précision.

## 6) Applications

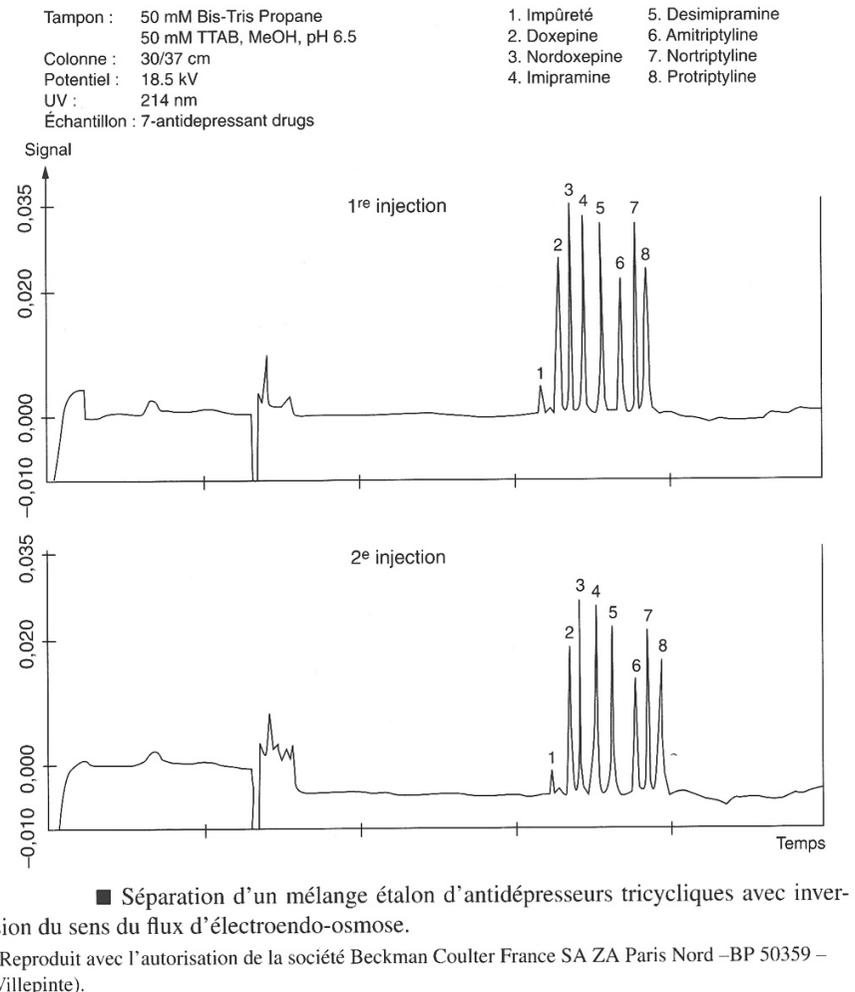
Elles sont nombreuses et couvrent de nombreux domaines d'application. On peut citer :

➤ Dans le domaine hydrologique :

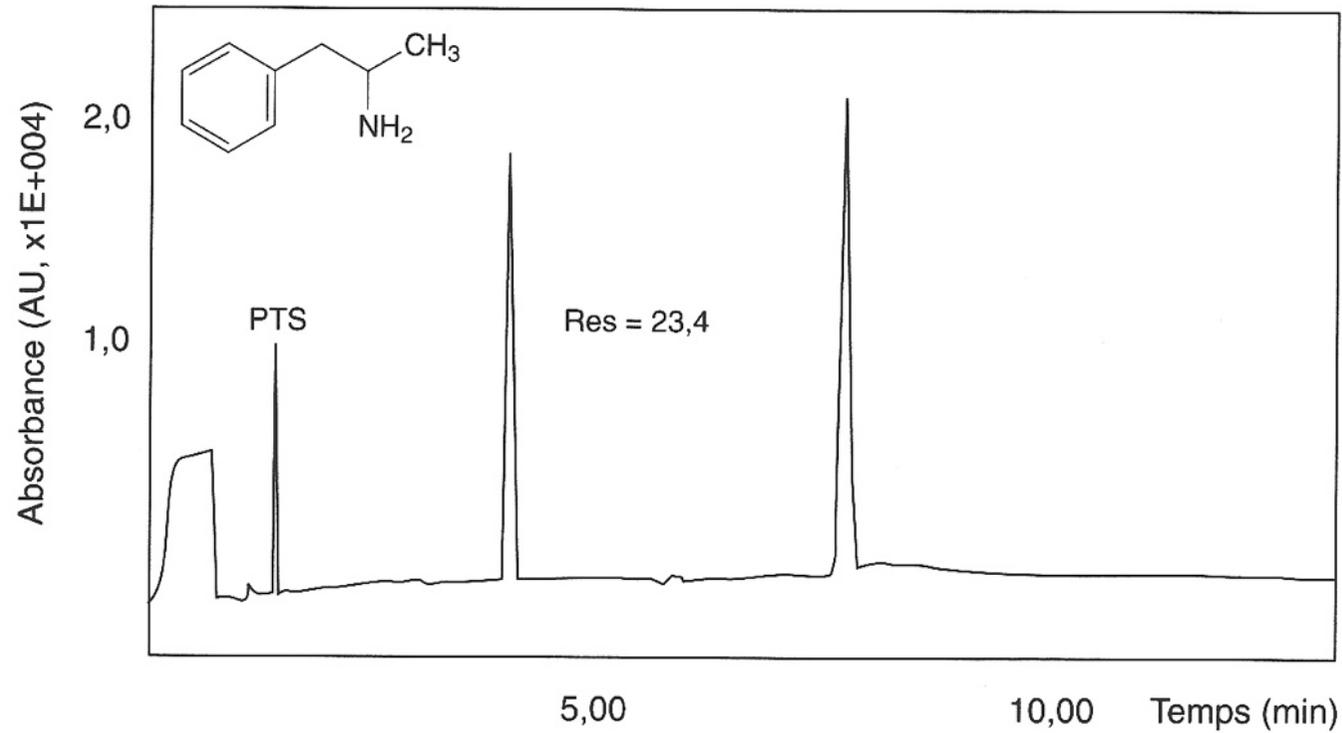
L'analyse des ions minéraux ( $\text{Ca}^{2+}$ ,  $\text{Mg}^{2+}$ ,  $\text{Cl}^-$ ,  $\text{SO}_4^{2-}$  ...) et des pesticides.

➤ Dans le domaine pharmaceutique :

- La mise en évidence des impuretés et produits de dégradation dans les matières premières (solvants résiduels) ;
- Les résidus de détergents dans les cuves de fabrication ;
- Le dosage de principes actifs (cf ci-contre) :



- Le contrôle de la pureté énantiomérique (cf ci-dessous) :



■ Séparation de deux énantiomères de l'amphétamine en présence de  $\gamma$  cyclo-dextrine sulfatée.

(Reproduit avec l'autorisation de la société Beckman Coulter France SA ZA Paris Nord –BP 50359 – Villepinte).

➤ Dans le domaine de la biologie clinique :

- Électrophorèse des protéines sériques et urinaires ;
  - Électrophorèse des lipoprotéines : LDL (Low Density Lipoprotein), HDL (High Density Lipoprotein) type cholestérol ;
    - Électrophorèse des acides nucléiques ;
    - Électrophorèse des glycoprotéines et glycolipides ;
  - Dosage de médicaments dans le cadre de situation clinique thérapeutiques (phénytoïne, acide valproïque, lamotrigine, phénobarbital, digoxine) et toxicologique (barbituriques, amphétamines, paracétamol et salicylates) ;
- Dans la détermination de constantes physicochimiques :  $pK_A$ , constantes cinétiques  $k$ , points isoélectriques  $pI$ , etc...