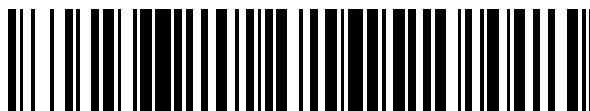


19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 642 140**

51 Int. Cl.:

B01D 59/42 (2006.01)

G01N 27/447 (2006.01)

G01N 27/62 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **14.12.2015** **E 15199766 (5)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **16.08.2017** **EP 3037153**

54 Título: **Medición isotópica multielemental por acoplamiento directo de una técnica de isotacoforesis multiciclos y de una técnica de espectrometría de masa**

30 Prioridad:

22.12.2014 FR 1463134

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:

15.11.2017

73 Titular/es:

**COMMISSARIAT A L'ENERGIE ATOMIQUE ET
AUX ENERGIES ALTERNATIVES (100.0%)
Bâtiment "Le Ponant D" 25, rue Leblanc
75015 Paris, FR**

72 Inventor/es:

**CHARTIER, FRÉDÉRIC;
VIO, LAURENT;
NONELL, ANTHONY y
ISNARD, HÉLÈNE**

74 Agente/Representante:

VALLEJO LÓPEZ, Juan Pedro

ES 2 642 140 T3

Aviso: En el plazo de nueve meses a contar desde la fecha de publicación en el Boletín Europeo de Patentes, de la mención de concesión de la patente europea, cualquier persona podrá oponerse ante la Oficina Europea de Patentes a la patente concedida. La oposición deberá formularse por escrito y estar motivada; sólo se considerará como formulada una vez que se haya realizado el pago de la tasa de oposición (art. 99.1 del Convenio sobre Concesión de Patentes Europeas).

DESCRIPCIÓN

Medición isotópica multielemental por acoplamiento directo de una técnica de isotacoforesis multiciclos y de una técnica de espectrometría de masa

5 La presente invención pertenece al campo de los procedimientos de análisis cualitativo o cuantitativo de los constituyentes de una muestra con la ayuda de un espectrómetro de masa equipado con una fuente plasma de acoplamiento inductivo, más conocido con el nombre de ICP-MS, acrónimo de "Inductively Coupled Plasma Mass Spectrometry", en lengua inglesa.

10 La invención se refiere más particularmente a un procedimiento de medición isotópica multielemental, con la ayuda de un espectrómetro de tipo ICP-MS, de especies eléctricamente cargadas y, en particular, de especies minerales u organometálicas, contenidas en una solución.

15 La medición isotópica se realiza, en concreto, en el campo nuclear, el del medioambiente, de las geociencias y de las ciencias de los seres vivos.

20 La medición isotópica consiste en determinar la presencia y/o la concentración en una muestra de uno o varios isótopos de un elemento químico.

Cada elemento de la tabla periódica presenta uno o varios isótopos, esto es, unos átomos diferentes de un mismo elemento. Dos isótopos de un mismo elemento presentan el mismo número de protones y de electrones, pero un número de neutrones diferente.

25 Tradicionalmente, el hierro anotado Fe presenta unos isótopos estables de masas 54, 56, 57 o 58 Unidades de Masa Atómica (u.m.a.) anotados ^{54}Fe , ^{56}Fe , ^{57}Fe y ^{58}Fe . La determinación de las relaciones isotópicas consiste en medir la abundancia de cada uno de estos isótopos y calcular sus proporciones respectivas.

30 En el caso del hierro, la relación isotópica $^{56}\text{Fe}/^{57}\text{Fe}$ equivale a expresar la abundancia del ^{56}Fe con respecto a la del ^{57}Fe .

Las mediciones isotópicas permiten, en concreto, determinar:

- 35 • las abundancias isotópicas de los diferentes isótopos de un mismo elemento,
- la concentración precisa de un elemento particular en solución por la adición de una proporción conocida de trazador, estando este último perfectamente caracterizado en cuanto a composición isotópica y a concentración. Este método se conoce con el nombre de dilución isotópica sencilla,
- 40 • le relación de abundancia entre dos isótopos de elementos distintos (ej.: $^{145}\text{Nd}/^{238}\text{U}$) por la adición de un trazador isotópico doble (ej.: $^{148}\text{Nd}/^{233}\text{U}$) según el método denominado de dilución isotópica doble.

45 El método de dilución isotópica sencilla consiste en añadir a la muestra un trazador que es el mismo elemento, pero de composición isotópica diferente, por ejemplo, enriquecido en uno de los isótopos del elemento que hay que dosificar. Este método permite efectuar unas mediciones elementales de gran precisión, sin recta de calibración conociendo perfectamente la composición isotópica y la concentración del trazador y basándose en la medición de las relaciones isotópicas.

50 Las mediciones isotópicas necesitan utilizar unos aparatajes, como los espectrómetros de masa, capaces de proporcionar una respuesta selectiva sobre una o varias masas atómicas dadas, debiendo la intensidad de la respuesta ser proporcional a la abundancia de los isótopos.

55 La técnica más utilizada habitualmente es el ICP-MS. Los espectrómetros de tipo ICP-MS se componen de una antorcha de plasma y de un espectrómetro de masa. La antorcha de plasma contiene generalmente un gas noble (el argón en la mayoría de los casos) que, por la acción de una descarga eléctrica y de un campo radiofrecuencia, genera un plasma que ioniza con un rendimiento cercano a 1 la mayoría de los elementos introducidos en la antorcha en forma elemental o de compuestos. La espectrometría de tipo ICP-MS se ha convertido en una técnica analítica imprescindible desde hace numerosos años. Permite analizar rápidamente la mayoría de los elementos de la clasificación periódica de manera cualitativa y cuantitativa, presentado al mismo tiempo una buena reproducibilidad, sensibilidad, resolución y una relación lineal entre la cantidad de la especie que hay que analizar y la señal detectada.

60 Para obtener las mejores precisiones posibles sobre la medición de las relaciones isotópicas, es necesario utilizar un ICP-MS multicolector (MC-ICPMS) que permite medir simultáneamente la abundancia de varios isótopos. Este tipo de aparataje permite, en concreto, librarse de la inestabilidad del haz de iones a la altura de la fuente del espectrómetro de masa.

65

No obstante, cuando la solución que hay que analizar comprende varias especies cargadas de masa atómica muy cercanas (isobaras), es necesario previamente a la medición separar individualmente las especies con una técnica química separativa, tal como la cromatografía en fase líquida o la electroforesis capilar.

- 5 En efecto, a pesar del poder de resolución elevada de los espectrómetros de tipo ICP-MS, no son capaces de resolver o de diferenciar todas las interferencias isobáricas.

Se habla de interferencia isobárica cuando dos isótopos de elementos diferentes presentan unas masas atómicas cuya diferencia está comprendida entre 0,001 y 0,9 unidad de masa atómica.

- 10 Por ejemplo, la separación de dos isótopos de dos elementos diferentes, tales como el neodimio de masa exacta 149,9209 (¹⁵⁰Nd) unidades de masa atómica (u.m.a.) y el samario (¹⁵⁰Sm) de masa exacta 149,9173 u.m.a. necesita un poder de resolución superior a 40000, bastante superior a las capacidades de los espectrómetros de tipo ICP-MS.

- 15 Se entiende por poder de resolución de la aptitud de un espectrómetro de masa para separar un ion de masa M de un ion de masa M+ΔM, con $R = M / (M + \Delta M)$.

- 20 En la práctica, la asociación entre una técnica química separativa y un espectrómetro de tipo ICP-MS puede efectuarse según un modo de acoplamiento indirecto u "off-line", en lengua inglesa o según un modo de acoplamiento directo u "on-line", en lengua inglesa.

Según el modo de acoplamiento indirecto, la medición isotópica se realiza en dos tiempos.

- 25 En un primer tiempo, las especies contenidas en la solución se separan, después se recogen individualmente a la salida de técnica separativa. En un segundo tiempo, cada fracción recogida se lleva a seco por calentamiento, se vuelve a poner en solución con ácido nítrico diluido, después se analiza por el espectrómetro de tipo ICP-MS. Entonces, cada fracción contiene una sola especie (un solo elemento) y ya no hay interferencias isobáricas. La señal medida por el espectrómetro de tipo ICP-MS es estacionaria o constante, ya que la solución que contiene el elemento previamente separado se introduce de forma continua, lo que tiene como ventaja que asegura la estabilidad durante las mediciones de relaciones isotópicas y, como consecuencia, que mejora la precisión de la medición.

- 35 El acoplamiento indirecto presenta, no obstante, el inconveniente de necesitar unas etapas de recogida y de tratamiento de fracciones previamente separadas. Estas etapas se pueden automatizar difícilmente y alargan de manera significativa la duración del conjunto del proceso de análisis.

- 40 Según el modo de acoplamiento directo, la medición isotópica se realiza en una sola secuencia. Una vez separadas, las especies se introducen directamente, o, en otras palabras, se introducen sin desfase temporal entre cada especie en el espectrómetro de tipo ICP-MS. El acoplamiento de la técnica química separativa al espectrómetro se realiza mediante una interfaz apropiada. Por lo tanto, el acoplamiento directo se libra del tratamiento de las fracciones recogidas inherente al acoplamiento indirecto, lo que permite reducir, en concreto, el tiempo de análisis.

- 45 El documento de los Estados Unidos US3 705 845 describe un procedimiento de separación por isotacoforesis a contracorriente. La separación se hace en una columna o unos electrodos crean un campo eléctrico que imponen un movimiento de los iones que hay que separar en el sentido contrario al sentido del flujo del líquido portador. Los dos movimientos pueden anularse, de modo que la especie que hay que separar no se mueva en la columna. El documento "Pitois A. et al., International Journal Of Mass Spectrometry, 2008, 270, páginas 118-126" propone, de este modo, una medición isotópica en la cual unos productos de fisión de una solución de combustible nuclear se separan por electroforesis con la ayuda de un dispositivo de electroforesis capilar conectado por acoplamiento directo a un espectrómetro de tipo ICP-MS.

- 55 La figura 1 representa un esquema de principio de una medición isotópica por acoplamiento directo mediante una interfaz de acoplamiento 10 entre un dispositivo de separación de las especies y un espectrómetro de masa de tipo ICP-MS, comprendiendo la interfaz de acoplamiento 10 una nebulizador 9 en la figura y una cámara de clasificación 12. A la salida del dispositivo de separación 20, las especies que hay que analizar A, B, C se introducen en el nebulizador 9 en el cual las especies A, B, C se transforman en aerosol que comprende unas finas gotitas y un gas vector (generalmente argón). Es más que evidente que, el número de especies que hay que analizar puede ser superior a tres.

- 60 Las gotitas más finas que comprenden las especies A, B, C se seleccionan a continuación en una cámara de clasificación 12 de modo que se transmita a la antorcha de plasma 13 del espectrómetro ICP-MS un aerosol homogéneo y estable. A la salida de la antorcha de plasma 13, las especies A, B, C están desolvatadas, atomizadas e ionizadas. Entonces, se extraen los iones del plasma con la ayuda de conos de extracción 14, después se focalizan con la ayuda de lentes de focalización 15, antes de entrar en el espectrómetro ICP-MS. Por la acción de un campo magnético generado por un imán 16, los haces de iones correspondientes a los diferentes isótopos se separan según unas trayectorias circulares individuales que dependen de la relación masa/carga de los isótopos que

hay que analizar. La información sobre la abundancia de los isótopos se obtiene colocando sobre su trayectoria unos detectores 17 que registran simultáneamente y en continuo la intensidad de cada uno de los haces de iones monoisotópicos. Generalmente, los espectrómetros MC-ICPMS disponen de 9 a 16 detectores 17.

5 Otro documento de la técnica anterior EP 2646813 divulga un procedimiento de medición isotópica en el cual el acoplamiento entre la técnica separativa y el espectrómetro ICPMS permite, en concreto, una medición que puede automatizarse y de duración reducida, que presenta una reproducibilidad y una resolución mejorada, en particular, cuando la solución comprende varios elementos que presentan una o varias interferencias isobáricas.

10 Los métodos separativos tradicionalmente utilizados, tales como la cromatografía o la electroforesis, permiten una separación individual de las especies A, B, C que se eluyen en forma de picos monoelementales de forma triangular, tales como se representan esquemáticamente en la figura 2a.

Este tipo de pico solo permite un escaso número de puntos de medición por unidad de tiempo.

15 Además, existen unas fuertes variaciones de amplitud de la señal entre dos puntos consecutivos que provocan una inestabilidad y, sobre todo, una imprecisión de la medición por el espectrómetro de tipo ICP-MS.

20 En la configuración isotacoforesis de un dispositivo de electroforesis, una vez realizada la separación, la elución se hace en forma de bandas, como se representa en la figura 2b, que, de este modo, permite obtener unas mediciones más precisas.

25 La isotacoforesis (ITP) es un método de separación de las especies en función de su relación carga eléctrica/tamaño. El dispositivo utilizado para la implementación de este método es un dispositivo de electroforesis capilar tradicional.

30 El dispositivo de electroforesis capilar se compone sustancialmente de dos depósitos conectados por una columna capilar, conteniendo cada depósito un electrolito y un electrodo. Después de aplicación de una tensión entre los dos electrodos, las especies introducidas en el capilar lleno de electrolito se separan según su velocidad de migración electroforética que es función de su relación carga eléctrica/tamaño. Las especies separadas se detectan a continuación con la ayuda de una técnica analítica apropiada.

35 El modo isotacoforesis de la electroforesis capilar se caracteriza por la utilización de un medio de separación discontinuo compuesto de un electrolito conductor M y de un electrolito terminal T de composición distinta entre los cuales se intercala de forma contigua la solución S que hay que analizar. El electrolito conductor M presenta una velocidad de migración electroforética la más grande del dispositivo y el electrolito terminal T presenta la velocidad de migración electroforética la más pequeña del dispositivo. Los electrolitos conductor M y terminal T se colocan respectivamente después de la entrada y antes de la salida del capilar.

40 Por lo tanto, la composición de los electrolitos debe tener en cuenta el valor de las velocidades de migración electroforética de las especies, so pena de que estas especies no se separen.

45 Después de la aplicación de una tensión entre los extremos del capilar (entrada y salida del capilar), las especies, por el efecto de una corriente de intensidad constante o de un campo eléctrico constante, van a ordenarse progresivamente según su velocidad de migración electroforética hasta alcanzar un estado de equilibrio llamado casi estacionario. Entonces, las especies se reparten en unas bandas de elución contiguas claramente delimitadas y que les son propias. Por lo tanto, las especies están concentradas o diluidas en función de su concentración inicial en la solución.

50 La isotacoforesis se distingue, por lo tanto, de la implementación tradicional de la electroforesis capilar por la utilización de un medio de separación discontinuo, que comprende al menos dos electrolitos en lugar de un solo, pero igualmente por el hecho de que, puesto que la concentración de una especie es homogénea en todos los puntos de la zona de elución obtenida en isotacoforesis, su detección se traduce en una señal de amplitud constante o sustancialmente constante en el interior de esta zona, en lugar de en un pico que refleja una variación de concentración en el tiempo. El número de puntos de medición que puede registrar el espectrómetro ICP-MS depende de la anchura de la zona de elución.

El principio de separación por isotacoforesis puede resumirse como se representa en la figura 3.

60 En un capilar 30, se inyecta en orden, un electrolito conductor M, una solución S que comprende las especies A, B y C y un electrolito terminal T, estando los bornes del capilar 30 conectados a un generador de tensión eléctrica anotado I (figura 3a).

65 El electrolito conductor M determina la velocidad de migración electroforética, se elige de forma que se disponga de la velocidad de migración electroforética la más grande del sistema.

A la inversa, el electrolito terminal T presenta la velocidad de migración electroforética la más escasa del sistema.

Por lo tanto, la composición de los electrolitos debe tener en cuenta las especies de interés so pena de que estas especies no se separen. Los electrolitos conductor M y/o terminal T presentan generalmente una concentración comprendida entre 1 mM y 100 mM, preferentemente entre 10 mM y 20 mM. Poseen generalmente un poder tampón.

El electrolito terminal T puede ser un compuesto zwitteriónico, tal como el cloruro de carnitina o un ácido carboxílico, como el ácido acético. Preferentemente, los electrolitos conductor M y terminal T son unas soluciones acuosas que comprenden unos elementos tales como el oxígeno, el hidrógeno, el nitrógeno y el carbono de manera que se permita una destrucción fácil al final de análisis.

Por el efecto de la corriente de intensidad constante (o de campo eléctrico constante) de algunas decenas de nanoamperios a algunas decenas de microamperios (o de algunos voltios a kilovoltios respectivamente), las especies A, B y C se reorganizan en función de su velocidad de migración electroforética que crea un gradiente de velocidad entre el electrolito terminal T y el electrolito conductor M (Figura 3b).

Al final de esta reorganización (figura 3c), las especies A, B y C están separadas y concentradas en bandas monoelementales contiguas entre el electrolito conductor M y el electrolito terminal T. Las especies A, B y C, así como los electrolitos conductor M y terminal T migran entonces a una velocidad idéntica impuesta por el electrolito conductor M.

La prestación de un sistema de separación de isotacoforesis está definida por la noción de resolución o de tasa de purificación de las especies.

La ley de Ohm (Ecuación 1) que se aplica durante la separación conecta la conductividad σ de una muestra a la longitud L y al diámetro interno d del capilar 30, así como al valor de tensión eléctrica U del generador de tensión eléctrica.

$$U = \frac{4I}{\pi\sigma} \cdot \frac{L}{d^2} \quad (\text{Ecuación 1})$$

Cuando se inyecta una solución S que comprende una fuerte concentración de uno de los elementos con respecto a los elementos traza, es necesario aumentar la cantidad de solución S que hay que inyectar en el capilar 30 de manera que se obtengan unas bandas que comprendan los elementos traza de longitud significativa, lo que mejora la capacidad de separación.

Esta optimización de la capacidad de separación equivale a disminuir el diámetro interno d del capilar 30 o a aumentar la longitud del capilar L.

Por ejemplo, si el capilar mide 3 m y la tensión 30 kV, se obtiene una tensión de 1 kV para cada fracción de 10 cm. Si se aumenta la longitud del capilar a 30 m, la tensión en los bornes de una fracción de longitud de 10 cm cae a 0,1 KV.

Para mantener una tensión de 30 kV en los bornes del capilar 30, habría que conservar la longitud L del capilar 30 y aumentar el diámetro interno d, lo que degradaría la capacidad de separación del sistema.

Una publicación de F.M. Everaert et al. "Isotachopheresis, experiments with electrolyte counterflow", J. Chromatogr. 60 (1971) 397-405 propone aplicar una contrapresión continua en el sentido opuesto a la dirección de migración electroforética de las especies A, B y C de manera que se ralentice la velocidad de migración de las especies.

Otra publicación de S. Bhattacharyya et al. "Sample dispersion in isotachopheresis with Poiseuille counterflow", Phys. Fluids 25 (2013) también estudia esta posibilidad. Este estudio concluye que la aplicación de una contrapresión continua durante la separación de las especies por isotacoforesis se acompaña de un aumento de la dispersión, lo que reduce el rendimiento de purificación de las especies y, particularmente, de los elementos traza.

También, una finalidad de la invención es proponer un procedimiento de separación que permita separar los elementos que tienen unas interferencias isobáricas, en concreto, sin disminuir el rendimiento de purificación.

Se propone un procedimiento de separación de especies eléctricamente cargadas en una solución por un método de isotacoforesis que comprende:

- una primera etapa en la cual se introduce a la entrada de un capilar de electroforesis, en el siguiente orden, un electrolito conductor que presenta la velocidad de migración electroforética la más elevada, una solución que comprende unas especies cargadas que presentan unas velocidades de migración intermedias propias y un

electrolito terminal que presenta la velocidad de migración la más escasa.

Se realizan las siguientes etapas de manera iterativa hasta obtener la separación de al menos una especie cargada contenida en la solución:

- 5
- una segunda etapa en la cual se aplica una tensión eléctrica entre los dos extremos del capilar de manera que se inicie la separación de las especies,
 - una tercera etapa en la cual se para la tensión eléctrica,
 - 10 - una cuarta etapa en la cual se aplica una contrapresión de modo que se desplacen las especies hacia la entrada del capilar, siendo la velocidad de desplazamiento de las especies durante la aplicación de la contrapresión inferior a la velocidad de migración electroforética de las especies por el efecto de la corriente eléctrica.

15 Ventajosamente, se desplazan las especies hasta la altura de la entrada del capilar.

La parada de la tensión eléctrica y la aplicación transitoria de una contrapresión permite utilizar varias veces la longitud del capilar y alargar artificialmente la distancia de separación.

20 Según un modo de realización, el procedimiento comprende, además, una quinta etapa en la cual se efectúa una medición de relación isotópica por espectrometría de masa acoplada a una fuente de plasma inductivo (ICP-MS) de todas las especies eléctricamente cargadas contenidas en la solución y separadas por isotacoforesis, estando el espectrómetro de masa directamente acoplado al dispositivo de electroforesis.

25 Según otro modo de realización, en una quinta etapa, se recupera después de la segunda etapa de aplicación de la tensión una primera especie separada previamente a la tercera etapa de parada del campo eléctrico que permite conservar solo las especies presentes en el estado de traza, en concreto. Este modo de realización permite extraer una especie de mayor velocidad de migración que las otras especies del sistema y, de este modo, mejorar las prestaciones de la separación de las especies restantes durante la prosecución de la separación.

30 Ventajosamente, el procedimiento comprende, además, una sexta etapa en la cual se efectúa una medición de relación isotópica por espectrometría de masa acoplada a un plasma inductivo de la primera especie separada por isotacoforesis antes de proseguir la separación por isotacoforesis de las otras especies eléctricamente cargadas de la solución, estando el espectrómetro de masa directamente acoplado al dispositivo de electroforesis.

35 El acoplamiento directo evita las etapas de recogida, lo que disminuye las cantidades de disolvente que hay que retratar al final de análisis.

40 Ventajosamente, el dispositivo de electroforesis capilar es al menos en parte un microsistema fluido.

Ventajosamente, el espectrómetro de masa acoplado a un plasma inducido (ICP-MS) es de tipo multicolección (MC-ICPMS) que permite la detección de varios isótopos de forma simultánea.

45 Ventajosamente, el procedimiento comprende, además, una séptima etapa que permite el reposicionamiento *ad hoc* de los detectores del espectrómetro de masa durante una parada de la tensión eléctrica, lo que permite la realización de análisis isotópicos multielementales de una solución que comprende un número de isótopos más importante que de detectores presentes sobre el MC-ICPMS.

50 El procedimiento propuesto es particularmente ventajoso para la separación de las especies eléctricamente cargadas que comprenden unos aniones minerales, unos cationes minerales, unos compuestos organometálicos, unos metales de transición, unos alcalinos, unos alcalinotérreos, unos lantánidos y/o unos actínidos o sus mezclas y donde al menos dos especies eléctricamente cargadas presentan una interferencia isobárica tal que la diferencia de masa atómica entre las especies cargadas están comprendidas entre 0,001 y 0,9 unidad de masa atómica (u.m.a.).

55 Ventajosamente, el electrolito conductor y/o terminal es una solución acuosa de un compuesto que comprende los elementos carbono y oxígeno.

La invención se comprenderá mejor y otras ventajas se mostrarán con la lectura de la descripción que va a seguir, dada a título de ejemplo no limitativo y gracias a las figuras adjuntas entre las cuales:

- 60
- la figura 1, ya descrita, representa un esquema de un dispositivo para la realización de mediciones isotópicas por acoplamiento "on-line" de una técnica química de separación con un espectrómetro de masa acoplado a un plasma inductivo multicolector (MC-ICPMS),
 - 65 - las figuras 2a y 2b, ya descritas, representan los perfiles de elución obtenidos respectivamente, por un método químico de separación tradicional y por isotacoforesis,

- la figura 3, ya descrita, representa un esquema de principio del proceso de separación de tres especies por isotacoforesis, según la técnica conocida,
- 5 - las figuras 4a, 4b y 4c representan el desarrollo de un análisis de isotacoforesis, según la técnica conocida,
- las figuras 5a, 5b, 5c, 5d y 5e representan el desarrollo de un análisis de isotacoforesis que presenta una parada de la separación, según un aspecto de la invención
- 10 - Las figuras 6a, 6b, 6c y 6d representan el desarrollo de un análisis de isotacoforesis con utilización múltiple de la longitud de separación, según otro aspecto de la invención,
- Las figuras 7a, 7b, 7c, 7d, 7e, 7f presentan unos gráficos de intensidad de las señales conductimétricas en función del tiempo, los gráficos se obtienen después de cada uno de los cinco ciclos de medición con la ayuda de un detector conductimétrico.
- 15 - las figuras 8a, 8b, 8c, 8d representan el desarrollo de una medición de relaciones isotópicas multielemental por acoplamiento directo de un método de isotacoforesis multiciclo secuencial y de un método de espectrometría con la ayuda de un espectrómetro de masa multicolector acoplado a una fuente plasma inductivo.
- 20 - La figura 9 es una representación gráfica de las señales obtenidas por acoplamiento con un ICPMS como continuación al análisis según la invención de una mezcla de cuatro lantánidos que presentan 29 isótopos.

La función de regulación de Kohlrausch (KRF) es una ley de conservación que describe el mecanismo de migración electroforética de los iones cuando están sometidos a una corriente de intensidad constante, esta ley se expresa según la relación (2):

$$\sum_{i=1}^n \frac{|Z_i|C_i}{\mu_i} = Wx \quad \text{Ecuación 2}$$

- 30 - siendo Zi la valencia de los iones
- siendo Ci la concentración
- μ_i la movilidad y
- Wx una constante definida para cada punto del sistema electroforético.

Esta ley define una constante Wx para cada zona de electrolito. En otras palabras, el electrolito conductor M presenta una constante Wx(M), la solución S presenta una constante Wx(S) y el electrolito terminal T presenta una constante Wx(T). Estos valores de constante se mantienen sin cambios en el transcurso de la migración de las especies. En otras palabras, cuando una especie migra desde un punto x1 que tiene una constante KRF1 hacia un punto x2 que tiene una constante KRF2, la concentración de la especie considerada evoluciona de manera que se respete la nueva constante KRF2. También, si KRF1 es superior a KRF2, entonces la especie considerada se diluye extendiendo la distancia sobre la cual puede ser detectada.

Las figuras 4 representan el desarrollo de un análisis de isotacoforesis tradicional. Estas figuras permiten, en concreto, poner de manifiesto el efecto de la función de Kohlrausch descrito anteriormente sobre la migración electroforética de las especies.

La figura 4a representa un capilar en el estado inicial tal como se describe en la figura 3a. En la especie, el electrolito conductor M presenta una constante Wx(M), la solución S presenta una constante Wx(S) y el electrolito terminal T presenta una constante Wx(T).

Los valores de las constantes KRF están representados en un diagrama en función de la coordenada x donde se sitúa en el capilar 30.

La figura 4b representa el capilar 30 en el cual las especies A, B y C están en curso de migración.

Por ejemplo, cuando la especie C migra hacia el electrolito conductor M y el valor de la constante KRF de la solución Wx(S) es superior al valor de la constante KRF Wx(M) del electrolito conductor M, se produce una dilución de la especie C, de modo que el valor de la concentración respeta el valor de la constante KRF Wx(M) del electrolito conductor M. En otras palabras, la concentración de la especie C disminuye por alargamiento de la distancia sobre la cual se detecta la especie C.

60

En figura 4c, la separación de las especies A, B y C se ha acabado. Las especies A, B, C están repartidas en forma de bandas monoelementales contiguas.

5 Además, en la figura 4c, el electrolito terminal T ilustra la ley de conservación de Kohlrausch. El electrolito terminal T se concentra a la entrada de la zona correspondiente inicialmente a la zona de la solución S, en cambio, el electrolito terminal T se diluye a continuación a la entrada de la zona correspondiente inicialmente a la zona del electrolito conductor M. También, la concentración del electrolito terminal no es constante a lo largo del capilar 30, lo que se refleja en el gráfico que representa los valores de constante KRF en función de x.

10 La isotacoforesis es una técnica que se diferencia de las otras técnicas de separación química por su capacidad de autofocalización de las especies en unas bandas distintas cuya longitud varía en el transcurso de la separación, después se mantiene constante una vez conseguido el estado casi estacionario. Es esta característica particular para la técnica de isotacoforesis la que explota la invención.

15 Se entiende por estado casi estacionario, el estado en el cual se encuentra el sistema una vez efectuada la separación.

20 Esta propiedad particular permite parar y retomar la separación con una degradación limitada de las prestaciones de la técnica. De este modo, un principio de un aspecto de la invención se basa en una etapa de parada transitoria del generador de tensión en los bornes del capilar 30, lo que tiene como consecuencia detener la migración de las especies que hay que separar.

25 Las figuras 5 representan el desarrollo de un análisis de isotacoforesis en el transcurso del cual el generador de tensión se para de manera temporal.

30 La figura 5a representa el capilar 30 en el cual las especies A, B, C se han separado por isotacoforesis, como se representa en la figura 4c. La representación de la señal conductimétrica, obtenida por un detector situado a la altura del extremo de salida del capilar en función del tiempo presenta una primera meseta correspondiente al electrolito conductor M y una segunda meseta correspondiente a la especie A.

35 La figura 5b representa el capilar 30 mientras que se inicia la detección de la especie B. Una segunda meseta correspondiente a la especie B aparece en el gráfico de la señal conductimétrica en función del tiempo.

La figura 5c representa el capilar cuando se para el generador de tensión eléctrica. La migración de las especies se detiene, la especie B permanece frente por frente del detector, lo que se traduce en un aumento de la longitud de la meseta correspondiente a la especie B.

40 La figura 5d representa el capilar 30 en la reanudación de la migración, la especie B termina su migración, la especie C se detecta a continuación. En el gráfico asociado de la señal conductimétrica en función del tiempo, aparece entonces una nueva meseta correspondiente a la especie C.

Finalmente, la figura 5e representa el capilar 30 durante el paso del electrolito terminal T a la altura del detector. La señal en función del tiempo presenta una cuarta meseta correspondiente al electrolito terminal T.

45 Las diferentes etapas de separación pueden reiterarse si no se obtiene la separación de las especies B y C.

50 Estas figuras ponen bien de manifiesto que la parada transitoria del generador de tensión eléctrica que conlleva la parada de la migración de las especies no hace evolucionar el sistema. En otras palabras, la parada temporal de la migración no tiene influencia sobre la separación por isotacoforesis.

Las figuras 6a a 6d representan el desarrollo de un análisis por isotacoforesis en el transcurso del cual el generador de tensión eléctrica se para después de un ciclo de migración y una contrapresión aplicada de manera transitoria.

55 La figura 6a representa el capilar en el cual las especies A, B y C han migrado hasta la altura del detector cerca de la salida del capilar 30, después de un primer ciclo de separación. La separación de las especies A, B y C se ha iniciado, según el principio descrito en la figura 3, pero todavía no se ha acabado. En efecto, una parte de la especie A está aislada, pero la otra parte de la especie A y las especies B y C todavía están mezcladas.

60 La figura 6b corresponde a una etapa de parada del campo eléctrico y de aplicación de una contrapresión ΔP en el sentido opuesto al sentido de migración de las especies de modo que se reenvían todas las especies A, B, C a la altura de la entrada del capilar 30.

65 La aplicación de la contrapresión ΔP mezcla de nuevo las especies A, B y C. También, es necesario configurar la contrapresión ΔP de modo que la aglomeración o la mezcla de las especies no anule completamente el inicio de separación obtenido por el primer ciclo de separación. De manera más precisa, la velocidad de retorno hacia la entrada del capilar de las especies A, B, C debe ser inferior a la velocidad de migración de las especies A, B, C

durante el primer ciclo de separación.

Ventajosamente, se coloca un segundo detector a la altura de la entrada del capilar de manera que se detenga la aplicación de la contrapresión cuando las especies A, B y C llegan a la altura de la entrada del capilar 30

5 La figura 6c representa el segundo ciclo de migración de las especies durante la reanudación de la migración. Las especies A, B y C reanudan su migración con una velocidad que depende de su relación carga/tamaño formando unas bandas.

10 La figura 6d corresponde a un estadio de separación de las especies más avanzados, las bandas monoelementales comienzan a aparecer.

15 En la figura 6e, la separación se ha acabado, las especies A, B y C están repartidas en forma de bandas monoelementales. El detector situado cerca de la salida del capilar 30 detecte entonces las diferentes especies como para la figura 5e.

20 Las figuras 7a a 7f representan la evolución de la separación de una mezcla de cuatro lantánidos Nd, Sm, Eu y Gd introducidos en cantidad idéntica, en la especie 177 ng, en un capilar de 1 m de largo y de 75 micras de diámetro. La separación por isotacoforesis se realiza por aplicación de una corriente de 3 μ A.

La figura 7a muestra que después de un ciclo de migración, no es posible separar estos cuatro lantánidos con un sistema de separación tradicionalmente utilizado.

25 Efectivamente, después el ciclo 0, una parte del neodimio está aislada, la otra parte del neodimio todavía está mezclada con el samario, con el europio y con el gadolinio. También, la representación gráfica de la señal conductimétrica en función del tiempo presenta únicamente dos mesetas.

La separación de los cuatro lantánidos se obtiene después de cinco reiteraciones de las diferentes etapas.

30 La isotacoforesis multiciclos permite alargar artificialmente la longitud del capilar sin tener necesidad de aumentar la tensión aplicada en los bornes del capilar 30 que permite, de este modo, separar unas especies cuyas velocidades de migración electroforética están próximas.

35 La sucesión de ciclos representada en las figuras 7b a 7f muestra una evolución progresiva del perfil de separación para llegar a la formación de cuatro bandas correspondientes a los cuatro lantánidos.

Eventualmente, si una especie presenta una velocidad de migración bien superior a las otras especies, es posible extraerla antes de proseguir la separación con las otras especies.

40 Las figuras 8a a 8d representan las etapas del procedimiento de medición isotópica multielemental que acopla un método de isotacoforesis multiciclo como se ha descrito anteriormente y un método de espectrometría de masa con la ayuda de un espectrómetro de masa de tipo ICP-MS multidetectores.

45 La figura 8a representa el capilar después de separación de las especies A, B y C, las especies A, B y C estando situadas a la altura de la salida del detector en forma de bandas monoelementales, como se representa en la figura 6e.

50 La especie A se transmite al espectrómetro de masa MC-ICPMS. En la especie, se detectan tres isótopos A1, A2 y A3 del elemento A en los detectores. El gráfico que representa el nivel de las señales por MC-ICPMS presenta tres picos correspondientes a los tres isótopos.

55 La figura 8b representa el inicio del análisis del elemento B por MC-ICPMS, se ponen de manifiesto dos isótopos B1 y B2 del elemento B. No obstante, solo uno de los dos isótopos B1 se detecta a la altura de los detectores del espectrómetro MC-ICPMS, no estando los detectores posicionados de modo que se detecte el otro isótopo.

La figura 8c corresponde a la etapa de parada de la separación y de aplicación de la contrapresión de manera que se lleven hacia la entrada del capilar las especies B y C restantes. Durante esta parada, los detectores del espectrómetro MC-ICPMS se repositionan de modo que puedan detectar el segundo isótopo B2 del elemento B.

60 La figura 8d corresponde a la etapa de medición isotópica de la especie B después de un nuevo ciclo de migración de las especies. La especie B se transmite al espectrómetro MC-ICPMS, los dos isótopos B1 y B2 de la especie B se detectan, lo que corresponde a los dos picos en el gráfico que representa la intensidad de la señal en función del tiempo.

65 La figura 9 representa la separación de una mezcla de cuatro elementos lantánidos naturales Nd, Sm, Eu y Gd que presentan 29 isótopos.

Esta figura permite confirmar la validez del procedimiento de medición isotópica multielemental con elución secuencial temporizada. En efecto, la adquisición de las señales conductimétricas de los 29 isótopos se ha realizado en una sola separación.

- 5 Por lo tanto, se obtienen 29 señales rectangulares de anchuras próximas repartidas en cuatro grupos correspondientes cada uno a un elemento lantánido de la mezcla. El gráfico representa la medición de las señales de los isótopos obtenida por un espectrómetro MC-ICPMS después de una separación por isotacoforesis según el principio de la invención. En la especie los detectores se reposicionan durante las paradas de la separación de manera que se detecten todos los isótopos.
- 10 El gráfico de la señal en función del tiempo pone de manifiesto cuatro grupos de curvas P1, P2, P3 y P4. La separación de la mezcla de lantánidos se detiene después de la aparición de cada uno de los grupos y se aplica una contrapresión. Durante la aplicación de la contrapresión, los detectores se reposicionan.
- 15 El primer grupo de curvas presenta un pico P1 a 1800 s correspondiente al elemento Neodimio, el segundo grupo de curvas correspondiente al elemento Samario presenta un pico P2 a 2200 s, el tercer grupo de curvas correspondiente al elemento Europio presenta un pico P3 a 2700 s y el cuarto grupo de curvas correspondiente al elemento gadolinio presenta un pico P4 a 3000 s.
- 20 El primer grupo comprende las mesetas correspondientes a los isótopos del neodimio, el MC-ICPMS detecta, en concreto, los isótopos ^{142}Nd , ^{143}Nd , ^{144}Nd , ^{145}Nd , ^{146}Nd , ^{148}Nd , ^{150}Nd . De la misma forma, los otros grupos comprenden las curvas correspondientes a los isótopos del Samario, del Europio y del Gadolinio.

REIVINDICACIONES

1. Procedimiento de separación de especies eléctricamente cargadas contenidas en una solución (S) por un método de isotacoforesis, que comprende:

- 5
 - una primera etapa en la cual se introduce a la entrada de un capilar (30) de electroforesis, en el siguiente orden: un electrolito conductor (M) de una primera velocidad de migración electroforética, una solución (S) que comprende unas especies cargadas de velocidad de migración electroforética propias y un electrolito terminal (T) de una segunda velocidad de migración electroforética, siendo la primera velocidad de migración electroforética la más grande de las velocidades de migración y siendo la segunda velocidad la más pequeña de las velocidades de migración,

se realizan las siguientes etapas de manera iterativa hasta obtener la separación de al menos una especie cargada contenida en la solución:

- 15
 - una segunda etapa en la cual se aplica una tensión eléctrica entre los dos extremos del capilar de manera que se inicie la separación de las especies,
 - una tercera etapa en la cual se para la tensión eléctrica,
 20
 - una cuarta etapa en la cual se aplica una contrapresión de modo que se desplacen las especies (A, B, C) hacia la entrada del capilar (30), siendo la velocidad de desplazamiento de las especies durante la aplicación de la contrapresión (ΔP) inferior a la velocidad de migración electroforética de las especies (A, B, C) por el efecto de la tensión eléctrica.

2. Procedimiento según la reivindicación 1 en el cual la aplicación de la contrapresión (ΔP) desplaza las especies (A, B, C) hasta la altura de la entrada del capilar (30).

3. Procedimiento según una de las reivindicaciones 1 o 2 que comprende, además, una quinta etapa en la cual se efectúa una medición de las relaciones isotópicas por espectrometría de masa acoplada a un plasma inductivo (ICP-MS) de todas las especies (A, B, C) contenidas en la solución (S) y separadas por isotacoforesis, estando el espectrómetro de masa (ICP-MS) directamente acoplado al dispositivo de electroforesis.

4. Procedimiento según una de las reivindicaciones 1 o 2 que comprende, además, una quinta etapa en la cual se recupera después de la segunda etapa de aplicación de una tensión una primera especie (A) separada previamente a la tercera etapa de parada del campo eléctrico.

5. Procedimiento según la reivindicación 4 que comprende, además, una sexta etapa en la cual se efectúa una medición de relaciones isotópicas por espectrometría de masa acoplada a un plasma inductivo (ICP-MS) de la primera especie (A) separada por isotacoforesis antes de proseguir la separación por isotacoforesis de las otras especies (B, C), estando el espectrómetro de masa (ICP-MS) directamente acoplado al dispositivo de electroforesis.

6. Procedimiento según una cualquiera de las reivindicaciones en el cual el dispositivo de electroforesis capilar es al menos en parte un microsistema fluido.

7. Procedimiento según la reivindicación 4 en el cual el espectrómetro de masa acoplada a un plasma inductivo es de tipo multicolección (MC-ICPMS).

8. Procedimiento según la reivindicación 5 que comprende, además, una séptima etapa de posicionamiento de los detectores del espectrómetro de masa acoplada a un plasma inductivo durante una parada de la corriente eléctrica.

9. Procedimiento según una de las reivindicaciones anteriores en el cual las especies comprenden unos aniones minerales, unos cationes minerales, unos compuestos organometálicos o sus mezclas, al menos dos especies presentan una interferencia isobárica tal que la diferencia de masa atómica entre las especies cargadas está comprendida entre 0,001 y 0,9 unidad de masa atómica.

10. Procedimiento según una de las reivindicaciones anteriores en el cual las especies cargadas comprenden unos metales de transición, unos alcalinos, unos alcalinotérreos, unos lantánidos y/o unos actínidos.

11. Procedimiento según una de las reivindicaciones anteriores en el cual el electrolito conductor (M) y/o terminal (T) es una solución acuosa de un compuesto que comprende los elementos carbono y oxígeno.

60

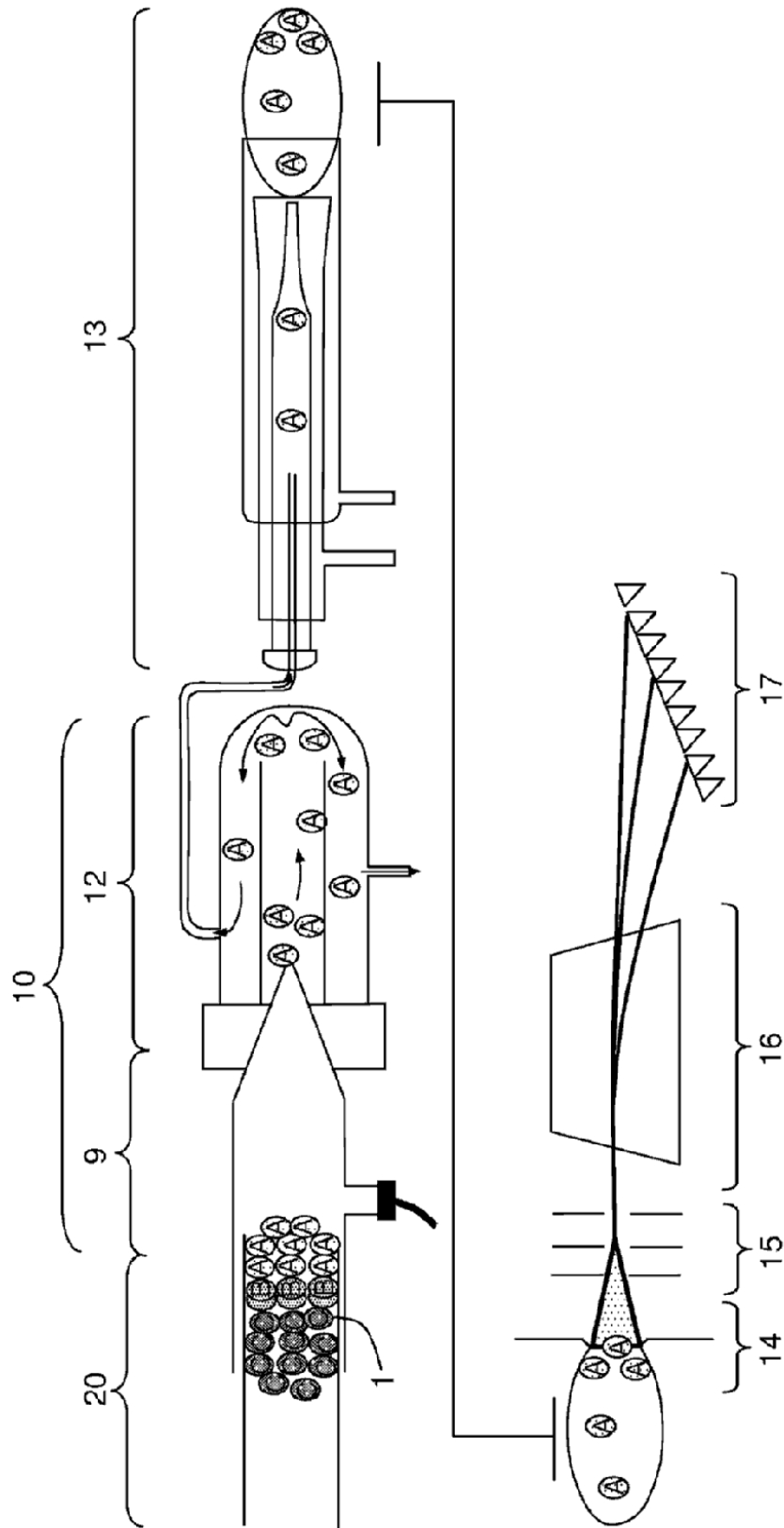


FIG.1

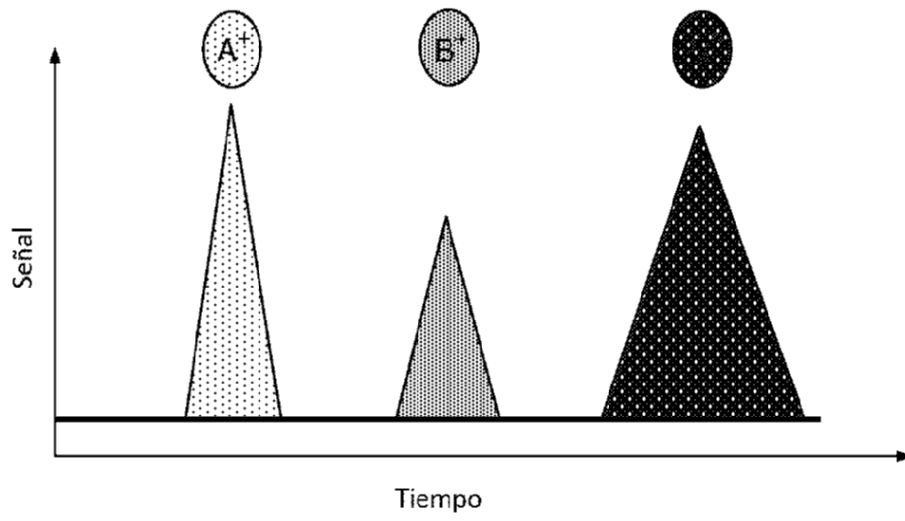


FIG.2a

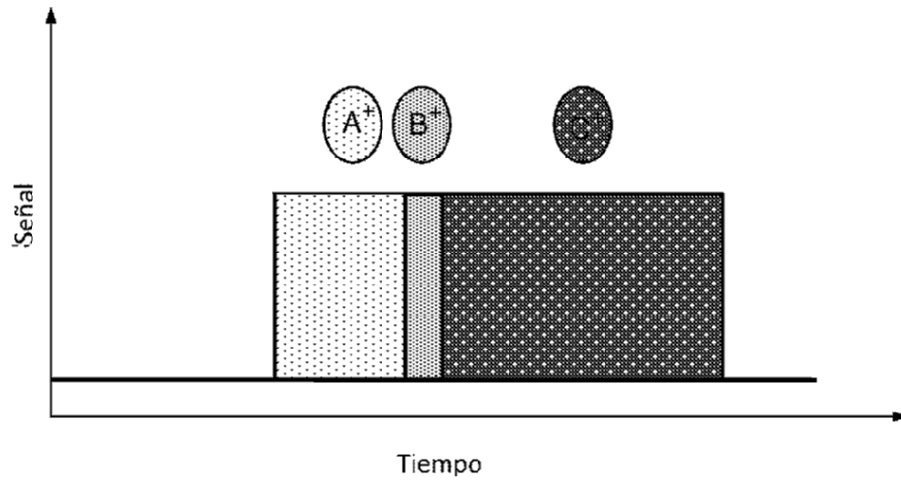


FIG.2b

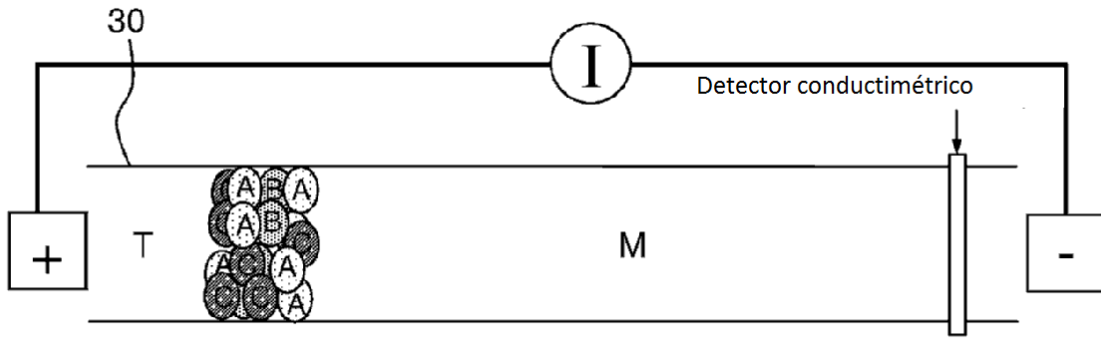


FIG.3a

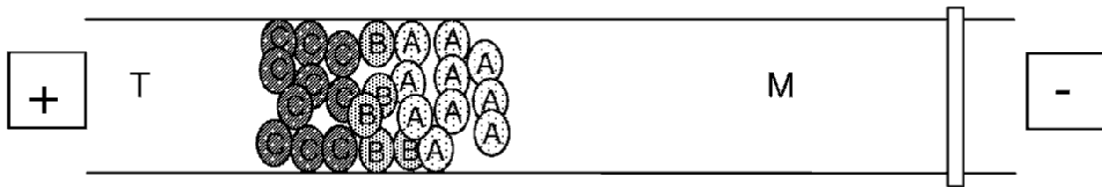


FIG.3b

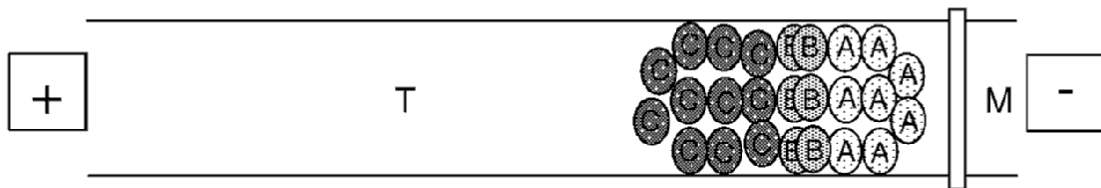


FIG.3c

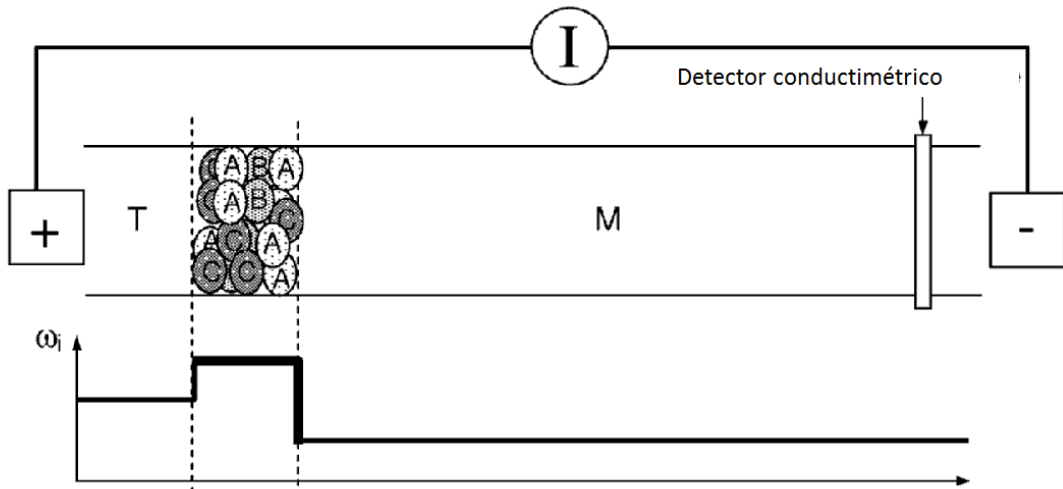


FIG.4a

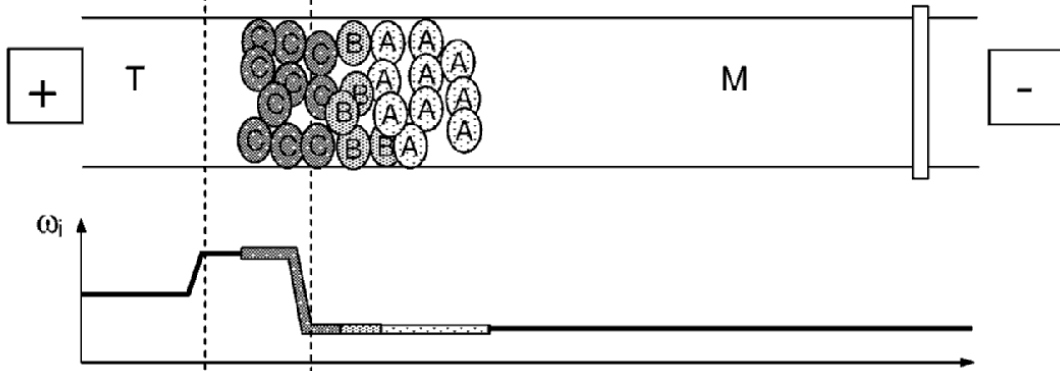


FIG.4b

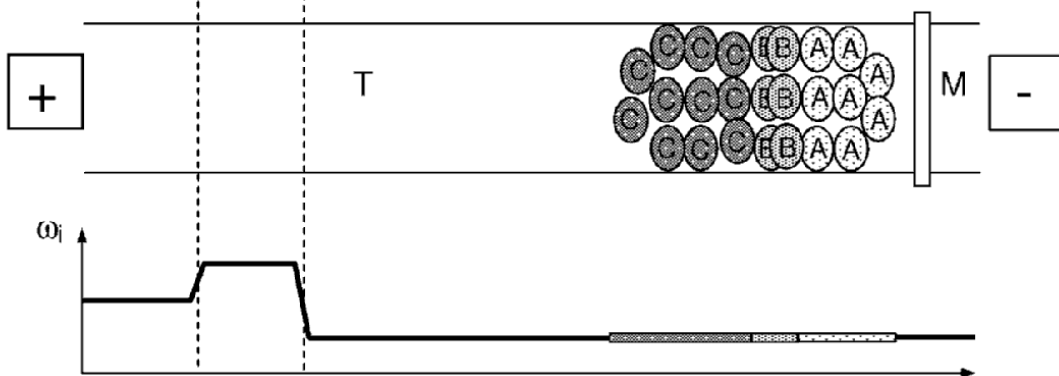


FIG.4c

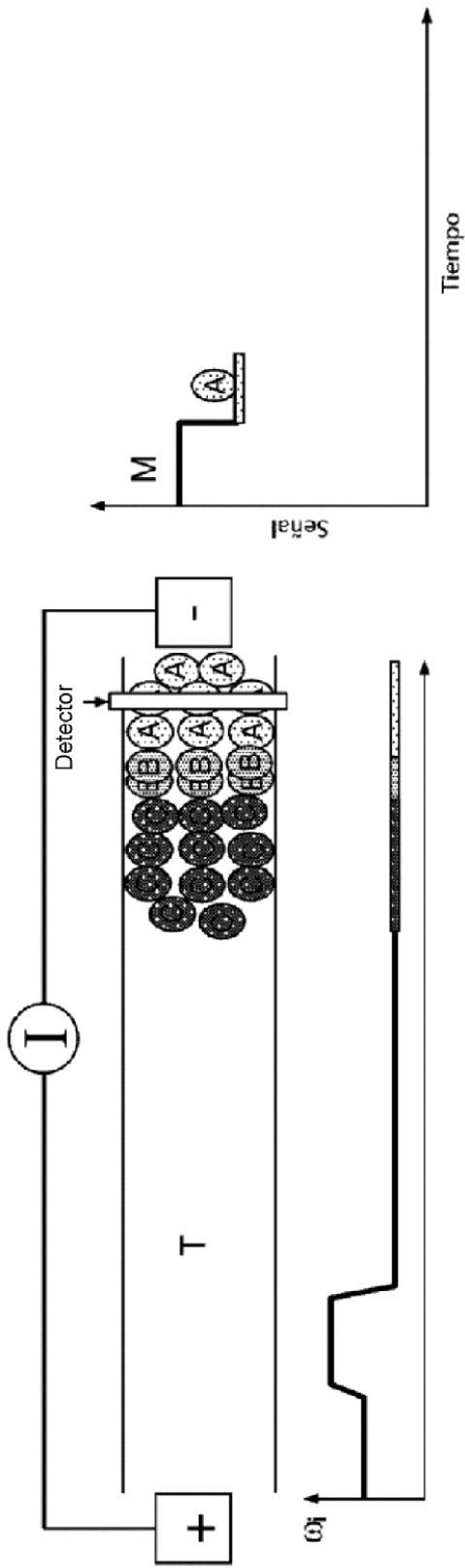


FIG. 5a

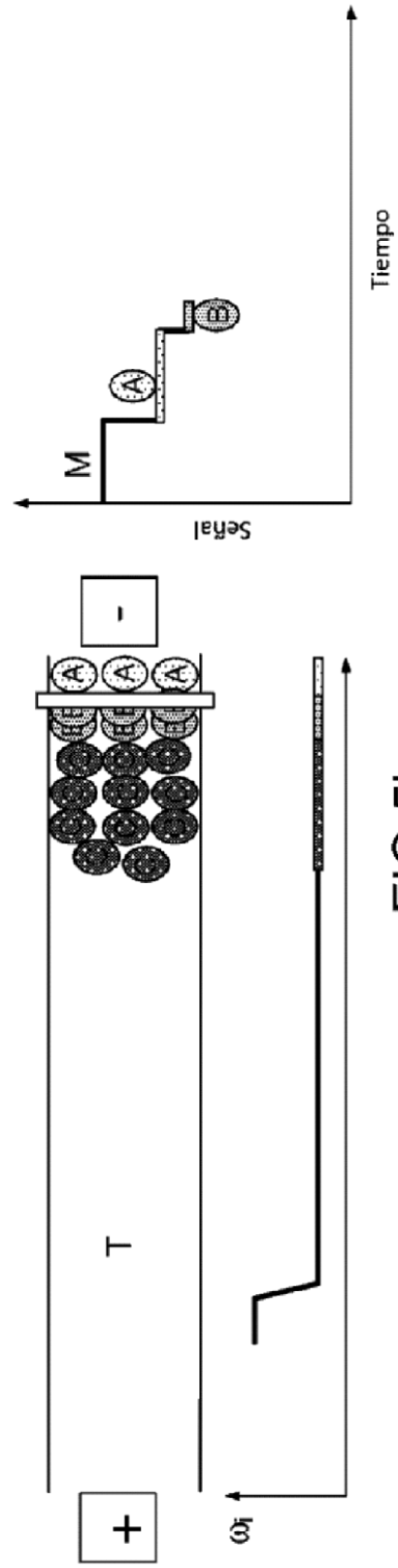
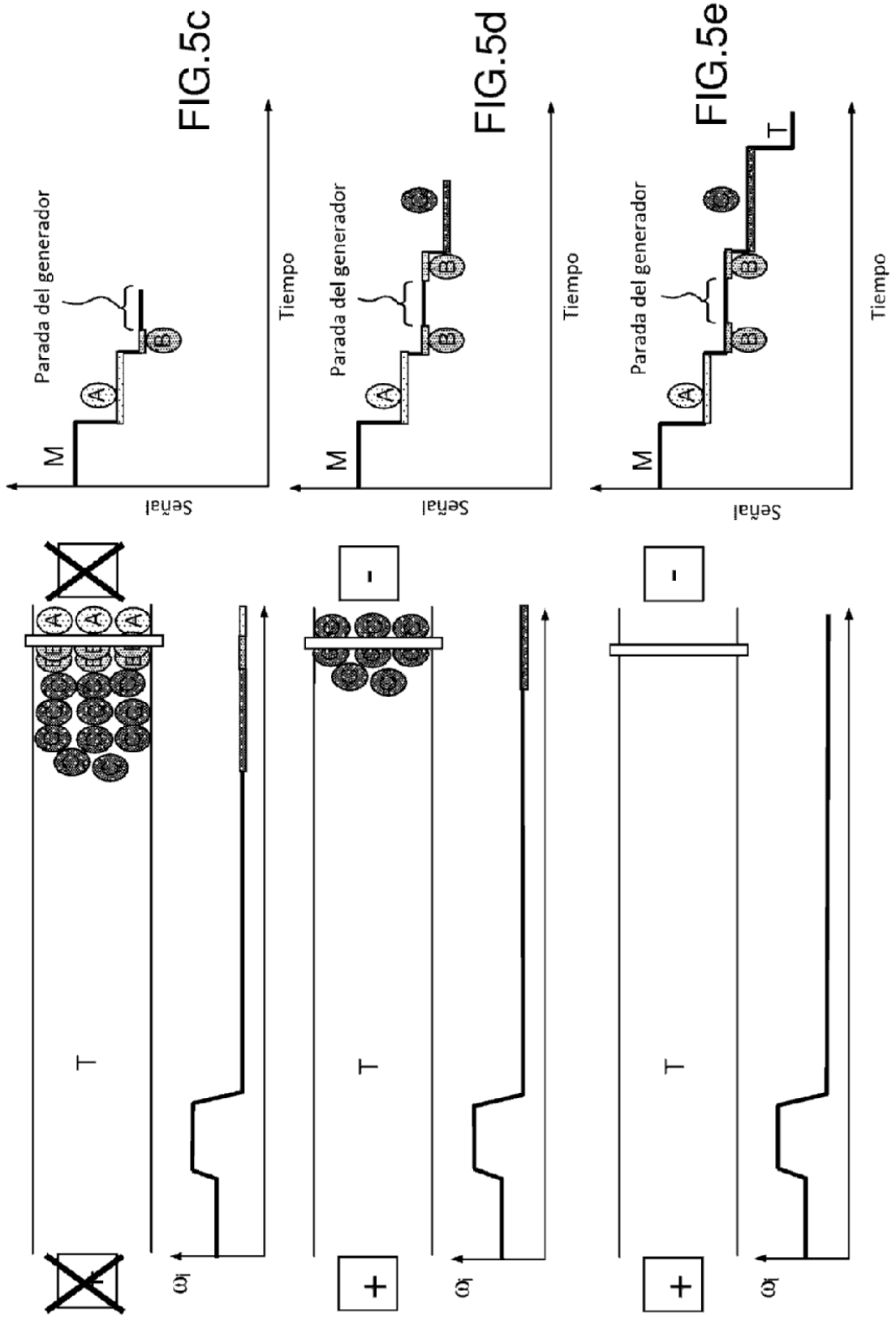


FIG. 5b



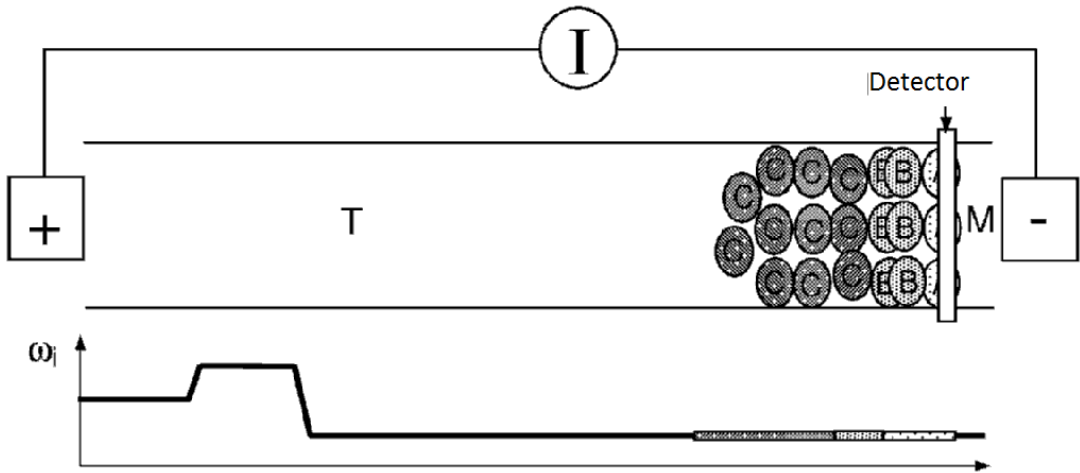


FIG.6a

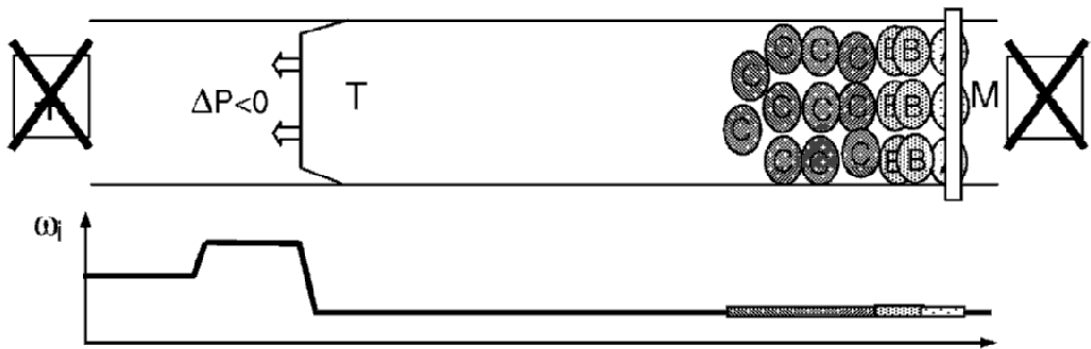


FIG.6b

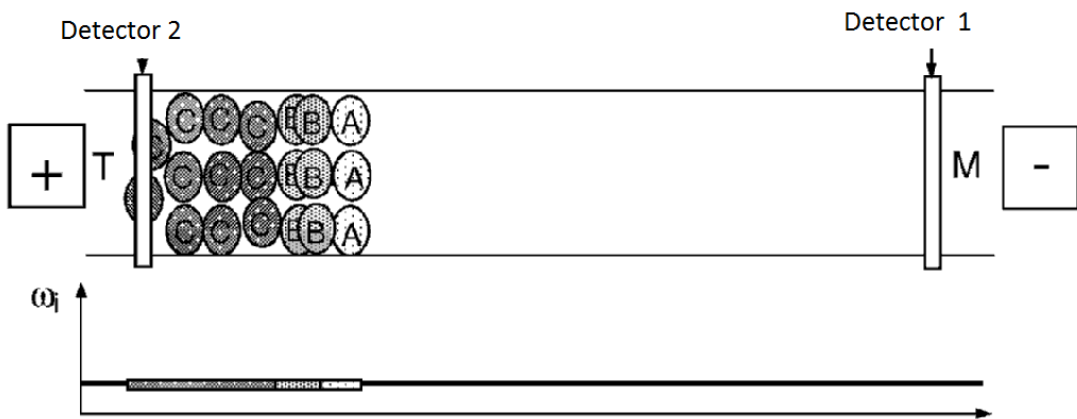


FIG.6c

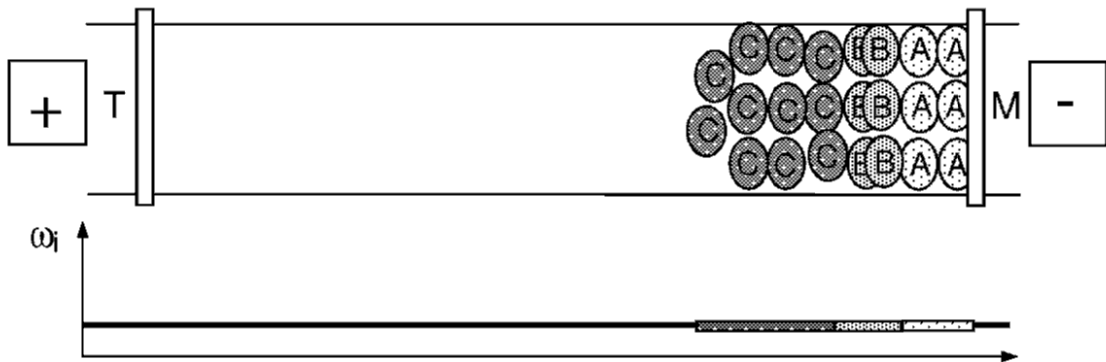


FIG.6d

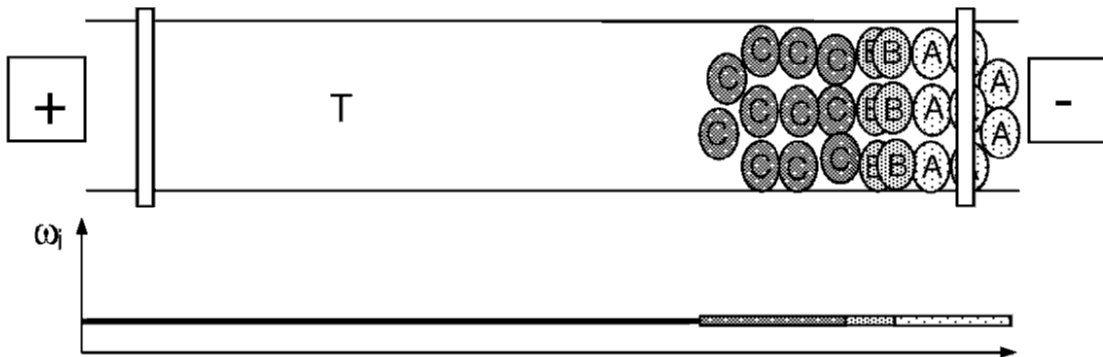


FIG.6e

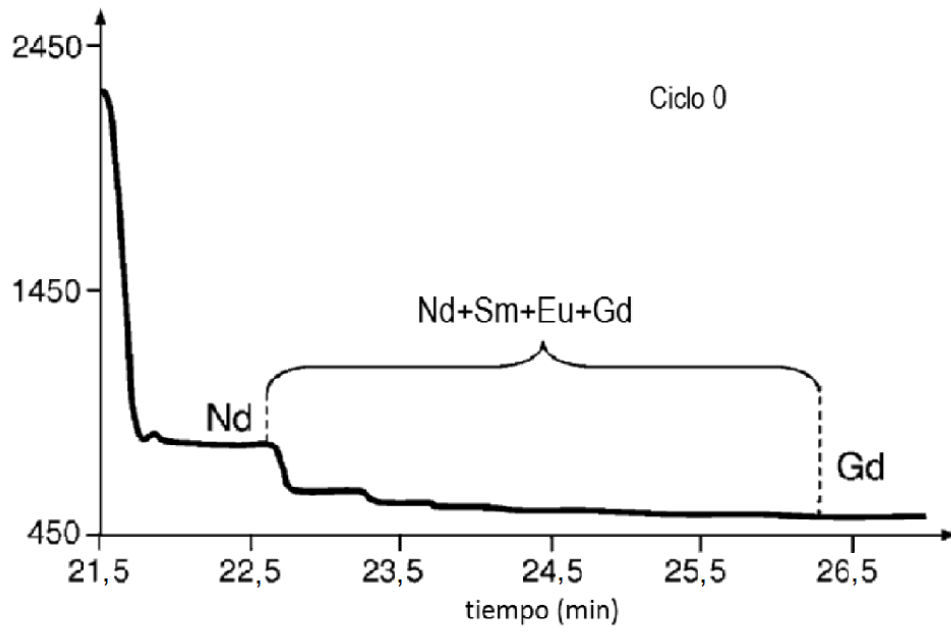


FIG.7a

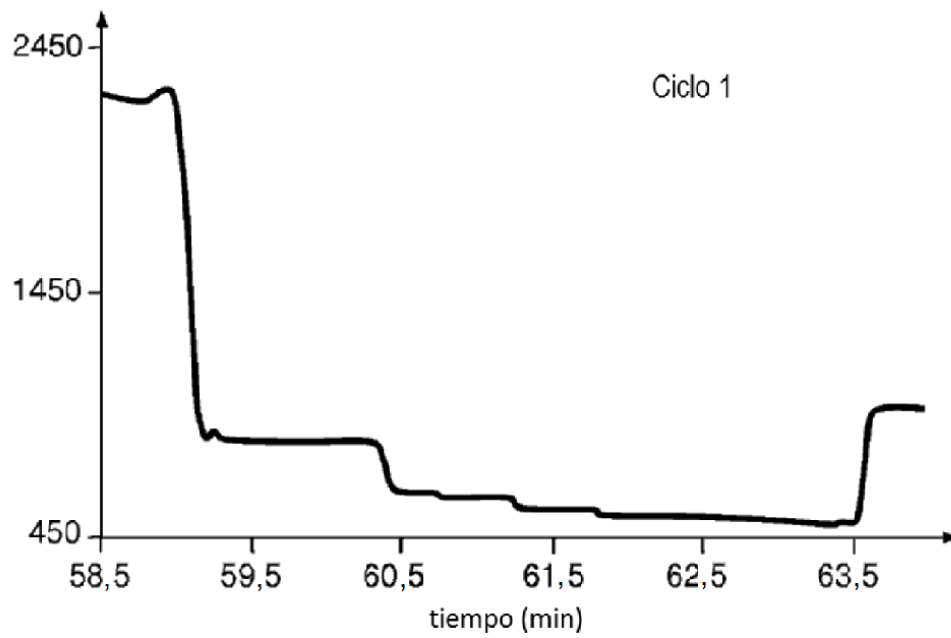


FIG.7b

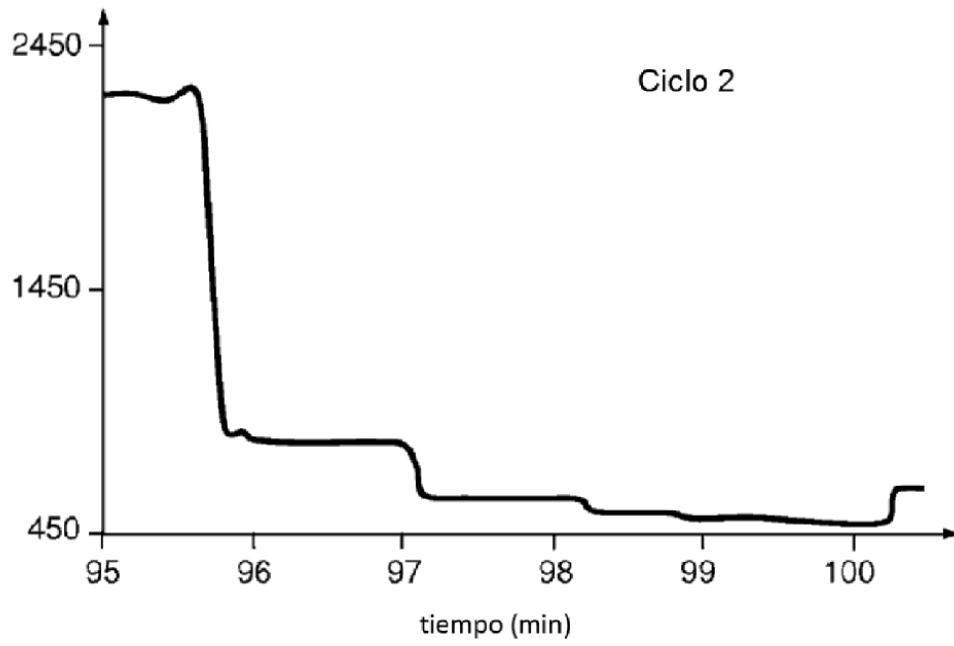


FIG.7c

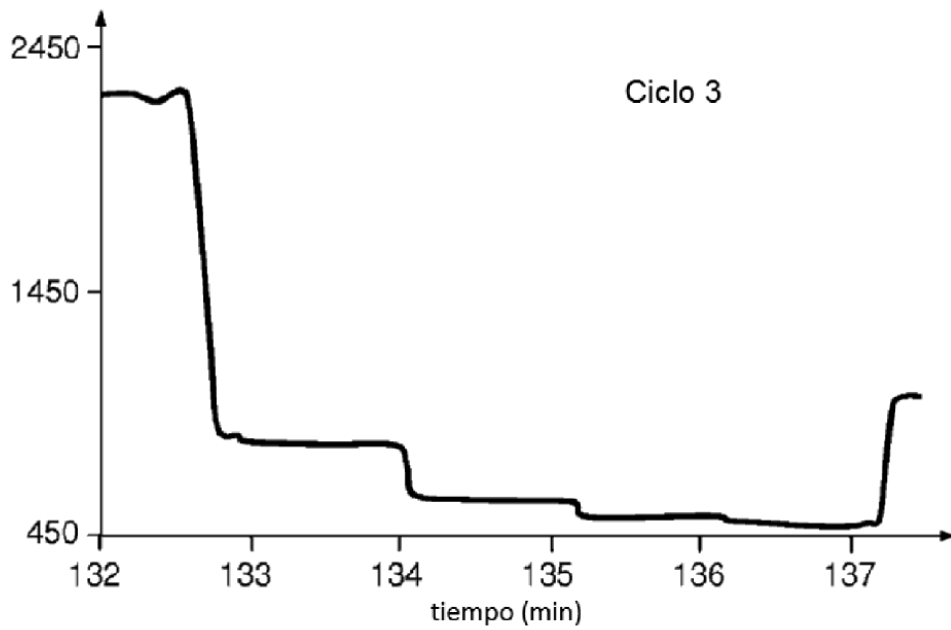


FIG.7d

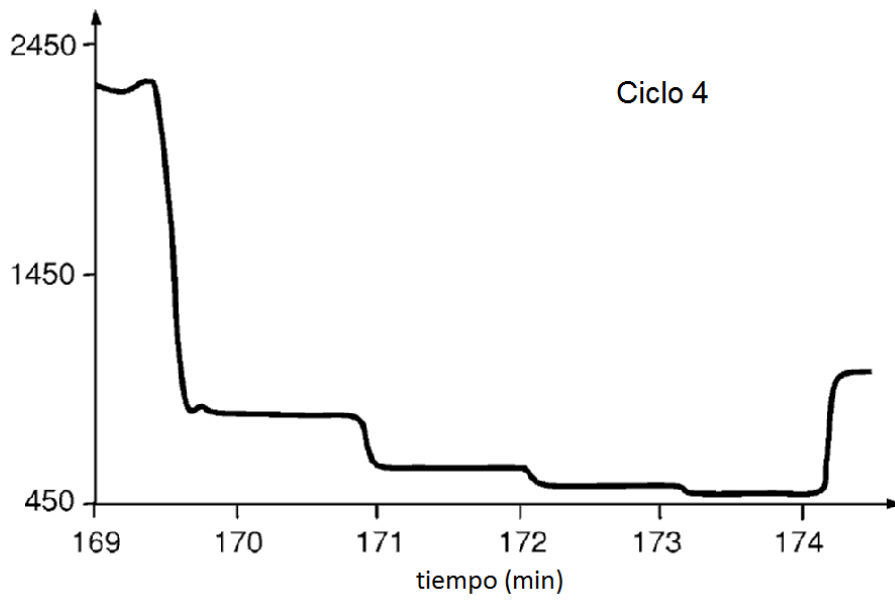


FIG.7e

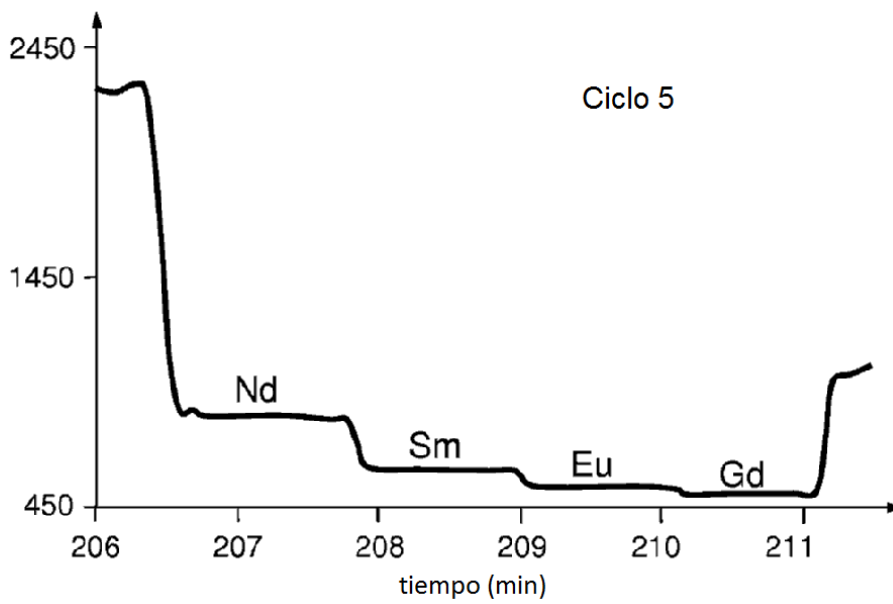


FIG.7f

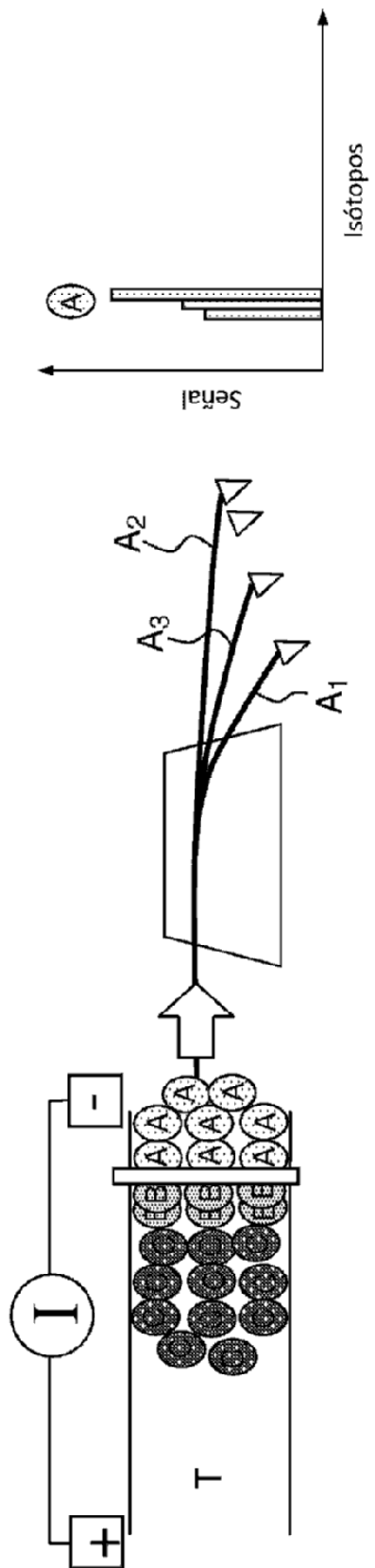


FIG.8a

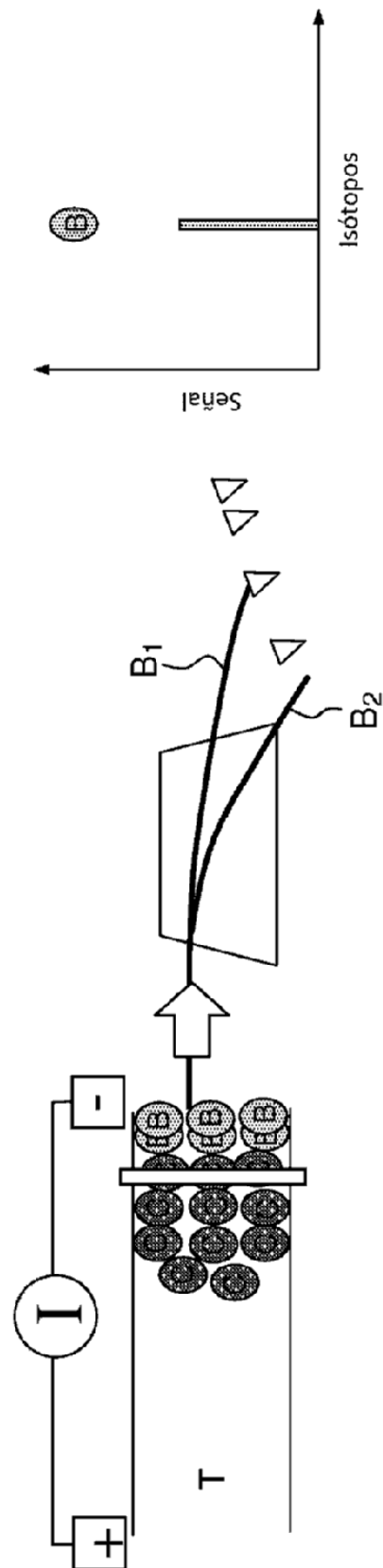


FIG.8b

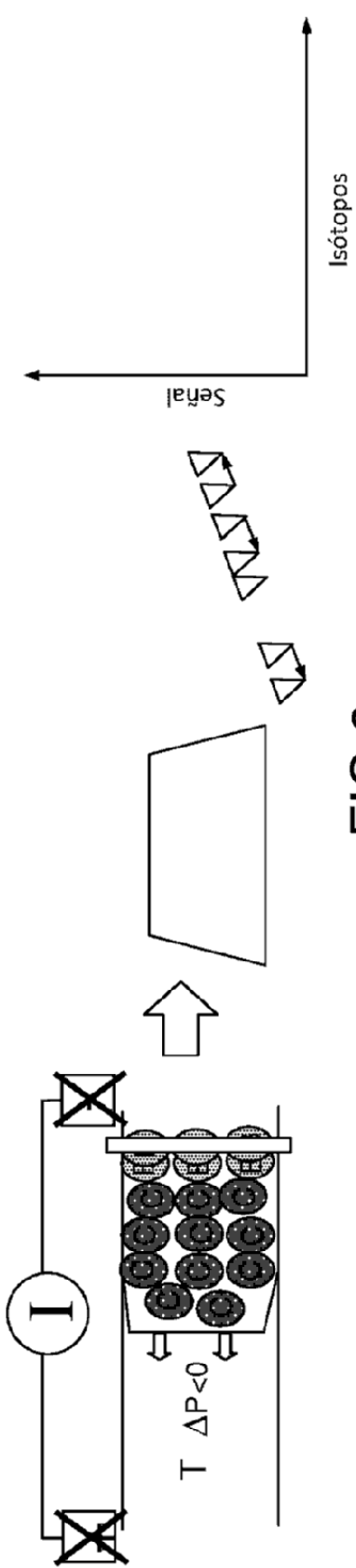


FIG.8c

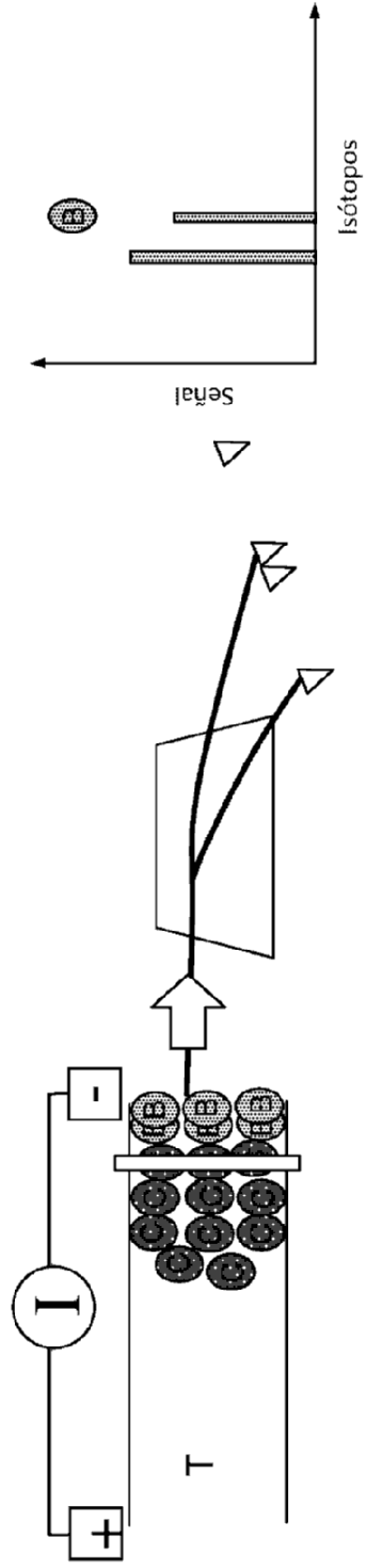


FIG.8d

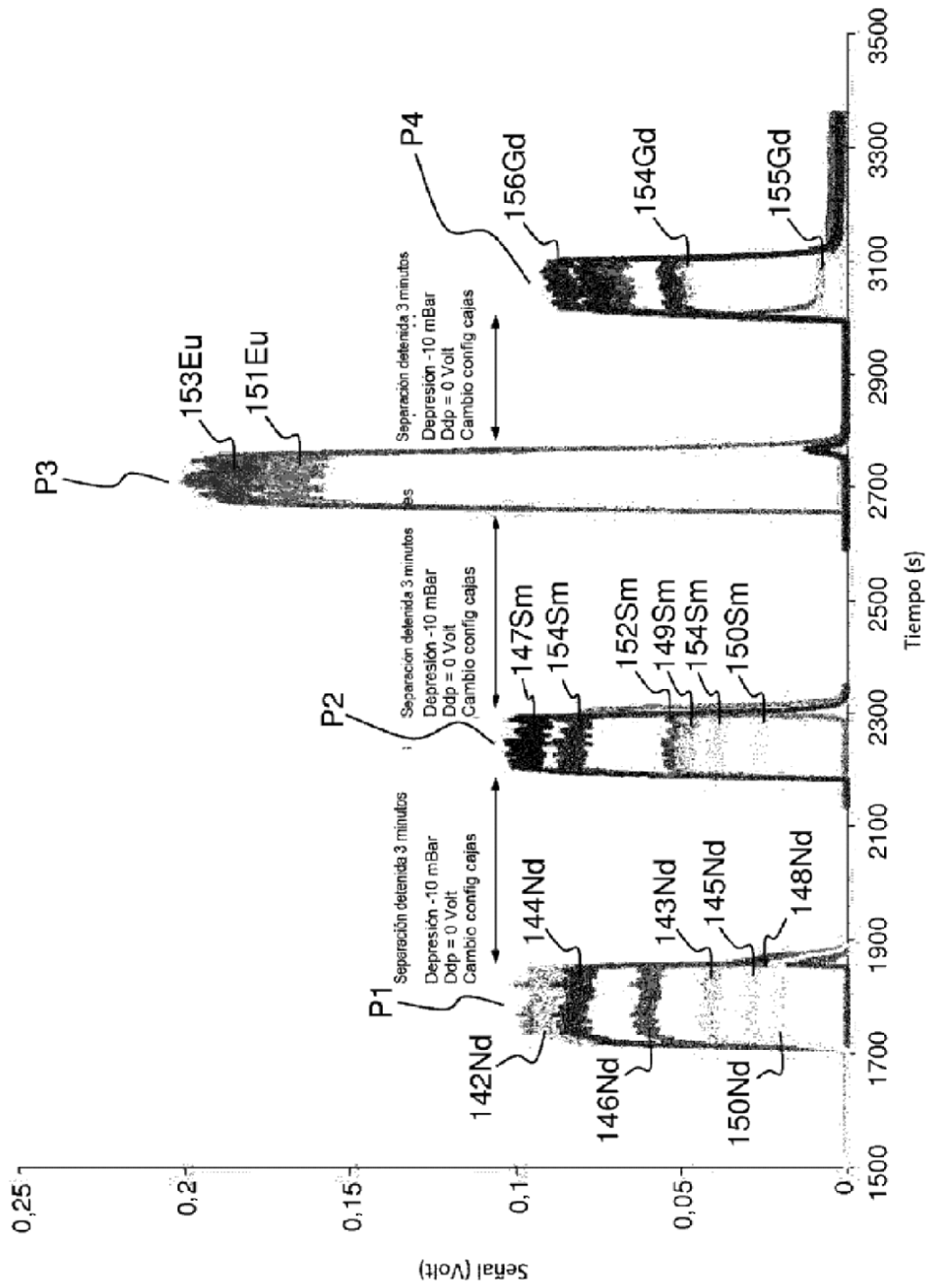


FIG.9