

QUANTIFICATION DE MINÉRAUX DANS DES COMPRIMÉS PHARMACEUTIQUES DE MULTIVITAMINES PAR XRF ET LIBS

Mémoire de maîtrise
Spécialité : Génie pharmaceutique – Développement et implantation de PAT

Philip QUINN

Jury : **Ryan GOSSELIN**, directeur
Nicolas ABATZOGLOU, co-directeur
Joanny SALVAS, superviseure industrielle
Jocelyn VEILLEUX, rapporteur
Pedro SEGURA, évaluateur externe

RÉSUMÉ

La technique ICP-AES (Inductively-Coupled Plasma Atomic Emission Spectroscopy) est fréquemment appliquée comme méthode de contrôle de la qualité dans l'industrie pharmaceutique pour vérifier le contenu en minéraux de comprimés de multivitamines. C'est une méthode très fiable et éprouvée, mais elle nécessite une longue préparation des échantillons qui réduit l'efficacité du laboratoire. Les techniques XRF (X-Ray Fluorescence) et LIBS (Laser Induced Breakdown Spectroscopy) sont des technologies étudiées afin de déterminer leur potentiel comme une approche alternative à la quantification rapide des minéraux. Leur utilisation permettrait d'économiser sur des consommables dispendieux et nocifs, d'économiser du temps de laboratoire et de quarantaines pour les produits finis.

L'objectif de l'étude est de quantifier 10 minéraux dans des comprimés pharmaceutiques avec une précision qui respecte les standards de l'industrie en question. Des méthodes d'analyse appropriées à chacune des technologies évaluées sont proposées pour effectuer une quantification optimale des minéraux.

Pour ce faire, une méthodologie adéquate a été développée pour la technologie LIBS permettant de tenir compte de la micro-hétérogénéité des échantillons pharmaceutiques. La méthode permet de déterminer la probabilité d'échantillonnage en fonction des tailles de particules pour chacune des espèces.

Ensuite, des modèles quantitatifs multivariés et univariés ont été comparés pour chacune des technologies d'analyse. Il a été démontré que les algorithmes de régression multivariés ne sont pas significativement plus performants que les méthodes traditionnelles pour l'analyse des spectres obtenus. Par contre, en comparant les deux technologies d'analyse, XRF permet d'obtenir des erreurs de prédiction inférieures (MEP = 15 %) à LIBS (MEP = 30 %) ainsi que des courbes de calibration significativement plus linéaires. Toutefois, quoique la technologie LIBS semble obtenir des performances inférieures en général, elle promet certains avantages pour des applications futures telles que les possibilités suivantes : 1- faire du profilage en trois dimensions, 2- échantillonner de très faibles quantités et 3- n'avoir aucune préparation d'échantillon. Au final, LIBS offre davantage de forces pour des applications d'échantillons homogènes ou en profilage alors que XRF serait préférable pour les échantillons hétérogènes.

Suite aux efforts de développement de modèles quantitatifs, une analyse des effets de matrice pour la technologie LIBS a permis d'évaluer l'effet de diverses propriétés des matrices en fonction de l'intensité LIBS observée. La concentration volumique élémentaire, la conductivité thermique, la masse volumique des comprimés et la proportion molaire élémentaire dans le plasma sont toutes des propriétés ayant montré des corrélations importantes ($R^2 \geq 0.5$) avec l'intensité LIBS.

En ce qui concerne l'applicabilité au niveau industriel, les erreurs de prédiction obtenues pour les technologies XRF et LIBS ne rencontrent pas les standards pharmaceutiques faisant ainsi que l'application de ces technologies est impossible au moment actuel. Toutefois, d'autres applications simplifiées sont proposées à partir des observations effectuées lors de ces travaux de recherche.

Mots clés : XRF, LIBS, quantification, comprimés pharmaceutiques, multivitamines, effets de matrice et modèle d'échantillonnage

REMERCIEMENTS

J'aimerais d'abord remercier mes directeurs de recherche, Professeur Ryan Gosselin et Professeur Nicolas Abatzoglou, pour leur support tout au long de mon projet. Que ce soit pour des conseils, des idées, des disponibilités ou du temps investi pour m'aider dans mes travaux, vous avez su m'encadrer pour mener à bien mes travaux. Je vous remercie spécialement pour toutes les connaissances que vous m'avez partagées au cours de ces deux années de collaboration. J'en serai reconnaissant tout au long de ma carrière.

Également, j'aimerais souligner l'implication de Joanny Salvat de Pfizer Montréal qui a été ma superviseuse immédiate du point de vue industriel. Ton implication hebdomadaire et ta disponibilité ont été énormément appréciées pour générer des nouvelles pistes de solution pour tous mes projets. Je te remercie aussi pour tous tes conseils autant professionnels que techniques, qui me serviront à m'améliorer dans ma future carrière.

De nombreuses autres personnes ont été impliquées dans ce projet que ce soit directement ou indirectement. Je tiens à remercier spécialement les personnes suivantes :

- Jean-Sébastien Simard et Steve Hammond sans qui ce projet n'aurait jamais vu le jour. De plus, ils ont permis de publiciser les initiatives de recherche dans le domaine afin de donner énormément d'expositions pour ce projet au niveau international chez Pfizer;
- Sophie Belley pour avoir initié le projet avant mon arrivée dans l'équipe PASG et pour avoir passé plus de deux semaines à temps plein à préparer des formulations de multivitamines manuellement qui m'ont énormément servi tout au long de ce projet;
- Sonia Blais, Stéphane Gutierrez et Irène Kelsey-Lévesque de l'Université de Sherbrooke pour avoir effectué de nombreuses journées de développement de méthode avec l'appareil XRF;
- Antoine Cournoyer, Pierre-Philippe Lapointe-Garant et Jean-Maxime Guay pour avoir été toujours disponibles pour me donner un coup de main lorsque nécessaire;
- Charles Gaudreault, Emmanuel Vachon Lachance, Nicolas Lafleur, Romain Picard, Maxime Robillard, Ketsia Yekpe, Gabrielle Clément, Anais Fougairole, Samuel Papineau, Hélène Quach, Pierre Le Fur, Vickie Labonté et Delphine Jouin pour leur support et leur implication quotidienne;
- Yuki et Moccio pour votre support moral pendant mes nombreuses journées de rédaction à la maison.

Enfin, j'aimerais remercier toutes autres personnes m'ayant appuyé dans mon cheminement d'études graduées. Je n'ai jamais été seul pour faire progresser ce projet.

Merci.

TABLE DES MATIÈRES

Résumé	ii
Remerciements	iii
Table des matières	iv
Liste des figures.....	viii
Liste des tableaux	x
Liste des Équations.....	xii
Liste des symboles.....	xiii
Liste des acronymes.....	xv
CHAPITRE 1 - Introduction	1
1.1. Mise en contexte et problématique	1
1.1.1. Contexte général	1
1.1.2. Contexte spécifique	1
1.1.3. Problématique.....	2
1.2. Objectifs du projet de recherche	4
1.3. Description des contributions originales	5
1.4. Plan du mémoire.....	6
CHAPITRE 2 - État de l'art	8
2.1. Les comprimés pharmaceutiques.....	8
2.2. Technologies d'analyse élémentaire.....	10
2.3. Principe de la technologie XRF.....	11
2.4. Principe de la technologie LIBS	12
2.5. Comparaison des limites de détection des appareils	12
2.6. Description des composantes d'un appareil XRF.....	14
2.6.1. Les spectrographes	14

2.6.2. Les détecteurs de photons X.....	15
2.7. Description des composantes d'un appareil LIBS.....	17
2.7.1. Les spectrographes	17
2.7.2. Les détecteurs	20
2.8. Applications pertinentes de la technologie XRF	23
2.9. Applications pertinentes de la technologie LIBS	26
2.10. Analyse de données multivariées	28
2.10.1. Prétraitement des données	29
2.10.2. Analyse par composantes principales (PCA)	30
2.10.3. Techniques de régression.....	32
2.10.4. Évaluation des performances d'un modèle.....	33
CHAPITRE 3 - Travaux préliminaires.....	37
3.1. Introduction de chapitre.....	37
3.2. Matériel et méthodes	37
3.2.1. Préparation des échantillons/formulations et méthode de référence	37
3.2.2. Détermination de la taille de particules	40
3.3. Résultats et discussion.....	43
3.3.1. Courbe de broyage.....	43
3.3.2. Étude des tailles de particules des matières premières	45
3.3.3. Évaluation des tailles de particules par MEB.....	49
3.4. Conclusion de chapitre	49
CHAPITRE 4 - Expérimentation avec XRF	51
4.1. Introduction de chapitre.....	51
4.2. Matériel et méthodes	51
4.2.1. Description de l'appareil XRF et du fonctionnement.....	51

4.2.2. Tests volet préliminaire	52
4.2.3. Détermination des LOD	53
4.2.4. Tests volet final	56
4.2.5. Analyse des données.....	57
4.3. Résultats et discussion.....	58
4.3.1. Résultats LOD	58
4.3.2. Résultats tests préliminaires	59
4.3.3. Résultats tests XRF.....	60
4.4. Conclusion de chapitre	69
CHAPITRE 5 - Expérimentation avec LIBS.....	70
5.1. Introduction de chapitre.....	70
5.2. Matériel et méthodes	70
5.2.1. Description de l'équipement LIBS utilisé	70
5.2.2. Développement de méthode LIBS.....	70
5.2.3. Quantification de minéraux dans des multivitamines avec LIBS.....	84
5.3. Résultats et discussion.....	86
5.3.1. Développement de méthode LIBS.....	86
5.3.2. Quantification de minéraux dans des multivitamines avec LIBS.....	103
5.4. Conclusion de chapitre	110
CHAPITRE 6 - Comparaison des techniques	111
6.1. Introduction de chapitre.....	111
6.2. Comparaison selon les critères de performance	111
6.3. Comparaison des attributs qualitatifs des instruments	111
6.4. Conclusion de chapitre	112
CHAPITRE 7 - Évaluations des effets de matrice libS.....	114

7.1. Introduction de chapitre.....	114
7.2. Matériel et méthodes	114
7.2.1. Choix des matrices et de l'API.....	114
7.2.2. Préparation des échantillons.....	115
7.2.3. Méthode d'acquisition et d'analyse des spectres.....	115
7.2.4. Étude des effets de matrice.....	115
7.3. Résultats et discussion.....	116
7.3.1. Courbes de calibration dans des matrices simples	116
7.3.2. Étude des effets de matrice.....	118
7.4. Conclusion de chapitre	124
CHAPITRE 8 - Conclusion	125
8.1. Sommaire.....	125
8.2. Contributions et conclusions négatives	126
8.3. Travaux futurs et améliorations possibles	126

LISTE DES FIGURES

Figure 2.1: Image d'une tranche d'un comprimé multivitaminé obtenue par microtomographie aux rayons X. Les différences de densité sont illustrées par des différents tons de gris.....	9
Figure 2.2: Exemple d'une matrice d'échantillonnage de 25 tirs de 50 microns de diamètre (typique de la technologie LIBS).....	9
Figure 2.3 : Schéma d'un monochromateur Czerny-Turner [B&WTEK, 2015].....	18
Figure 2.4 : Fonctionnement d'un spectrographe échelle [Vogt, 2012].....	19
Figure 2.5 : Schéma d'un PMT [Davidson, 2004]	21
Figure 2.6 : Analogie entre un CCD et de l'eau de pluie transférée dans des seaux [Davidson, 2004; Hazelwood, 2012]	22
Figure 2.7 : A) Spectres NIR non-traités, B) Spectres ayant subi une dérivée première, C) Spectres ayant subi une dérivée seconde [Eigenvector, 2011].....	30
Figure 2.8 : Figure illustrant les deux composantes principales d'un nuage de points en trois dimensions, inspiré de [Gosselin, 2012b].....	31
Figure 3.1: Photo MEB du dioxyde de silice à 1500X.....	42
Figure 3.2: Image traitée pour le calcul de particules, chaque couleur représente une particule distincte.....	42
Figure 3.3: Photo MEB d'un mélange multivitaminé, aucun broyage.....	44
Figure 3.4: Photo MEB d'un mélange multivitaminé, 1 minute de broyage	44
Figure 3.5: Photo MEB d'un mélange multivitaminé, 2 minutes de broyage	44
Figure 3.6: Photo MEB d'un mélange multivitaminé, 3 minutes de broyage	45
Figure 3.7: Photo MEB d'un mélange multivitaminé, 10 minutes de broyage	45
Figure 3.8: Agrégat de métavanadate de sodium à 3000X.....	48
Figure 3.9: Particules fines d'oxyde de magnésium à 5000X.....	48
Figure 4.1: Instrument WD-XRF Axios de PANalytical [PANalytical, 2015].....	52
Figure 4.2: Spectre original d'un échantillon de sulfate de cuivre. Les zones en rouge représentent des sections du spectre pouvant être utilisées pour le calcul du bruit de mesure .	54
Figure 4.3: Spectre lissé par un algorithme SG (25 pts d'ordre 2)	55
Figure 4.4: Choix de données corrigé manuellement.....	55
Figure 4.5: Exemple de calcul de ligne basale	56

Figure 4.6: Scores en fonction des 3 principales variables latentes	61
Figure 4.7: Scores selon les 3 principales variables latentes pour les 16 observations avec un modèle de calibration incluant tous les échantillons en calibration ainsi que les 5 formules additionnelles.....	62
Figure 4.8: Résultats des analyses multivariées et univariées par XRF	63
Figure 5.1: Exemple de figure obtenue au profilomètre.....	72
Figure 5.2: Exemple d'ablation LIBS vue par le profilomètre	72
Figure 5.3: Représentation 3D de la simulation où le cylindre bleu correspond au comprimé, les gros points noirs correspondent aux ablations laser et les petits points noirs correspondent aux particules à échantillonner	75
Figure 5.4: Graphique de la probabilité en fonction de λ (i)	77
Figure 5.5: Obtention de λ correspondant à une probabilité cumulative de 95% ($\lambda = 40,4$)....	78
Figure 5.7 : Simulation avec hétérogénéité latérale forcée (latéral 1).....	82
Figure 5.8 : Simulation avec hétérogénéité latérale forcée (latéral 2).....	82
Figure 5.9 : Simulation avec hétérogénéité axiale forcée (Axial 1 et 2). Les points noirs de grande taille correspondent aux échantillonnages simulés alors que ceux de petite taille correspondent aux particules simulées avec un biais axial.....	82
Figure 5.10: Graphique de convergence des résultats de la simulation.....	87
Figure 5.11: Graphique de corrélation entre la taille de particules et le ratio de simulation.....	88
Figure 5.12: Résultats d'optimisation du SNR par plan d'expériences	101
Figure 5.13: Diagrammes de Pareto pour le Mo et le Ca (les interactions sont représentées par les symboles XbyY qui signifie l'interaction entre le facteur X et le facteur Y, par exemple 1by2 est l'interaction entre le facteur 1 et le facteur 2).....	102
Figure 5.14: Résultats des analyses multivariées et univariées par LIBS	110
Figure 7.1: Courbes de calibration pour chacune des matrices étudiées	117
Figure 7.2: Graphiques de corrélations entre les propriétés choisies et l'intensité LIBS observée : a) chaleur spécifique du composé, b) conductivité thermique, c) masse volumique, d) énergie d'ionisation, e) chaleur spécifique atomique moyenne, f) masse moléculaire, g) pourcentage molaire de K dans le plasma, h) concentration volumique de K dans le comprimé et i) affinité électronique.....	122

LISTE DES TABLEAUX

Tableau 1.1 : Éléments d'intérêt et concentrations typiques dans un comprimé multivitaminé [PfizerCHC, 2015].....	2
Tableau 2.1 : Liste des différents rôles des excipients pharmaceutiques [Rutesh, 2015]	8
Tableau 2.2 : Comparaison des limites de détection de l'appareil LIBS avec le contenu typique des multivitamines.....	13
Tableau 2.3 : Comparaison des limites de détection de l'appareil XRF avec le contenu typique des multivitamines.....	13
Tableau 2.4 : Plages de concentrations de calibration pour divers éléments	24
Tableau 3.1: Concentrations qualitatives pour des comprimés de multivitamines (majeur : > 1 %, mineurs : 1 % > concentration > 0,1 % et traces : < 0,1 %)	37
Tableau 3.2: Estimation des plages d'erreurs des analyses de formulations multivitaminées par ICP-MS.....	39
Tableau 3.3: Matrice des corrélations des compositions élémentaires des échantillons de calibration.....	40
Tableau 3.4: Image MEB pour l'évaluation de la taille de particules des matières premières .	46
Tableau 3.5: Estimation de la taille de particule moyenne des matières premières broyées.....	49
Tableau 4.1: Comparaison des LOD théoriques et des ratios signal/bruit observés	58
Tableau 4.2: Comparaison des coefficients de détermination des courbes de calibration des différents instruments XRF	59
Tableau 4.3: Comparaison des erreurs de prédiction obtenues par les différents instruments XRF	60
Tableau 4.4 : Résultats XRF obtenus par analyses univariées et multivariées	68
Tableau 5.1 : Limites de détection pour divers éléments avec l'instrument LIBS	79
Tableau 5.2: Variation des facteurs pour le plan d'expérience d'optimisation des paramètres d'acquisition.....	83
Tableau 5.3 : Longueurs d'onde utilisées pour l'analyse quantitative LIBS.....	84
Tableau 5.4: Résultats des ratios interpolés et des fréquences.....	88
Tableau 5.5 : Comparaison entre les fréquences obtenues par simulation et par un calcul théorique.....	89

Tableau 5.6: Résultats des temps requis pour échantillonner chacun des éléments d'intérêt dans la formulation proposée (entre parenthèses se trouve le nombre de tirs calculé).....	90
Tableau 5.7: Évaluation des concentrations locales d'un tir LIBS.....	91
Tableau 5.8: Comparaison des résultats de simulations employant des tailles de particules constantes vs des tailles de particules variables	92
Tableau 5.9: Tableau comparant les ratios attendus avec les ratios observés expérimentalement	93
Tableau 5.10: Sources d'erreurs probables pour chacun des éléments	94
Tableau 5.11: Description des groupes soumis à l'ANOVA	94
Tableau 5.12: Résultats de l'ANOVA pour comparer les différents cas d'hétérogénéités	95
Tableau 5.13: Différences entre les moyennes des différents cas d'hétérogénéités par le test de Tukey	95
Tableau 5.14: Modalités des paramètres LIBS optimisés	103
Tableau 5.15: Résultats LIBS obtenus par analyses univariées et multivariées des données .	104
Tableau 6.1: Comparaisons qualitatives entre XRF et LIBS.....	112
Tableau 7.1 : Matrices choisies pour l'analyse des effets de matrices	114
Tableau 7.2: Coefficients de détermination des courbes de calibration pour chacune des matrices étudiées.....	117
Tableau 7.3: Propriétés physiques, thermiques et chimiques des matrices étudiées	119
Tableau 7.4: Intensités LIBS estimées par les courbes de calibration.....	120
Tableau 7.5: Coefficients de détermination des propriétés étudiées	123

LISTE DES ÉQUATIONS

(Équation 2.1)	14
(Équation 2.2)	32
(Équation 2.3)	32
(Équation 2.4)	33
(Équation 2.5)	33
(Équation 2.6)	33
(Équation 2.7)	33
(Équation 2.8)	35
(Équation 2.9)	35
(Équation 2.10)	36
(Équation 4.1)	54
(Équation 4.2)	54
(Équation 5.1)	73
(Équation 5.2)	73
(Équation 5.3)	73
(Équation 5.4)	76
(Équation 5.5)	76
(Équation 5.6)	78
(Équation 5.7)	85
(Équation 5.8)	86
(Équation 5.9)	86
(Équation 5.10)	89
(Équation 5.11)	95

LISTE DES SYMBOLES

<u>Symbole</u>	<u>Définition(s)</u>
β	Vecteur des coefficients de régression
β_x	Coefficient de régression x
C_p	Capacité calorifique
d	Largeur de la fente de diffraction
e	Nombre d'Euler ou erreur
\bar{e}	Erreur moyenne
E	Matrice d'erreurs résiduelles
F	Fréquence de particules par tir
k	Nombre d'occurrences en probabilité poissonniennes ou conductivité thermique
n	Ordre de diffraction ou nombre d'observations par échantillon
N	Nombre d'observations dans la population
P	Matrice des chargements ou probabilité
p_i	Ordonnée d'un point i d'un spectre brut
$p_{l,i}$	Ordonnée d'un point i d'un spectre lissé
p_x	Vecteur des chargements x
q	Statistique de Tukey
T	Matrice des scores
t_x	Vecteur des scores x
V	Volume
X	Matrice d'observations
x_n	Observation à la variable n
x	Coordonnée x
Y	Matrice des valeurs de référence
y	Coordonnée y
y_i	Valeur mesurée
\hat{y}_i	Valeur prédite
z	Coordonnée z

θ	Angle de sortie
λ	Longueur d'onde ou nombre moyen d'occurrences en probabilités poissonniennes

LISTE DES ACRONYMES

	Définition anglaise	Définition française
AOTF	Acousto-Optical Tunable Filter	Filtre acousto-optique modulable
API	Active Pharmaceutical Ingredient	Ingrédient actif pharmaceutique
CCD	Charge-Coupled Device	Dispositif à transfert de charge
CID	Charge-Injection Device	Dispositif à injection de charge
DOPS	Direct Optical Position Sensing	Détection optique directe de la position
EPMA	Electron Probe Micro-Analyzer	Microanalyseur à faisceau électronique
FAAS	Flame Atomic Absorption Spectroscopy	Spectroscopie par absorption atomique
GDMS	Glow Discharge Mass Spectroscopy	Spectroscopie de masse à décharge lumineuse
GFAAS	Graphite Furnace Atomic Absorption Spectroscopy	Four d'atomisation muni de tubes de graphite en spectrophotométrie d'absorption atomique
INAA	Instrumental Neutron Activation Analysis	Analyse par activation neutronique instrumentale
LA/ICP-AES/MS	Laser Ablation/Inductively Coupled Plasma-Atomic Absorption Spectroscopy/Mass Spectroscopy	Spectroscopie d'absorption atomique/de masse par plasma inductif/ablation laser
LIBS	Laser Induced Breakdown Spectroscopy	Spectroscopie par ablation laser
LOD	Limit Of Detection	Limite de détection
LV	Latent Variable	Variable latente
MCC	MicroCrystalline Cellulose	Cellulose microcristalline
MEB	Electronic microscope	Microscope Électronique à Balayage
MEP	Mean Error of Prediction	Erreur moyenne de prédiction
MLR	Multi-Linear Regression	Régression multilinéaire
MS	Mean Square	Carré moyen
NIR	Near Infra-Red	Proche infra-rouge
NIST	National Institute of Standards and Technology	Institut national de standards et de technologie
Nd:YAG	Neodymium: Yttrium Aluminum Garnet	Neodymium: Yttrium Aluminum Garnet
PASG	Process Analytical Sciences Group	Groupe de sciences analytiques de procédé
PC	Principal Component	Composante principale
PCA	Principal Component Analysis	Analyse par composantes principales
PCR	Principal Component Regression	Régression par composantes principales
PD	Photo Diode	Photo diode
PDA	Photo Diode Array	Matrice de photodiode
PMT	Photo Multiplier Tube	Tube photo multiplicateur
PLS	Partial Least Squares	Régression des moindres carrés partiels

psi	Pounds per Square Inch	Livres par pouce carré
RMSEC	Root Mean Square Error of Calibration	Racine de l'erreur carrée moyenne de calibration
RMSECV	Root Mean Square Error of Cross-Validation	Racine de l'erreur carrée moyenne de validation croisée
RMSEP	Root Mean Square Error of Prediction	Racine de l'erreur carrée moyenne de prédiction
SG	Savitzky-Golay	Savitzky-Golay
SIMS	Secondary Ion Mass Spectrometry	Spectrométrie de masse par ions secondaires
SNR	Signal to Noise Ratio	Rapport signal sur bruit
SNV	Standard Normal Variate	Variante standard normale
USP	United States Pharmacopeia	Pharmacopeia des États-Unis
UV	Ultra Violet	Ultraviolet
V-HMS	Vanadium-Hexagonal Mesoporous Silica	Silice de vanadium-hexagonal mésoporeuse
VIP	Variable Importance in the Projection	Importance des variables dans la projection
WD/ED-XRF	Wavelength Dispersive/Energy Dispersive-X-Ray Fluorescence	Fluorescence X par dispersion de longueurs d'onde/d'énergie

CHAPITRE 1 - INTRODUCTION

1.1. Mise en contexte et problématique

1.1.1. Contexte général

Dans l'industrie pharmaceutique, les normes de qualité sont très élaborées pour des raisons bien évidentes : la santé des consommateurs en dépend directement. Un produit de piètre qualité pourrait empêcher le client de profiter des bénéfices du produit ou il pourrait même avoir des effets toxiques. C'est pourquoi un suivi rigoureux de la composition et de la qualité doit être fait avant d'autoriser la distribution des produits.

D'abord, lorsqu'un lot de produits pharmaceutiques est en production, il est échantillonné de façon stratégique afin de représenter statistiquement le lot complet de la meilleure façon possible. Donc plusieurs échantillons doivent être pris, mais il faut évidemment faire un compromis pour éviter de devoir exécuter trop de tests. Suite à la production, le lot est mis en entreposage jusqu'à la sortie des résultats de qualité. Ces tests de qualité peuvent prendre plusieurs jours. Cela peut parfois créer d'énormes volumes de stockage ce qui génère des coûts importants pour l'entreprise. De plus, les techniciens de laboratoire qui sont responsables d'exécuter les protocoles pour la vérification de la qualité sont aussi très coûteux à embaucher. Finalement, obtenir un contrôle de la qualité une fois que tout le lot du produit est fabriqué ne permet que très peu de rétroaction et il peut arriver que des lots entiers doivent être détruits pour n'avoir pas atteint le seuil de qualité requis. C'est pourquoi il devient intéressant de développer des technologies de contrôle de qualité qui sont rapides, voire presque instantanées.

1.1.2. Contexte spécifique

Pfizer est un important producteur de comprimés multivitaminés. Il s'agit de compléments alimentaires de vitamines et minéraux qui sont normalement utilisés quotidiennement pour éviter les carences alimentaires. Ces produits sont généralement composés d'un mélange d'environ une vingtaine de minéraux, d'une quinzaine de vitamines et de plusieurs excipients. Leur contenu est réglementé et suivi. Le Tableau 1.1 montre une liste des concentrations typiques d'éléments d'intérêt.

Tableau 1.1 : Éléments d'intérêt et concentrations typiques dans un comprimé multivitaminé [PfizerCHC, 2015]

Éléments	Concentration typique (% wt/wt)
Calcium	20%
Cuivre	<0,1%
Fer	<0,5%
Magnésium	2%
Manganèse	<0,1%
Potassium	5%
Zinc	1%
Chrome	<0,01%
Molybdène	<0,01%
Vanadium	<0,01%

En contrôle de qualité, il existe diverses façons de planifier les tests pour s'assurer de la qualité des produits. Une première façon consiste à tester toutes les propriétés sur les produits à un certain intervalle. C'est ce qui est communément appelé le *skip-lot testing* [Croarkin et Tobias, 2013]. La deuxième façon consiste à tester seulement certaines propriétés critiques, mais sur une plus grande quantité de produits : soit le *reduced-testing*. En fonction du procédé de fabrication, de l'historique de qualité et les exigences réglementaires, il est possible d'établir une stratégie pour les tests de contrôle de qualité. Dans le cas des multivitaminés, ces deux méthodes peuvent être appliquées.

1.1.3. Problématique

Pour faire le contrôle de qualité sur les minéraux, une technologie d'analyse élémentaire est utilisée et la concentration de métaux spécifiques est corrélée à la concentration des minéraux. La méthode actuellement utilisée pour faire ce contrôle est l'ICP-AES (Inductively-Coupled Plasma Atomic Emission Spectroscopy). C'est une technologie sensible et efficace, mais elle nécessite des échantillons liquides homogènes, donc les comprimés doivent être complètement dissous. Pour ce faire, des acides forts concentrés plutôt coûteux doivent être utilisés pour cette digestion. De plus, l'utilisation d'argon est nécessaire pour l'opération de l'appareil et le coût de ce gaz est très élevé dû à la grande consommation du processus d'échantillonnage. La liste de produits consommables ne s'arrête pas à l'argon : des standards doivent être produits régulièrement et des maintenances régulières doivent être effectuées sur l'appareil. En somme,

seulement en coûts d'achat des produits pour opérer l'appareil, des frais substantiels sont dépensés annuellement. Dans un laboratoire externe, les frais de tests pour un échantillon XRF peuvent s'élever aux alentours de 300\$.

De plus, l'utilisation d'acides forts nécessite une gestion des matières résiduelles adéquate. Ceci est aussi une autre source de coûts qui est nécessaire pour limiter les risques environnementaux. Dans plusieurs entreprises, le respect de l'environnement est de plus en plus important puisque les valeurs du public évoluent: les gens ayant une conscience environnementale croissante. C'est pourquoi l'élimination de l'utilisation de produits chimiques est une valeur ajoutée importante pour des technologies d'analyse élémentaire alternatives.

Finalement, le principal défaut de cette technologie est le temps requis pour la préparation des échantillons. Tel qu'il est décrit ci-haut, des digestions acides à haute température sont requises pour solubiliser les comprimés à tester. Un test a normalement une durée approximative de 14h. De plus, lorsque les tests sont faits au laboratoire, ils ne sont pas toujours entamés immédiatement, donc ce temps d'attente pour les résultats peut être encore plus élevé et ceci élimine la possibilité de faire une rétroaction sur le procédé en cas de problèmes de qualité. Les lots complétés doivent alors être conservés en quarantaine pendant de longues périodes et cela génère des coûts d'entreposage pour la compagnie d'où le problème d'avoir une technologie au laboratoire qui est longue et coûteuse.

Tel que décrit dans la présentation du contexte, beaucoup d'économies de temps et d'argent sont possibles avec le remplacement de la technologie ICP-AES qui est actuellement utilisée pour le contrôle de qualité des minéraux dans les produits multivitaminés. C'est pourquoi des tests ont déjà été entamés chez Pfizer pour évaluer la possibilité d'utiliser les technologies XRF et LIBS. Des formulations multivitaminées, où la concentration des composants d'intérêts varie entre les concentrations limites des tests de relâche ont été fabriquées manuellement. Dans ces évaluations préliminaires complétées par Pfizer, les comprimés obtenus ont pu être envoyés à des fournisseurs d'appareils LIBS et XRF, afin d'obtenir des résultats préliminaires. Les résultats pour la technologie LIBS ne concordent pas aux standards de l'industrie à première vue, mais puisque les paramètres d'opération n'ont pas été optimisés ainsi que le fait que la réponse spectrale est très complexe, cette option ne sera pas éliminée aussi rapidement. Au contraire, la

technologie XRF offre des résultats plutôt intéressants pour environ la moitié des éléments d'intérêt ce qui démontre un certain potentiel d'application futur.

1.2. Objectifs du projet de recherche

Il existe différentes façons de qualifier le type d'application d'analyse de procédé en fonction de comment elles sont reliées au procédé de production [Hergeth, 2014] :

- Technologies *Dans la ligne (In-line)* : Ce type de technologie permet l'acquisition de données en continu directement sur la ligne de production. C'est le cas idéal.
- Technologies *En ligne (On-line)* : Ce type de technologie permet l'acquisition rapide par une déviation d'une fraction du produit pour permettre l'analyse sur la ligne de production. C'est très similaire à une technologie *In-line*
- Technologies *À la ligne (At-line)* : Ce type de technologie est situé près de la ligne de production et permet l'obtention de résultats relativement rapidement, mais nécessite un échantillonnage par un opérateur avant d'effectuer les tests à proximité. C'est beaucoup plus rapide en général qu'une technologie *Off-line*, mais légèrement moins efficace qu'une technologie *On-line*.
- Technologies *Hors ligne (Off-line)* : Ce type de technologie est situé dans un laboratoire et nécessite souvent de nombreuses heures pour obtenir les résultats puisque les échantillons doivent être acheminés de la ligne de production vers le laboratoire pour y effectuer des manipulations complexes.

Les technologies proposées sont des technologies ayant le potentiel d'être appliquées *At-line* contrairement à ICP-AES qui est une technologie *Off-line*. Cette différence permet potentiellement une grande économie de temps pour obtenir les résultats de qualité des produits.

Ces technologies sont encore loin de pouvoir être utilisées directement en milieu pharmaceutique pour la quantification des minéraux dans des comprimés multivitaminés, d'où l'importance d'investir du temps pour étudier le potentiel des technologies alternatives et la possibilité

d'améliorer les modèles de prédiction. L'objectif principal du projet peut alors être défini comme suit :

Évaluer la possibilité d'utiliser XRF et LIBS *At-line* pour remplacer ICP-AES pour faire la quantification de minéraux dans des comprimés multivitaminés pharmaceutiques.

Les objectifs secondaires peuvent être définis comme suit :

- Réviser les technologies disponibles pour faire l'identification et la quantification des minéraux dans des comprimés pharmaceutiques et confirmer l'applicabilité des technologies XRF et LIBS;
- Travailler avec les fournisseurs de telles technologies sur l'application spécifique pour améliorer la qualité des lectures afin de permettre le développement de modèles optimaux;
- Développer des méthodologies spécifiques aux produits pharmaceutiques multivitaminés pour optimiser la qualité des résultats;
- Tester l'efficacité des appareils sur divers types de comprimés et développer des modèles de prédiction des concentrations des éléments d'intérêt;
- Explorer les effets de matrice LIBS afin de les comprendre adéquatement pour mener vers une amélioration de la performance en quantification dans des échantillons complexes.

1.3. Description des contributions originales

Il existe déjà des applications pharmaceutiques des technologies XRF et LIBS, par contre, les travaux proposés dans cette initiative de recherche apportent un supplément aux travaux présentement dans la littérature. D'abord, les comprimés à quantifier sont de nature très complexe avec plus de 35 ingrédients. En utilisant des technologies susceptibles aux effets de matrice, cette complication risque de nécessiter les analyses de données poussées. Des outils d'analyse de données multivariées seront appliqués pour tenter de modéliser les effets de matrice.

Les comprimés pharmaceutiques granulaires sont des mélanges de poudres de natures très variées ayant des tailles de particules entre quelques microns et plus de 200 microns. C'est pourquoi elles peuvent être qualifiées de micro-hétérogènes, car à l'échelle macrométrique, les échantillons sont homogènes si la qualité des produits est normale, mais à l'échelle micrométrique, les comprimés sont fortement hétérogènes.

De plus, le fait de travailler avec des échantillons micro-hétérogènes soulève la question d'échantillonnage significatif. Surtout avec la technologie LIBS qui échantillonne seulement dans l'ordre des microgrammes, cette hétérogénéité nécessite un développement de méthode judicieux pour obtenir des résultats fiables avec ce type d'échantillon. L'étude de la méthodologie d'échantillonnage LIBS est entamée dans ce travail.

Finalement, les effets de matrice LIBS seront étudiés afin de quantifier les paramètres qui régissent ceux-ci. Jusqu'à présent, peu d'information se retrouve dans la littérature quant à l'explication des effets de matrice LIBS et ceux-ci sont cruciaux pour obtenir des modèles fiables de prédiction élémentaire dans des échantillons hétérogènes complexes.

1.4. Plan du mémoire

À la suite du premier chapitre du document, le lecteur trouvera le contenu suivant :

- État de l'art (Chapitre 2) :

Dans cette section, il se trouvera une description des choix des technologies à évaluer pour cette étude expérimentale. Ensuite, le fonctionnement de ces technologies sera présenté afin de justifier l'application de celles-ci dans le contexte désiré. Aussi, les composantes principales utilisées pour les deux types d'instrument seront présentées avec une description de leur fonctionnement. Finalement, les applications pertinentes utilisant ces technologies dans des domaines d'intérêt seront présentées.

- Les travaux préliminaires requis pour l'étude en question (Chapitre 3) :

Ce chapitre inclura une explication de la méthode choisie pour la détermination des formulations ainsi que la préparation des échantillons. Aussi, une méthode permettant la détermination de la

taille de particules par imagerie MEB sera présentée afin d'obtenir des résultats nécessaires au cœur de l'expérimentation des chapitres suivants.

- L'expérimentation et les résultats par XRF et LIBS (Chapitre 4, 5 et 6):

Ces chapitres seront la partie principale de cette étude. Pour chacune des technologies, une méthode appropriée est développée pour l'application spécifique pharmaceutique. Ensuite, les limites de détection seront déterminées à partir de cette méthode et finalement, les expériences quantitatives seront présentées incluant l'acquisition, l'analyse et l'interprétation des données spectrales.

- Études des effets de matrice avec LIBS (Chapitre 7) :

Cette dernière section majeure tentera d'aller plus loin dans l'explication des résultats obtenus par les analyses quantitatives LIBS. Plusieurs matrices seront choisies et étudiées pour évaluer leur effet sur des analyses LIBS. Les intensités de spectres en fonction des propriétés chimiques des composés seront étudiées.

- La conclusion (Chapitre 8).

CHAPITRE 2 - ÉTAT DE L'ART

2.1. Les comprimés pharmaceutiques

L'industrie pharmaceutique utilise souvent la compression de matières premières granulaires pour obtenir des comprimés, utilisable comme format solide de médicaments. Ils sont composés la majorité du temps de deux types de composés : les ingrédients actifs (API) et les excipients. Les excipients peuvent avoir plusieurs fonctions dans un comprimé tel que vu dans le Tableau 2.1.

Tableau 2.1 : Liste des différents rôles des excipients pharmaceutiques [Rutesh, 2015]

Type d'excipient	Rôle
Liant	assurer la solidité post-compression du comprimé
Diluant	assurer que le comprimé a une taille adéquate pour permettre la manipulation du comprimé
Lubrifiant	assurer un écoulement fluide des poudres pré-compression et assurer l'éjection facile de la matrice de compression
Désintégrant	assurer que le comprimé se dissolvent adéquatement dans le système digestif

L'ingrédient actif est le produit médicinal contenu dans le comprimé permettant d'agir et d'influencer le bien-être du consommateur. Les proportions de chacun des ingrédients dans le comprimé permettent au tout d'avoir des propriétés spécifiques et reproductibles, c'est pourquoi l'homogénéité du mélange de poudres est importante.

Les poudres soumises à des manipulations sont souvent sujettes à la ségrégation par différents mécanismes dus aux différences de propriétés physico-chimiques des poudres : densité, taille de particules, charge électrostatiques et autres [Gotoh *et al.*, 1997]. La ségrégation peut causer des problèmes majeurs de qualité [Davar *et al.*, 2011], d'où l'importance d'en comprendre les phénomènes et d'être en mesure d'évaluer l'homogénéité d'un mélange de poudres.

Dans plusieurs cas, les APIs sont présents en faibles proportions dans le comprimé. Même si la qualité des comprimés est suivie et validée, il peut toujours y avoir des micro-hétérogénéités dans le comprimé. Des tests préliminaires par microtomographie aux rayons X (Figure 2.1) ont

permis de montrer ces hétérogénéités locales dues aux différentes particules utilisées dans un mélange multivitaminé.

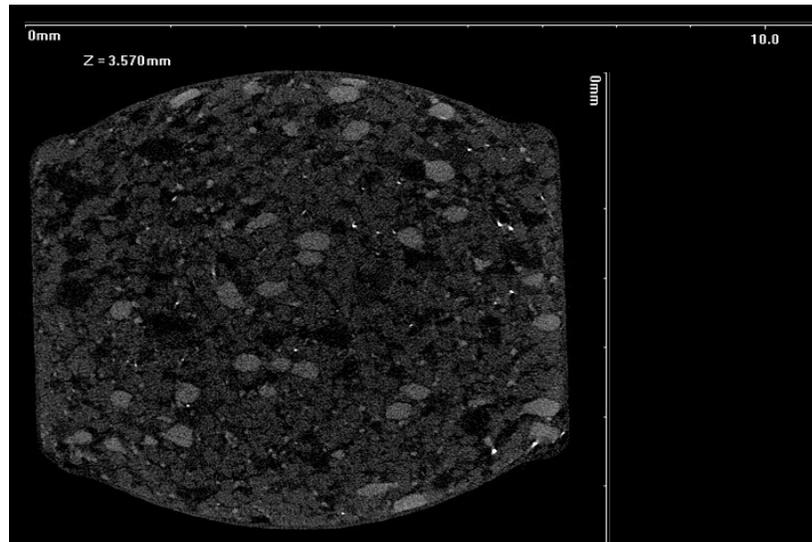


Figure 2.1: Image d'une tranche d'un comprimé multivitaminé obtenue par microtomographie aux rayons X. Les différences de densité sont illustrées par des différents tons de gris.

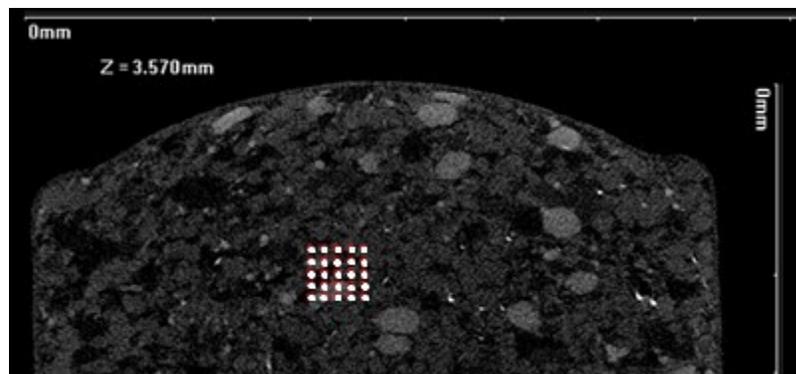


Figure 2.2: Exemple d'une matrice d'échantillonnage de 25 tirs de 50 microns de diamètre (typique de la technologie LIBS).

La Figure 2.1 montre une image reconstruite en fonction des différences de densité dans le comprimé analysé. Les particules plus denses sont plus foncées alors que les particules de plus faible densité apparaissent avec un ton gris pâle. Cette technique n'offre pas une bonne discrimination entre des matières de densités semblables, mais elle permet de montrer le niveau d'homogénéité à une échelle similaire à celle du comprimé et des échantillonnages potentiels. La Figure 2.2 montre une matrice d'échantillonnages de 50 microns de diamètre qui est typique de

la technologie LIBS. Cette figure montre qu'il est possible d'échantillonner strictement sur une particule d'une composition unique, d'où l'importance de planifier l'échantillonnage adéquatement afin d'obtenir un échantillon représentatif du comprimé complet.

2.2. Technologies d'analyse élémentaire

En premier lieu, il y a les technologies ICP (ICP-Mass Spectrometry [Nam *et al.*, 2011] et LA-ICP-AES/MS (Laser-Ablation-ICP-AES/MS) [Lewen, 2011]) qui sont fréquemment utilisées pour des applications d'analyse élémentaire de composés particuliers. Ce sont des technologies très semblables à celle qui est actuellement utilisée (ICP-AES). C'est pourquoi elles viennent avec les mêmes inconvénients, soit des longues étapes de prétraitement. D'autre part, les méthodes LA (ablation laser) sont plus rapides et ressemblent beaucoup à la technologie LIBS en termes de fonctionnement [Lewen, 2011] puisque plutôt qu'une digestion acide de l'échantillon, il s'agit d'une ablation par laser pour échantillonner. Dans le cadre de ce projet, la méthode LA-ICP pourrait s'avérer une option possible en ce qui concerne la vitesse d'acquisition des mesures. Toutefois, l'opération d'un tel appareil nécessite des conditions particulières dues à l'utilisation d'argon en continu ainsi que l'opération du plasma en continu. Pour l'argon, il y a des risques d'asphyxie si l'environnement n'est pas aménagé adéquatement avec une hotte et un capteur. De plus, puisque le plasma génère énormément de chaleur, il faut avoir un bon contrôle de la température ambiante par refroidissement de l'enceinte de l'appareil. Ces conditions ne sont pas très propices dans un environnement de production, donc cette option pourrait difficilement être implantée *at-line*. Par contre, d'un point de vue économique, puisque la technologie ICP est déjà implantée dans les laboratoires de *Pfizer*, il faudrait seulement ajouter le laser qui est une composante modulaire pouvant être achetée individuellement pour environ 85 000\$ chez ThermoScientific (groupe CETAC).

Ensuite, des granites égyptiens ont été analysés [El-Taher, 2012] avec la technologie INAA (*Instrumental Neutron Activation Analysis*) qui fonctionne par bombardement de neutrons. Celle-ci consiste à créer des isotopes radioactifs des éléments présents dans l'échantillon. Un détecteur de rayons Gamma sert à identifier les éléments et quantifier. Un des principaux problèmes de cette technologie est le risque associé à la radioactivité qui peut durer plusieurs années [University-Missouri, 2012] ainsi que son utilisation de consommables. De plus, les rayons

Gamma sont très énergétiques, donc ils ont un pouvoir pénétrant très important générant ainsi une source de risque pour les opérateurs. Il y a aussi la technologie GDMS (*Glow Discharge Mass Spectroscopy*) qui a été utilisée par Tarik et Gunther pour faire la quantification des éléments dans des liquides et dans des comprimés pharmaceutiques [Tarik et Günther, 2010]. Celle-ci consiste généralement à utiliser l'interaction d'un plasma d'argon avec un échantillon pour ioniser la matière qui est ensuite analysée par spectrométrie de masse. Cette technologie semble efficace pour l'analyse élémentaire dans des échantillons solides, mais les coûts associés à l'achat de cette technologie peuvent excéder les 400 000\$ ce qui est beaucoup trop élevé pour ce qui est recherché pour ce projet [EAG, 2012].

Plusieurs autres technologies ont été trouvées telles que SIMS [Butler *et al.*, 2011] (*Secondary Ion Mass Spectrometry*), FAAS [Butler *et al.*, 2011; Lewen, 2011] (*Flame Atomic Absorption Spectrometry*), GFAAS [Butler *et al.*, 2011; Lewen, 2011] (*Graphite Furnace Atomic Absorption Spectroscopy*) et EPMA [Sokaras *et al.*, 2009] (*Electron Probe MicroAnalyzer*), mais chacune a été éliminée dû à des facteurs de coûts, l'applicabilité à la situation pharmaceutique ou par des conclusions de rapports Pfizer internes. C'est pour ces raisons que XRF et LIBS sont les deux seules technologies qui ont été conservées pour suivre le projet.

2.3. Principe de la technologie XRF

La première technologie envisagée fonctionne par fluorescence à rayons X. Ce rayonnement très énergétique permet à la matière d'émettre de la fluorescence. Un rayon fluorescent est émis lorsqu'un électron d'une couche interne (couche L ou K) absorbe un photon incident possédant assez d'énergie pour lui permettre d'être éjecté. Cette éjection crée un poste électronique vacant à basse énergie. L'atome voulant se stabiliser, un électron d'une couche supérieure tente immédiatement de combler le poste vacant pour diminuer son niveau énergétique. Puisque l'énergie est conservée, la diminution en niveau énergétique de l'électron est compensée par l'émission d'un photon (fluorescence). Ces photons de fluorescence sont analysés d'une façon semblable aux résultats de LIBS soit en préparant des courbes de calibration pour ensuite faire la prédiction de concentration.

2.4. Principe de la technologie LIBS

La deuxième technologie envisagée pour répondre aux besoins du projet est LIBS. C'est une technologie basée sur des principes physiques connus depuis plusieurs décennies. Par contre, ce n'est que récemment que les avancements scientifiques ont permis d'obtenir des détecteurs, des lasers et d'autres composantes assez performantes pour mettre cette technologie en application. De façon plus générale, LIBS est une méthode spectroscopique par émission atomique. Ceci signifie que c'est une méthode permettant d'étudier des échantillons selon leur composition atomique. Les étapes générales de ce type de spectroscopie sont d'abord la vaporisation ou l'atomisation de l'échantillon. Cette étape sert aussi à fournir l'énergie nécessaire pour obtenir des ions ou des atomes neutres dissociés à partir de la surface de l'échantillon analysé. En d'autres mots, il faut détruire les structures moléculaires et exciter les atomes à l'aide d'un laser (souvent un laser Nd :YAG de 1064 nm) pour obtenir un plasma qui émettra des photons ayant des niveaux d'énergie caractéristiques de leur atome respectif. La troisième étape consiste à détecter cette lumière émise en la séparant par longueur d'onde à partir de divers types de spectrographes et en comptant le nombre de photons de chaque niveau d'énergie à l'aide de caméras ou de détecteurs luminescents. Finalement, il faut produire des courbes de calibration pour estimer les concentrations des éléments à partir d'un modèle.

2.5. Comparaison des limites de détection des appareils

Les limites de détection de chacun des appareils de choix ont été trouvées dans la littérature pour les éléments d'intérêt pour ce projet afin de comparer avec les valeurs typiques dans les comprimés multivitaminés : le Tableau 2.2 contient les résultats pour LIBS et le Tableau 2.3 contient les résultats pour XRF.

Tableau 2.2 : Comparaison des limites de détection de l'appareil LIBS avec le contenu typique des multivitamines

Élément	LOD (ppm)	Référence	Concentration typique (ppm)
Mg	8	[Kim <i>et al.</i> , 2012]	> 23 000
K	7	[Kim <i>et al.</i> , 2012]	> 40 000
Ca	2	[Kim <i>et al.</i> , 2012]	> 230 000
V	29	[Dell'Aglio <i>et al.</i> , 2011]	> 5
Cr	17	[Dell'Aglio <i>et al.</i> , 2011]	> 20
Mn	210	[Davies <i>et al.</i> , 1995]	> 1000
Fe	475	[Jantzi et Almirall, 2011]	> 4000
Cu	61	[Dell'Aglio <i>et al.</i> , 2011]	> 200
Zn	55	[Dell'Aglio <i>et al.</i> , 2011]	> 7000
Mo	200	[Davies <i>et al.</i> , 1995]	> 20

Tableau 2.3 : Comparaison des limites de détection de l'appareil XRF avec le contenu typique des multivitamines

Élément	LOD (ppm)	Référence	Concentration typique (ppm)
Mg	0,03	[Hettipathirana <i>et al.</i> , 2004]	> 23 000
K	0,0042	[Hettipathirana <i>et al.</i> , 2004]	> 40 000
Ca	0,0071	[Hettipathirana <i>et al.</i> , 2004]	> 230 000
V	21	[Duchesne et Bologne, 2011]	> 5
Cr	2,6	[Hettipathirana <i>et al.</i> , 2004]	> 20
Mn	0,0007	[Hettipathirana <i>et al.</i> , 2004]	> 1000
Fe	0,0028	[Hettipathirana <i>et al.</i> , 2004]	> 4000
Cu	5	[Sokaras <i>et al.</i> , 2009]	> 200
Zn	5	[Sokaras <i>et al.</i> , 2009]	> 7000
Mo	Aucune source	Aucune source	> 20

Ces données sont tirées d'articles œuvrant dans divers milieux de recherche tels que l'analyse de sols, d'impuretés dans du béton, de comprimés pharmaceutiques et autre. Les données de l'industrie pharmaceutique ont été priorisées pour le contenu de ce tableau. Lorsque plusieurs limites de détection étaient disponibles pour le même élément, la valeur la plus faible était utilisée.

En somme, le vanadium semble être un élément difficilement détectable par les technologies ciblées aux concentrations typiques. Selon ces données, quelques complications seront anticipées

pour l'analyse du V et Mo pour la technologie LIBS alors que pour XRF ce sera seulement une complication pour le V puisque les concentrations typiques sont inférieures à la LOD. Il manque toutefois certaines informations pour compléter le tableau, donc selon ces données, les deux technologies semblent avoir le potentiel d'effectuer la majorité des analyses désirées.

2.6. Description des composantes d'un appareil XRF

Dans le but de mieux comprendre le fonctionnement d'un appareil XRF, le fonctionnement des composantes principales sera expliqué. Ces composantes sont principalement le type de spectrographe à utiliser ainsi que les divers types de détecteurs disponibles.

2.6.1. Les spectrographes

Il existe deux principaux types de mécanismes pour analyser le contenu du faisceau de photons X d'intérêt : EDXRF (*Energy Dispersive XRF*) et WDXRF (*Wavelength Dispersive XRF*). Chacune des technologies possède des caractéristiques particulières qui lui confèrent des avantages et des inconvénients spécifiques.

Par dispersion de longueurs d'onde (WDXRF)

Le type d'analyse par dispersion des longueurs d'onde fonctionne tel que son nom l'explique : en séparant le faisceau lumineux en fonction de sa longueur d'onde par diffraction de Bragg sur un cristal bien connu. La diffraction suit la loi décrite dans l'Équation 2.1 ([ASDL, 2012]) où d est la largeur de la fente de diffraction, θ est l'angle de sortie du photon, n est l'ordre de diffraction et λ est la longueur d'onde du photon incident.

$$2d * \sin\theta = n\lambda \quad \text{(Équation 2.1)}$$

Le choix du cristal de diffraction déterminera la distance interplanaire des couches cristallines qui causeront la diffraction, ce qui correspond à d [Gutierrez, 2009]. L'angle de sortie est la variable mesurée qui est déterminée par analyse XRF alors que la longueur d'onde incidente est ce qui sera calculé par cette formule. L'ordre de diffraction varie en fonction du pic analysé et il prend strictement des valeurs discrètes. En règle générale, la distance entre les plans atomiques devrait être de l'ordre de grandeur de la longueur d'onde à analyser pour éviter que les photons

de différents plans atomiques ne soient déphasés destructivement [ASDL, 2012; Gutierrez, 2009].

Un appareil XRF fonctionnant par dispersion de longueurs d'onde est muni de plusieurs cristaux pouvant être interchangeables pour analyser diverses plages de longueurs d'onde. De plus, l'angle du cristal peut varier permettant ainsi de changer l'angle d'incidence des rayons X. Ceci permet de faire un balayage complet d'une plage de longueurs d'onde d'intérêt.

Le principal avantage de cette technologie est qu'en séparant toutes les longueurs d'onde, le détecteur ne peut pas être saturé par les éléments majeurs lors de l'analyse d'éléments présents en concentrations traces. Le détecteur analyse une seule longueur d'onde à la fois ce qui augmente le niveau de résolution (5 eV pour WDXRF vs. >140 eV pour EDXRF [Goldstein *et al.*, 1992]). Par contre, ceci consiste aussi en un désavantage, car les pièces mobiles nécessitant une précision élevée augmentent le coût de l'appareil. Aussi, c'est généralement plus long à faire l'acquisition des spectres puisqu'un balayage doit être effectué en changeant les cristaux un à un [Gutierrez, 2009].

Par dispersion de niveaux d'énergie (EDXRF)

Ceci est une technologie qui permet d'analyser l'entière du faisceau fluorescent simultanément. Le détecteur doit être en mesure de convertir chaque photon incident en charge électrique proportionnelle au niveau d'énergie du photon [Gutierrez, 2009]. Dans ce type de technologie, il n'y a pas de séparation des longueurs d'onde, donc ce n'est pas un spectrographe qui fait la séparation, mais plutôt le détecteur qui permet de classer les photons en ordre de niveau d'énergie.

2.6.2. Les détecteurs de photons X

Les photons en aval du spectrographe doivent être analysés soit par un simple décompte ou par la détermination de leur niveau d'énergie. Les divers détecteurs présentés dans cette section ont leurs applications spécifiques selon leurs propriétés.

Compteur proportionnel à gaz

Le compteur proportionnel à gaz fonctionne en faisant traverser les photons à analyser à travers une enceinte fermée. L'enceinte comporte deux bornes où une différence de potentiel est appliquée : l'anode et la cathode. L'enceinte est remplie d'un gaz (généralement 10 % méthane et 90 % argon). Lorsque le rayon X traverse l'enceinte, son énergie est graduellement absorbée par le gaz en ionisant celui-ci. Les ions positifs vont aller se coupler avec la borne négative et les électrons libérés avec la borne positive. Ceci fera varier la différence de potentiel aux deux bornes. De plus, puisque le nombre d'ions qui seront produits est directement proportionnel à l'énergie du photon incident, il est possible de déterminer la longueur d'onde en fonction du signal électrique généré.

Ce type de détecteur est généralement utilisé pour des longueurs d'onde élevées puisque son rendement est optimal à ces niveaux d'énergie [Goldstein *et al.*, 1992]. Il permet de mesurer les raies K des éléments entre le béryllium et le nickel ainsi que les raies L entre le barium et l'hafnium [Gutierrez, 2009].

Détecteur à scintillation

D'autre part, lorsque les rayons X ont un niveau d'énergie élevé, le détecteur de choix est le scintillateur [Zeev, 1998]. Celui-ci fonctionne par l'excitation du cristal fluorescent. Lorsque les photons incidents frappent le cristal, des rayons de fluorescence sont générés, donc l'intensité lumineuse est proportionnelle au niveau d'énergie des rayons X. Les photons fluorescents sont acheminés à un photomultiplicateur pour ensuite en faire un décompte. Cet appareil permet donc de détecter efficacement les raies K du nickel au barium et les raies L du hafnium à l'uranium.

Dans la technologie WDXRF, le compteur proportionnel à gaz et le scintillateur sont souvent utilisés en alternance pour permettre l'analyse d'une plus vaste gamme de raies élémentaires.

Détecteur à dérive au silicium

Le troisième type de détecteur est celui qui est préférentiellement utilisé dans les appareils EDXRF. L'avantage de ce type de détecteur de rayons X est son potentiel d'analyser avec précision le niveau d'énergie des photons [Gutierrez, 2009]. De plus, plus l'appareil de mesure est à basse température, plus la précision de la mesure est élevée. C'est pourquoi il est nécessaire de

refroidir l'appareil par effet Peltier qui est un phénomène électrique de transport d'énergie thermique [Goldstein *et al.*, 1992]. En somme, le décompte fonctionne de manière semblable à un compteur proportionnel à gaz soit en transformant les rayons X en impulsions électriques qui sont comptés et mesurées pour corrélérer cette intensité d'impulsion au niveau d'énergie du photon initial [Gutierrez, 2009]. Par contre, la méthode de conversion utilise une jonction P-i-N où le dopant P est généralement du B (bore) et le dopant N est souvent du Lithium. Les rayons X arrivent directement sur la région i de la jonction ce qui génère un courant électrique proportionnel à l'énergie du photon.

2.7. Description des composantes d'un appareil LIBS

Une analyse plus étoffée des composantes et des applications LIBS est décrite dans l'annexe, contenant le rapport final d'un projet de spécialité englobant une revue de littérature sur LIBS ainsi qu'un volet expérimental introductoire pour l'instrument en question.

2.7.1. Les spectrographes

Suite à l'émission de photons par le plasma induit par laser, ceux-ci doivent être séparés en fonction des différentes longueurs d'onde présentes pour pouvoir en analyser le contenu avec précision. Plusieurs technologies existantes permettent de faire cette séparation avant l'étape de la détection. Cette partie du rapport fera un survol de ces technologies, leur fonctionnement et leurs applications.

Monochromateur

Le monochromateur est probablement la technologie la plus simple pour séparer les différentes longueurs d'onde d'un faisceau lumineux. Toutefois, tel que son nom l'indique, seulement une faible étendue de longueurs d'onde est analysée à la fois. Normalement, cette étendue est adaptée en fonction de la largeur du pic d'intérêt à analyser. En ajoutant des pièces mobiles, il est possible de balayer une région de longueurs d'onde d'intérêt. Le monochromateur le plus commun est le type Czerny-Turner [LOT, 2012].

L'appareil de la Figure 2.3 fonctionne comme suit : un faisceau lumineux (A) est passé dans une fente (B) d'une largeur spécifique pour le miroir collimateur (C) pour orienter les photons.

Ensuite, un réseau (D) est utilisé pour faire la séparation des photons. Ceux-ci sont alors acheminés à un miroir concentrateur (E) où les longueurs d'onde semblables seront concentrées et la longueur d'onde à analyser sera centrée. Celle-ci sera la seule à pouvoir passer dans la seconde fente (F). La largeur de cette fente détermine l'étendue de longueurs d'onde à la sortie.

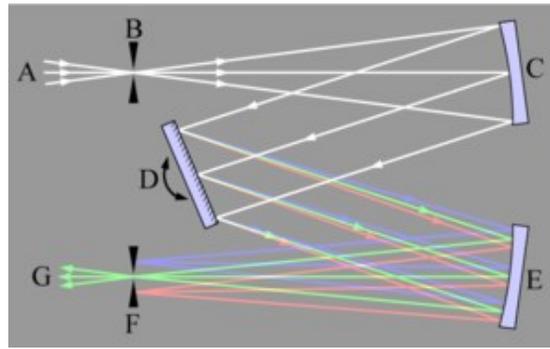


Figure 2.3 : Schéma d'un monochromateur Czerny-Turner [B&WTEK, 2015]

En modifiant l'angle des composantes, il est possible d'étudier différentes longueurs d'onde [Mohsenin, 1984]. Dans le cas de la technologie LIBS, ceci n'est pas très favorable puisque les tests ne sont pas reproductibles et la durée de vie du plasma est très restreinte, donc il n'y aurait pas suffisamment de temps pour prendre plusieurs mesures en changeant la configuration des composantes optiques pendant la durée de vie d'un même plasma induit par laser. Cette technologie serait donc principalement applicable dans le cas où un seul élément doit être suivi.

C'est en effet possible d'utiliser cette technologie pour analyser de plus grandes plages de longueurs d'onde, mais la résolution n'est pas aussi bonne que pour d'autres technologies telles le spectrographe échelle [Unnikrishnan *et al.*, 2010]. Il existe aussi l'option d'utiliser plusieurs spectrographes de ce type simultanément pour analyser diverse plages de longueurs d'onde. Le principal avantage de cette technologie est le faible coût. De plus, le produit est beaucoup plus compact et léger qu'un spectrographe échelle, par exemple [Mohsenin, 1984].

Spectrographe Échelle

Le spectrographe échelle est communément utilisé pour les applications LIBS puisqu'il offre une meilleure résolution sur une plus grande plage d'ondes électromagnétiques, soit environ 0,05 nm de résolution [Unnikrishnan *et al.*, 2010] entre 190 et 800 nm où se trouve la majorité des

principaux pics d'émission atomiques [Miziolek *et al.*, 2006]. La Figure 2.4 montre un schéma de son fonctionnement.

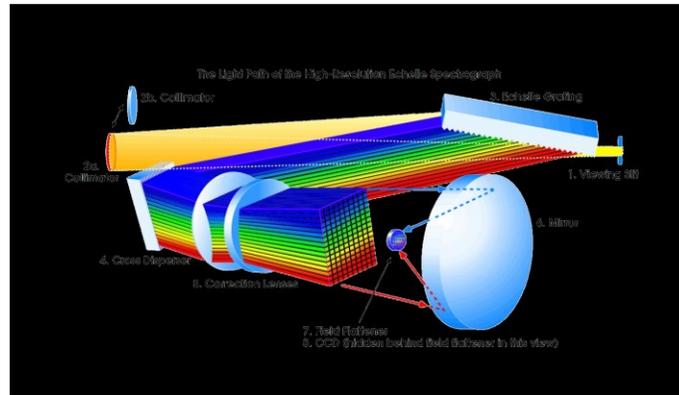


Figure 2.4 : Fonctionnement d'un spectrographe échelle [Vogt, 2012]

En passant par deux réseaux orthogonaux, la lumière est dispersée en deux dimensions, contrairement à l'utilisation d'une seule composante de diffraction. Dans la Figure 2.4, le premier réseau (3) fait une première séparation du faisceau en fonction du niveau d'énergie des photons. Ensuite, une deuxième composante de diffraction, soit un prisme ou un réseau (4), sert à disperser le faisceau sur un axe orthogonal au premier afin d'obtenir une séparation par longueur d'onde sur un plan plutôt que strictement linéaire. Généralement, ce sont les ordres de diffraction supérieurs qui sont utilisés avec cet appareil contrairement aux systèmes à fentes.

L'utilisation de cette technologie peut significativement améliorer les limites de détection d'un appareil LIBS et ceci en augmentant la résolution de l'appareil spectroscopique [Bauer *et al.*, 1998].

Pour choisir quelle technologie est la plus applicable à un certain besoin, il suffit de regarder quelques critères : la complexité de l'échantillon à analyser, le nombre d'éléments à suivre, la position des lignes d'émission des éléments à suivre et leur intensité relative et le besoin d'analyser plusieurs éléments simultanément ou séquentiellement [Miziolek *et al.*, 2006].

Dans le cas de l'analyse de comprimés multivitaminés, le spectrographe échelle serait la meilleure option puisque plusieurs éléments doivent être quantifiés de façon simultanée et puisqu'il y a plusieurs éléments dans la composition du comprimé, il y aura plusieurs pics d'émission rapprochés.

2.7.2. Les détecteurs

La dernière composante majeure d'un équipement LIBS est le compteur de photons ou aussi appelé, le détecteur. Il existe divers types de détecteurs pour différentes applications. En général, un détecteur sera adapté à un type de spectrographe [Miziolek *et al.*, 2006].

Les détecteurs univariés

Premièrement, il existe des détecteurs généraux qui font simplement le décompte des photons qui arrivent sur la surface du pixel. Ce sont les détecteurs les plus simples sur le marché et parmi ceux-ci les PMT (photo multiplier tubes) et les PD (photodiodes) s'y retrouvent. Il a été démontré que couplés avec un spectrographe adéquat tels les monochromateurs Czerny-Turner ou les filtres optiques acoustiques modulables [Miziolek *et al.*, 2006], ces technologies peuvent détecter efficacement la plupart des éléments dans des concentrations variant de six ordres de grandeur, soit de 100 % à 0,001 % [Sweedler *et al.*, 1989]. Par contre, le désavantage est que ceux-ci font un décompte ponctuel plutôt que sur un continuum. Il y a donc la possibilité de mettre plusieurs fentes dans un spectrographe Czerny-Turner aux endroits d'intérêt, couplé avec un détecteur PMT ou PD à chaque extrémité. Il y a toutefois des limites quant au nombre de pics qui peuvent être suivis avec cette méthode, c'est pourquoi ces détecteurs ne sont pas recommandés pour des analyses multiélémentaires rapides. Le fonctionnement d'un PMT est résumé dans la Figure 2.5.

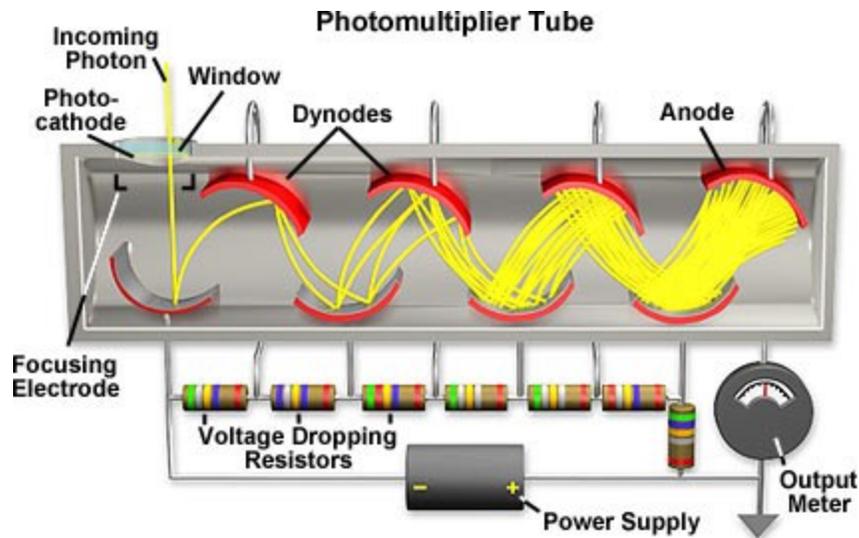


Figure 2.5 : Schéma d'un PMT [Davidson, 2004]

Dans la Figure 2.5, le photon entre par la plaque de quartz et entre en collision avec une photocathode d'une épaisseur parfaitement optimisée : si elle est trop mince, la plupart des photons ne seront pas absorbés et si elle est trop épaisse, les électrons éjectés ne pourront pas se rendre à la première dynode avant la prochaine collision [Davidson, 2004]. L'électron est éjecté par l'effet photoélectrique et il est acheminé à la dynode (miroirs courbés) qui est chargée positivement. D'une dynode à l'autre, la charge positive augmente de plus en plus, donc les électrons voyagent d'une plaque à l'autre en se multipliant par le principe d'émission secondaire. Celui-ci consiste à éjecter un second électron suite à la collision du premier électron accéléré par le champ électrique de la dynode. Enfin, le voltage peut être mesuré et il est proportionnel à la quantité de photons incidents.

Similairement, la photodiode fonctionne de la même façon que le PMT, mais sans le phénomène d'amplification du signal. C'est-à-dire qu'une différence de potentiel est générée par l'effet photoélectrique pour compter le nombre de photons incidents.

Les détecteurs multivariés

Ensuite, lorsqu'un continuum de lumière doit être analysé, il existe plusieurs technologies disponibles pour obtenir plusieurs pixels d'information simultanément. D'abord, la méthode la plus simple consiste à juxtaposer des photodiodes de façon linéaire pour obtenir un PDA (*photodiode array*). La résolution de cette technologie est proportionnelle à son nombre de pixels

(nombre de photodiodes) et donc à sa longueur. Il existe des détecteurs encore plus évolués soit les CCD (*Charge coupled device*) et les CID (*Charge injection device*). Cette famille de détecteurs fonctionne en accumulant la charge pendant un temps défini pour ensuite faire la lecture. D'autre part, les PMT et les PD donnent une lecture en continu. Pour une application LIBS, la lecture continue n'est pas nécessaire si l'échantillon est assez bien connu ce qui permet d'optimiser le *Gate delay* qui correspond au temps attendu avant le début de l'acquisition du détecteur. Voici un schéma faisant une analogie avec un CCD :

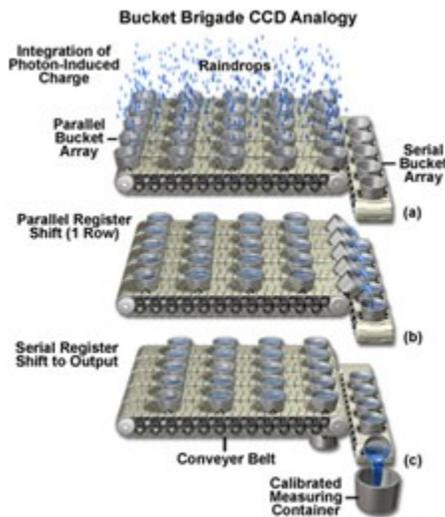


Figure 2.6 : Analogie entre un CCD et de l'eau de pluie transférée dans des seaux [Davidson, 2004; Hazelwood, 2012]

Dans la Figure 2.6, l'eau de pluie correspond aux photons. Tel le fonctionnement des photodiodes, une charge s'accumule sur chaque condensateur. La lecture de la charge accumulée se fait alors une cuve à la fois expliquant pourquoi le CCD ne peut pas donner de lecture en continu. Par contre, il faut noter que le temps d'intégration est dans l'ordre des microsecondes [Miziolek *et al.*, 2006]. Les charges peuvent être transférées d'une rangée à l'autre en appliquant des charges négatives sur des pièces adjacentes éloignant ainsi les électrons accumulés permettant de mesurer la charge que chaque condensateur portait au moment de la lecture. Les CCD sont les détecteurs les plus fréquemment utilisés en spectroscopie à ce jour [Florek *et al.*, 2001].

Pour faire un lien avec la section précédente, le spectromètre échelle est une technique qui profite du caractère à deux dimensions des CCD (*charge coupled device*), car elle génère un plan lumineux séparé par deux réseaux orthogonaux. Cela permet d'obtenir des résolutions équivalentes à des photodiodes (PDA) de grandes envergures. Ceci a été observé par des expériences qui ont comparé la résolution de ces deux types de détecteurs. Le spectromètre échelle offrait une résolution environ 20 fois plus élevée que celui de type Czerny-Turner [Unnikrishnan *et al.*, 2010].

Enfin, les CID fonctionnent de façon similaire aux CCD, mais la lecture du voltage peut se faire directement sur chacun des pixels, ce qui rend cette technologie non-destructive quant aux charges sur chacun des pixels. Cette propriété lui permet d'éviter certains problèmes optiques tels que l'efflorescence (*blooming*), qui consiste à un transfert de la charge d'un pixel saturé électriquement à son pixel voisin [Bhaskaran *et al.*, 2008]. Ceci diminue la qualité de l'image et dans le cas de LIBS, cela pourrait nuire aux résultats si le détecteur est surchargé ou s'il y a trop d'écart entre les émissions des pics à suivre.

Un autre avantage du détecteur CID est sa sensibilité accrue dans la plage des rayons UV [Bhaskaran *et al.*, 2008]. La majorité des éléments émettent leurs principaux pics dans les longueurs d'ondes des faibles UV et plus, donc cette caractéristique pourrait s'avérer utile puisque sous 300 nm, l'efficacité quantique des CCD diminue considérablement [Spring, 2012].

2.8. Applications pertinentes de la technologie XRF

D'abord, des études pertinentes au projet de recherche utilisant la technologie XRF ont été recensées. Ce fut démontré qu'il est possible de quantifier les éléments dans du lait en poudre (enrichi en minéraux) [Perring et Blanc, 2008]. Plusieurs éléments tels que le Na, Mg, P, Cl, K, Ca, Fe, Cu et Zn ont été quantifiés par XRF et comparés avec les résultats par ICP-AES. Ces résultats confirment qu'il est possible d'obtenir des bonnes courbes de calibration pour chacun de ces éléments dans les plages de concentrations du Tableau 2.4.

Tableau 2.4 : Plages de concentrations de calibration pour divers éléments

Élément	Limite inférieure	Limite supérieure
Mg	420 ppm	1205 ppm
P	1840 ppm	9440 ppm
Cl	0,3 %	1,1 %
K	0,49 %	1,58 %
Ca	0,32 %	2%
Fe	6,8 ppm	154 ppm
Cu	0,4 ppm	6,3 ppm
Zn	31,7 ppm	148 ppm

Ceci signifie qu'il y a un potentiel pour remplacer la technologie ICP-AES par XRF pour minimiser le temps requis pour faire les tests. De plus, les trois derniers éléments étaient présents en concentrations traces alors que les autres étaient présents à des concentrations plus élevées. D'autre part, même si le Mn a pu être détecté dans les mélanges, les concentrations (inconnues par les chercheurs) étaient probablement trop faibles pour permettre la quantification.

Ensuite, la technologie XRF est considérée comme étant une technologie d'analyse de surface, mais en réalité c'est un volume de très faible épaisseur qui est analysé, car les rayons X ont un certain pouvoir pénétrant. L'épaisseur de cette couche peut varier énormément soit entre 10 et 1000 μm dépendant de la densité de l'échantillon, la somme des coefficients d'atténuation de masse (disponible dans des tables NIST [Hubbell et Seltzer, 1996]) et l'angle incident du rayon [Markowicz, 2011]. Considérant que les poudres pharmaceutiques peuvent avoir des tailles de particules jusqu'à 200 μm , cette profondeur d'analyse est primordiale pour bien analyser les résultats puisqu'il est important d'éviter l'hétérogénéité locale du volume analysé. Avec des plus grandes particules, c'est plus difficile d'avoir un échantillon homogène considérant que le volume testé est très faible. Il faut aussi considérer que dans la couche d'analyse de 10 à 1000 μm , environ 90 % des rayons sont absorbés par la première moitié de cette couche, donc les éléments se trouvant dans la deuxième moitié ne figureront pas dans les spectres avec une intensité aussi élevée.

Il existe d'autres sources d'erreur dans les analyses XRF soit les irrégularités de surface et le taux d'humidité [Markowicz, 2011]. Les irrégularités de surface vont causer de la dispersion des rayons incidents ce qui diminuera le ratio signal/bruit de mesure. Cela signifie que pour optimiser les résultats, il faut optimiser la qualité de la surface : soit en compression de particules

de petite taille ou en fusion de borate de lithium. En ce qui concerne l'humidité dans les échantillons, cette influence peut être facilement éliminée dans le cas d'échantillons pharmaceutiques par séchage. De plus, le problème est principalement important à fortes concentrations d'eau tel que dans des sols saturés [Markowicz, 2011] ce qui n'est pas le cas avec des poudres pharmaceutiques qui ont généralement moins de 5 % d'humidité.

En ce qui concerne la préparation des échantillons, il y a aussi différentes méthodes de préparation qui peuvent améliorer les résultats des lectures XRF, surtout lorsque les échantillons sont non-homogènes [Hettipathirana, 2004]. Dans le cas des mélanges granulaires, il y a toujours un risque de ségrégation des poudres, donc une technique telle la fusion de borate de lithium devient plutôt intéressante. Celle-ci consiste à chauffer l'échantillon à une température d'environ 900 degrés Celsius avec une matrice qui solubilise l'échantillon et se solidifie à nouveau à plus basse température assurant ainsi un échantillon plus homogène. La méthode spécifique est décrite par Hettipathirana *et al.* [Hettipathirana *et al.*, 2004]. D'autre part, il a été démontré que des échantillons granulaires pressés peuvent donner des lectures efficaces si la taille de particule maximale est de 75 μm [Saini *et al.*, 2000].

Aussi, le problème de dispersion des rayons X lors de l'utilisation de sources de rayons X non-polarisées (tel est le cas pour la plupart des appareils XRF sur le marché à ce jour) a été étudié [Hettipathirana, 2004]. Évidemment, la dispersion des rayons diminue le signal et augmente le niveau de bruit, contraignant ainsi les limites de détection. Les rayons polarisés peuvent être obtenus via le phénomène de dispersion Barkla et Bragg [Heckel et Schramm, 1997]. Les limites de détection peuvent être améliorées avec l'utilisation de rayons polarisés [Ryon, 2003], mais il faut considérer la diminution d'efficacité due aux multiples dispersions pour obtenir ce type de faisceau [Dzubey *et al.*, 1974].

D'autre part, un appareil XRF a le potentiel d'être fortement reproductible sur 15 lectures consécutives de la même face d'un même échantillon. Dans une étude précise, les écarts types standards variaient de près de 0,1 % en général [Perring *et al.*, 2005]. Cela pourrait sembler totalement non-destructif, mais puisque les rayons X ont une forte énergie, il serait possible que les structures moléculaires soient endommagées sans que la composition atomique ne varie. Ceci n'affecterait pas l'analyse élémentaire, mais le produit final serait altéré. Ces observations

éliminent aussi l'option de sublimation ou d'évaporation de matière. C'est alors difficile d'affirmer que c'est un processus non destructif à partir de ces résultats.

2.9. Applications pertinentes de la technologie LIBS

La technologie LIBS a connu un développement très important dans les 50 dernières années, soit depuis l'invention du laser. Radziemski explique dans sa revue de littérature que lors de la conférence LIBS2000, il y avait environ 20 articles [Radziemski, 2002] qui ont été présentés alors que lors du LIBS2010, 10 ans plus tard, près de 150 articles ont été présentés [ICET, 2010]. Ceci signifie que la technologie est en plein essor et ses applications se multiplient de plus en plus.

Avec la technologie LIBS, l'énergie fournie par le laser permet, dans la plupart des cas, la décomposition de l'échantillon en atomes simples. C'est pourquoi c'est généralement une analyse élémentaire qui est obtenue par les spectres. Toutefois, il existe des cas où des structures moléculaires telles que les liens C-N ou C-C [Baudalet *et al.*, 2006] peuvent être identifiées par les spectres [Myakalwar *et al.*, 2011]. Par contre, il est déconseillé d'utiliser cette technologie à cette fin [St-Onge *et al.*, 2002] puisque beaucoup des liens atomiques sont brisés par le laser à haute énergie.

Aussi, quelques travaux ont été effectués dans le domaine pharmaceutique. Une première étude de De Carvalho *et al.* (2010) a démontré que LIBS donne des résultats s'écartant de seulement 2 à 16 % par rapport aux résultats ICP-AES [Arantes De Carvalho *et al.*, 2010]. Ces tests ont été effectués sur des comprimés pharmaceutiques de multivitamines pour la détermination de Ca, Cu, Fe, Mg, P et Zn. Le *United States Pharmacopeia* recommande d'utiliser un minimum de 20 comprimés broyés comme échantillonnage afin de bien uniformiser le tout [USP, 2012]. Cette recommandation a été respectée par Carvalho puisque sinon, des coefficients de variation de plus de 30 % entre les mesures d'un même échantillon étaient observés. Il faut considérer que la technologie LIBS vaporise seulement quelques microgrammes de matière au maximum, donc l'homogénéité est primordiale. Aussi, l'auteur a utilisé la recommandation de Miziolek *et al.* qui consiste à favoriser un plus grand échantillonnage de surface plutôt que de favoriser l'analyse en profondeur [Miziolek *et al.*, 2006] pour améliorer la qualité de ses résultats. Gilon propose aussi une méthode de quantification par référence interne qui consiste en une méthode de

standardisation de la hauteur des pics en fonction d'un pic constant dans chacun des échantillons [Gilon *et al.*, 2011]. Cette méthode permet d'améliorer les résultats en éliminant les biais dus à l'acquisition.

Une problématique associée à LIBS qui a été étudiée par Windom et Hahn (2009) consiste à l'effet de matrice et les problèmes d'absorption du laser par le gaz entre celui-ci et l'échantillon. Le laser utilisé était un Nd :YAG de 1064 nm et les échantillons étaient des alliages de divers éléments : Al, Mn, Mg, Fe et Cu. Il existe différentes technologies soit par impulsion simple, par impulsion double ou par ablation laser. Les deux premières méthodes permettent une lecture directe sur l'échantillon. L'avantage d'une double impulsion est de remédier à la perte d'énergie dans le gaz. La première impulsion sert à échantillonner et la seconde sert à réexciter les atomes vaporisés pour procéder à la lecture. D'autre part, la méthode par ablation utilise un premier laser pour échantillonner et ensuite, les atomes sont transportés à une autre chambre par un gaz porteur inerte pour finalement utiliser un second laser pour exciter l'échantillon. Ceci permet de limiter au maximum les effets de matrice causés par des interactions entre les éléments ionisés et les photons d'émission atomique ce qui peut s'avérer très intéressant dans des cas de matrices complexes [Windom et Hahn, 2009].

En ce qui concerne les problématiques, Hubert et Ankerhold [Hübert et Ankerhold, 2011] ont travaillé sur les interprétations erronées d'analyses LIBS sans calibration. Leur conclusion principale était que l'effet de Stark joue un rôle important dans l'interprétation des résultats. Cet effet consiste en des translations des pics ainsi qu'un changement drastique de forme du spectre lorsque les atomes excités sont soumis à un champ électrique statique. Sur un échantillon d'aluminium, une variation de *gate delay* (temps attendu avant d'initier la lecture du détecteur) de 1600 ns engendrait une translation de 0.2 nm. En analyse multivariée, ceci influence les capacités à obtenir des bonnes prédictions. Ce qui est recommandé pour limiter les effets de ce phénomène est une optimisation de certains paramètres d'acquisition (*gate delay* et *gate width* : la durée d'acquisition du détecteur) pour s'assurer de pouvoir bien mesurer les éléments traces. D'autre part, l'effet de translation peut être surmonté en utilisant des standards internes comme référence, par contre, l'élargissement des pics est plus difficilement remédiable puisque ceci pourrait occasionner des interférences entre les pics de certains éléments.

Dans une étude comparative entre XRF et LIBS, des échantillons de vanadium à 1,3-4,5 % dans des matrices de silice ont été analysés. La limite de détection a été déterminée à 0,13 %. Selon le procédé de production des échantillons, des résultats complètement différents ont été obtenus selon XRF et LIBS. Lorsque les échantillons de V-HMS (Vanadium-Hexagonal Mesoporous Silica) étaient produits par la voie décrite par Tanev et Pinnavaia [Tanev et Pinnavaia, 1995] et en ajoutant une solution de vanadyl acétylacétonate et d'éthanol dans l'étape de préparation du gel, les résultats entre les deux technologies étaient quasi-identiques alors que lorsque produits en ajoutant du HMS (Hexagonal Mesoporous Silica) dans une solution de vanadyl acétylacétonate et d'éthanol, les résultats différaient d'un facteur de 2 à 9. Ceci montre que les deux méthodes de production de V-HMS ne produisent pas exactement le même composé et au moins une des deux méthodes est sensible aux propriétés macroscopiques de l'échantillon [Pouzar *et al.*, 2011]. Il est plus probable que la technologie LIBS soit plus sensible à des variations de propriétés comme, par exemple, la conductivité thermique et la chaleur spécifique, car celles-ci influenceront grandement la morphologie du plasma en affectant le transfert thermique dans l'échantillon.

Les effets de matrice, quoique peu explorés, ont été mentionnés dans quelques efforts scientifiques. D'ailleurs, il a été observé que l'intensité des courbes de calibration de Zn varie en fonction de la composition de la matrice dans des échantillons de sols et la pente de ces courbes varie en fonction de la présence de certains éléments spécifiques comme le Si, Al et Fe [Kim *et al.*, 2014]. Toutefois, l'auteur attribue cette observation aux différences de propriétés physico-chimiques sans élaborer les explications. Aussi, une étude portant sur l'analyse d'éléments trace dans des saumures a démontré que le contenu en NaCl influence le SNR pour les éléments Ca et K dans ces échantillons liquides [Goueguel *et al.*, 2014]. L'article explique cette observation par une augmentation de la température du plasma en présence de NaCl. Ceci montre que les effets de matrice LIBS restent encore à explorer afin de les comprendre adéquatement pour permettre la quantification dans des échantillons complexes.

2.10. Analyse de données multivariées

Les types d'appareils proposés pour ce projet permettent de l'acquisition univariée ainsi que multivariée dans les situations où plusieurs longueurs d'onde sont intéressantes. Dans le cas de

l'analyse d'un produit multivitaminé, il est probable que plusieurs pics spectraux seront nécessaires pour prédire la composition du mélange. Dans le cas d'un appareil LIBS qui utilise un spectrographe échelle et un iCCD (intensified-CCD) à haute résolution, quelques dizaines de milliers de longueurs d'onde peuvent être analysées simultanément. Cela crée un système à très haute dimensionnalité qui est difficilement exploitable par des méthodes d'analyse traditionnelles univariées. C'est pourquoi les techniques d'analyse de systèmes à variables multiples sont d'un intérêt particulièrement important pour ce projet de recherche [Gosselin, 2012a]. L'utilisation de ces techniques se résume en quelques étapes: le prétraitement des données, l'analyse des composantes principales, la régression et la validation.

2.10.1. Prétraitement des données

L'information doit souvent subir quelques manipulations mathématiques avant de permettre une interprétation adéquate. Soit la matrice $X(n \text{ lignes} \times k \text{ colonnes})$ d'observations et variables, voici quelques manipulations typiques qui seront couramment utilisées dans le cadre de ce projet:

- Centrage (sur chaque colonne k): La moyenne de chaque variable est soustraite de chaque donnée pour éliminer l'effet de l'intensité de la valeur sur l'analyse et conserver seulement la variabilité par rapport à la moyenne;
- Lissage : Il existe divers types de lissages qui permettent de limiter l'influence du bruit de fond sur le spectre traité. Une technique commune est le lissage Savitzky-Golay qui passe un polynôme d'un ordre variable parmi un nombre de points variable pour ensuite utiliser ce polynôme pour estimer la valeur du point central du bloc;
- Normalisation : Il existe diverses méthodes de normalisation. Par exemple, une méthode peut consister à utiliser un pic qui est supposé demeurer constant comme référence interne pour normaliser l'intensité des autres pics d'intérêt. Cette technique permet d'enlever l'effet de certains facteurs extérieurs qui pourraient influencer l'intensité générale perçue d'un échantillon à l'autre;
- Dérivées : Les dérivées de spectres sont utiles pour quelques applications. D'abord, elles permettent d'accentuer l'intensité d'un signal par son changement de pente. Par contre, plus le degré de la dérivée est élevé, plus le bruit de mesure sera intensifié en parallèle.

De plus, cette opération mathématique est utile pour éliminer l'effet de la ligne basale. En d'autres mots, puisque c'est seulement la variation de la pente du spectre qui est analysé, la variation de la ligne de base n'influence plus l'analyse des données;

La Figure 2.7 montre un exemple de spectres NIR non-traités suivis d'un prétraitement par une dérivée première et par une dérivée seconde.

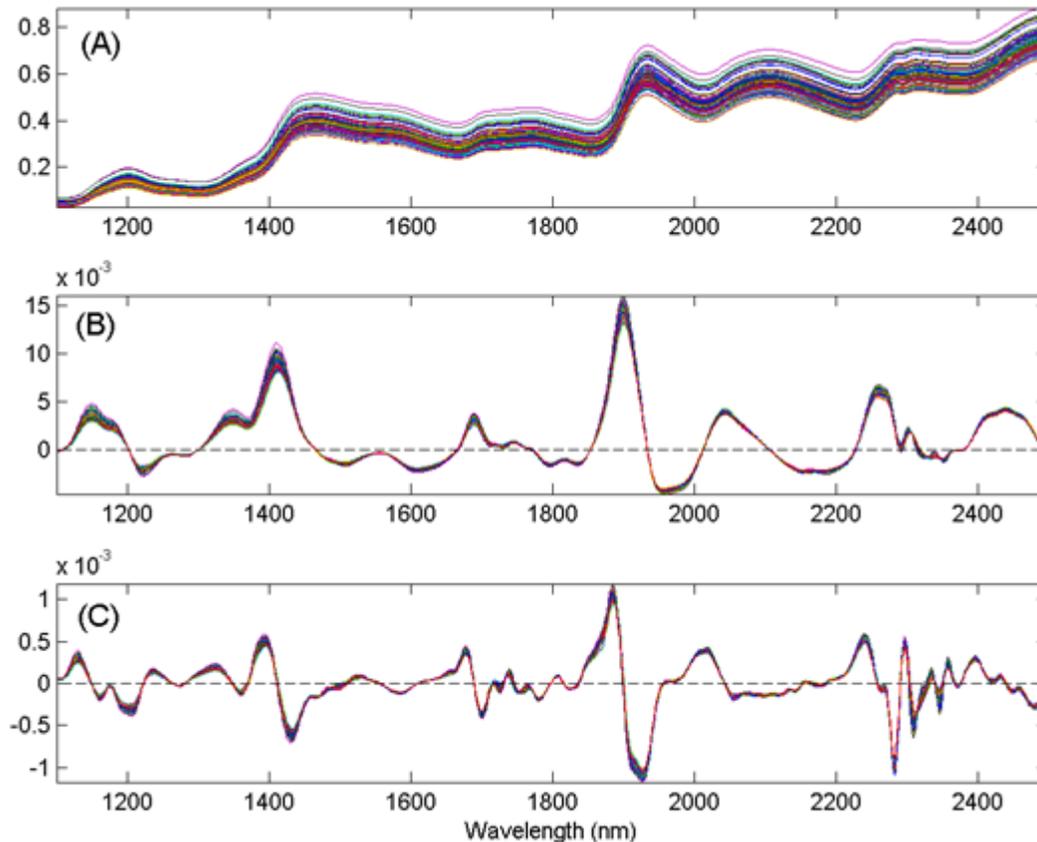


Figure 2.7 : A) Spectres NIR non-traités, B) Spectres ayant subi une dérivée première, C) Spectres ayant subi une dérivée seconde [Eigenvector, 2011]

2.10.2. Analyse par composantes principales (PCA)

Suite au prétraitement des spectres, ceux-ci doivent subir une réduction dimensionnelle pour en retirer le maximum d'information avec un minimum de variables/composantes. De plus, si l'information est analysée par régression multilinéaire avant la projection des données sur un système d'axes orthogonaux, la corrélation entre les variables induira des problèmes importants dans les prédictions. Afin de permettre la résolution des facteurs de régression, il est requis que n

soit supérieur à k (plus d'observations que de variables), ce qui n'est pas toujours le cas. C'est pourquoi la première étape consiste à transformer le système de référence des données : il faut trouver un nouveau système d'axes permettant d'expliquer le plus d'information possible du système avec le moins de composantes possible. Visuellement, la Figure 2.8 est obtenue.

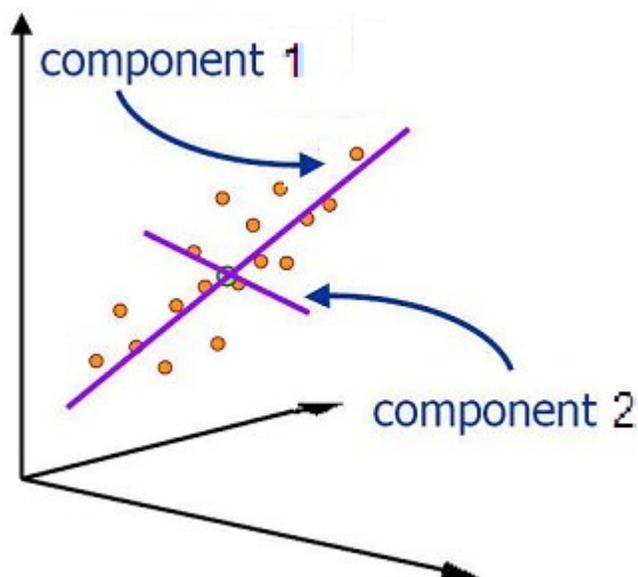


Figure 2.8 : Figure illustrant les deux composantes principales d'un nuage de points en trois dimensions, inspiré de [Gosselin, 2012b]

Dans cet exemple, les trois axes principaux en flèches droites représentent le système de coordonnées original alors que les axes mauves représentent les deux composantes principales. Le premier axe permet d'exprimer la majorité de la variance dans la série de données, le deuxième axe mauve, explique la deuxième plus grande partie de la variance tout en étant orthogonal au premier axe et ainsi de suite jusqu'à ce qu'il y ait autant de composantes principales que d'axes noirs.

Dans le cas de la Figure 2.8, cette méthode a permis d'expliquer la majeure partie de l'information avec seulement deux axes plutôt que les trois qui étaient présents initialement. De plus, ces axes sont toujours orthogonaux, ce qui élimine les corrélations qui sont nuisibles lors de la régression MLR (défini dans la section Techniques de régression).

De plus, les chargements (loadings) correspondent aux vecteurs des composantes principales qui définissent le nouvel espace multivarié. En juxtaposant chaque vecteur-colonne des chargements, la matrice P est obtenue. Les coordonnées de chaque observation dans ce nouveau système sont appelées les scores (matrice T). Enfin, l'Équation 2.2 est obtenue.

$$X = TP^T \quad (\text{Équation 2.2})$$

Si seulement les premiers PC (Principal Components) doivent être utilisés, l'équation peut être écrite comme l'Équation 2.3 où les t sont les vecteurs des scores de chaque observation, les p sont les vecteurs des chargements représentant chacun des PC et E est la matrice résiduelle d'erreur. Si le nombre de PC à utiliser est choisi adéquatement, cette matrice correspond principalement au bruit de fond de mesure.

$$X = t_1p_1^T + t_2p_2^T + \dots + t_np_n^T + E \quad (\text{Équation 2.3})$$

2.10.3. Techniques de régression

Il existe diverses méthodes de régression. Les principales qui seront utilisées sont les algorithmes MLR (Multi-Linear Regression), PCR (Principle Component Regression) et PLS (Partial Least Squares). Il s'agit de méthodes permettant d'établir un lien entre des variables mesurables et des variables d'intérêt. Dans la plupart des cas, les variables d'intérêt sont difficiles à mesurer ou coûteuses, d'où l'intérêt de tenter de les prédire en fonction des mesures d'autres variables plus facilement mesurables. Dans le cadre de ce projet de recherche, les intensités lumineuses à diverses longueurs d'onde seront les variables mesurables et les concentrations en minéraux seront les variables d'intérêt à prédire.

L'Équation 2.4 montre la décomposition d'une équation de régression MLR permettant d'obtenir une prédiction d'une variable d'intérêt en fonction d'une matrice de données où y est la variable prédite et les x sont chacune des variables. Les facteurs bêta peuvent être résolus avec l'Équation 2.5 où X est la matrice des données, Y est la matrice des variables d'intérêt et β est la matrice (ou vecteur) des coefficients de chaque variable.

$$y = \beta_0 + \beta_1 x_1 + \dots + \beta_n x_n \quad (\text{Équation 2.4})$$

$$\beta = \text{inv}(X^T X) X^T Y \quad (\text{Équation 2.5})$$

Pour la technique PCR, elle constitue à juxtaposer la méthode d'analyse par composantes principales d'abord, et la méthode MLR en deuxième lieu. L'obtention des facteurs β est possible par l'Équation 2.6.

$$\beta = \text{inv}(T^T T) T^T Y \quad (\text{Équation 2.6})$$

La technique PLS est beaucoup plus complexe à résoudre, car c'est un processus impliquant plusieurs calculs supplémentaires. Toutefois, l'avantage d'utiliser cette méthode est que les Y sont tenus en compte lors de la détermination des scores et chargements. Cela permet généralement d'améliorer les prédictions obtenues par ce modèle en utilisant moins de PC.

2.10.4. Évaluation des performances d'un modèle

Après avoir élaboré un modèle de prédiction sur des séries d'observations de calibration, il est important d'évaluer la qualité du modèle par diverses méthodes. Ces méthodes servent à quantifier la validité d'un modèle.

Erreur de calibration

Premièrement, la méthode la plus simple pour vérifier les performances d'un modèle est le RMSEC (Root Mean Square Error of Calibration). Cette valeur correspond à l'erreur moyenne par rapport au modèle de calibration. Elle est calculée à l'aide de l'Équation 2.7 où n est le nombre d'échantillons, y est la valeur originale et \hat{y} est la valeur prédite par le modèle de calibration. En somme, plus la valeur du RMSEC est faible, plus la calibration est bonne.

$$RMSEC = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^n (\hat{y}_i - y_i)^2}{n}} \quad (\text{Équation 2.7})$$

Cette première méthode est la plus simple, mais il ne suffit pas d'un bon RMSEC pour accepter un modèle, car il possède encore plusieurs sources d'erreur tels que les prétraitements qui peuvent endommager la qualité de l'information voulue. De plus, dans le calcul du RMSEC, une observation est prédite par un modèle qui a été construit à partir de cette donnée. Dans le cas où seulement quelques points de calibration sont utilisés, cette source de biais peut s'accroître d'où l'intérêt de vérifier cette erreur par validation croisée ou par validation externe.

Validation croisée

La deuxième méthode consiste à la validation croisée. Celle-ci consiste à éliminer un lot de points de la calibration et tenter de prédire ces points avec le nouveau modèle de calibration. Ensuite, ces points sont rajoutés et une seconde série de points est enlevée, jusqu'à ce que tous les points soient passés. La formule de calcul pour le RMSECV (Root Mean Square Error of Cross Validation) est la même que celle du RMSEC, mais les modèles changent d'une série de points à l'autre.

Il est important de faire un choix stratégique des points qui sont éliminés à chaque tour afin d'obtenir des résultats représentatifs. La méthode utilisée dépend strictement de l'application, mais voici quelques méthodes fréquemment utilisées :

- Par blocs : Cette technique est utilisée lorsque les observations se regroupent dans des groupes distincts, par exemple, dans le cas où plusieurs répliques sont faites. Un bloc est retiré de la calibration à la fois et l'erreur est calculée pour ce bloc. Ensuite, le deuxième bloc est retiré et ainsi de suite;
- Aléatoire : Il s'agit de retirer un nombre défini d'observation de la calibration de façon complètement aléatoire et déterminer l'erreur de prédiction sur ceux-ci;
- *Leave-one-out* : C'est une technique utile lorsque le nombre d'échantillons est faible (soit environ 10 et moins). Il s'agit d'enlever une observation à la fois et d'estimer l'erreur sur chacune des valeurs.

La formule pour calculer le RMSECV est très similaire au calcul du RMSEC. L'Équation 2.8 montre la formule pour calculer le RMSECV où \hat{y}_{CVi} est la valeur prédite par le modèle en validation croisée.

$$RMSECV = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^n (\hat{y}_{CVi} - y_i)^2}{n}} \quad (\text{Équation 2.8})$$

La valeur d'erreur obtenue par validation croisée donne un meilleur indicateur de la performance du modèle que le RMSEC puisque la méthode permet de prédire des observations complètement inconnues au modèle de calibration. L'indicateur de performance le plus juste est la validation externe, mais la validation croisée permet d'obtenir des mesures de performance même lorsque le nombre d'observation est très restreint et la séparation en deux matrices distinctes (calibration et validation) est impossible.

Validation externe

Enfin, la méthode la plus fiable pour évaluer la qualité d'un modèle est la validation externe. Celle-ci consiste à utiliser des nouvelles observations qui n'ont pas été utilisées pour la calibration pour déterminer l'erreur de prédiction : RMSEP (Root Mean Square Error of Prediction). La formule pour calculer le RMSEP est la même que pour RMSEC, mais les observations sont indépendantes du modèle de calibration.

C'est aussi possible de mesurer l'erreur de prédiction avec le MEP : erreur moyenne de prédiction. Cette mesure consiste simplement à moyennner les erreurs de prédiction tel que son nom décrit. L'avantage d'utiliser cet indicateur de performance plutôt que le RMSEP est le fait qu'il évite la surpondération des grandes erreurs dans l'évaluation de la performance contrairement au RMSEP où \hat{y}_{Pi} est la valeur prédite par le modèle en validation externe.

$$RMSEP = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^n (\hat{y}_{Pi} - y_i)^2}{n}} \quad (\text{Équation 2.9})$$

VIP (Variable Importance in the Projection)

Les VIPs tel que calculés dans l'Équation 2.10, ne sont pas un critère de performance en soi, mais ils peuvent être utilisés indirectement à cette fin. D'abord, ils servent à démontrer quelles variables sont les plus importantes pour la modélisation. Connaissant cette information, il est possible de tenter d'établir des liens de cause à effet pour évaluer la robustesse du modèle.

$$VIP_j = \sqrt{\frac{p}{\sum_{m=1}^M SS(b_m \cdot t_m)} \cdot \sum_{m=1}^M w_{mj}^2 \cdot SS(b_m \cdot t_m)} \quad (\text{Équation 2.10})$$

Où p est le nombre de variables, M est le nombre de variables latentes retenues, w_{mj} est le poids PLS de la variable j pour la variable latente m et $SS(b_m \cdot t_m)$ est le pourcentage de y expliqué par la variable latente m .

CHAPITRE 3 - TRAVAUX PRÉLIMINAIRES

3.1. Introduction de chapitre

Ce chapitre traite des travaux communs qui étaient requis pour l'évaluation du potentiel des technologies étudiées. Ces travaux incluent la méthode de préparation des échantillons, une justification de la méthode de référence choisie et les travaux requis pour la détermination de la taille des particules des matières premières utilisées. Finalement, les résultats obtenus à chacune de ces étapes sont présentés.

3.2. Matériel et méthodes

3.2.1. Préparation des échantillons/formulations et méthode de référence

Les comprimés échantillonnés étaient composés de plus de 35 ingrédients pharmaceutiques à des concentrations typiques de comprimés de multivitamines commerciales. Parmi ces 35 ingrédients 10 éléments sont d'un intérêt particulier pour le suivi de contrôle de qualité. À des fins de confidentialité, seulement les plages de concentration sont présentées pour chacun des éléments dans le Tableau 3.1.

Tableau 3.1: Concentrations qualitatives pour des comprimés de multivitamines (majeur : > 1 %, mineurs : 1 % > concentration > 0,1 % et traces : < 0,1 %)

Éléments	Plage de concentration
Ca	Majeur
K	Majeur
Mg	Majeur
Zn	Mineur
Fe	Mineur
Mn	Mineur
Cu	Trace
Cr	Trace
Mo	Trace
V	Trace

Toutes les données dans les figures sont rapportées en pourcentage par rapport à la concentration nominale dans le produit de référence. De plus, tous les minéraux ont varié à 10 niveaux de 0 à 300 % de la valeur nominale. Les échantillons pour la vérification des modèles ont été préparés

dans le but d'obtenir des concentrations variables des minéraux à 3 niveaux dans la plage de calibration. Deux formulations de production pharmaceutique ont été obtenues pour améliorer et valider les modèles pour XRF. Une seule formulation de production a été obtenue pour les tests LIBS et elle a donc été utilisée pour la validation des modèles.

Les formulations ont été homogénéisées à l'aide d'un mélangeur à bille Retsch pour une minute à 50 % d'amplitude avec une seule bille d'acier inoxydable ainsi qu'un compartiment composé de la même matière. Ensuite, les comprimés ont été pressés avec une presse manuelle à 25 000 psi pour approximativement 45 secondes.

Cette étude a requis du travail avec des composés particuliers divers et sachant que ce type de produit est propice à la ségrégation, surtout lorsque des grandes variabilités existent dans les propriétés physiques des produits tels que la masse volumique et la taille des particules, ce fut nécessaire d'évaluer la concentration des échantillons avec une méthode de référence plutôt que de se fier aux données gravimétriques. La méthode de référence choisie est celle fréquemment utilisée en contrôle de qualité pour des multivitamines, soit l'ICP-MS/AES. Dans cette étude, l'ICP-MS a été choisi puisque cette technologie offre des performances supérieures en général. L'échantillonnage pour ces tests a été effectué suite à la compression des poudres pour éviter des ségrégations supplémentaires par manipulation des échantillons. L'erreur analytique de la méthode de référence a été estimée par l'usage d'un échantillon standard commercial liquide (SLRS-5) avec 2 répétitions par observation. Un standard liquide est utilisé puisqu'il permet d'avoir un échantillon parfaitement homogène contrairement aux échantillons solides. Par contre, cette différence de phase entre les comprimés analysés par LIBS et XRF et le standard risque d'avoir peu d'influence sur les résultats puisque pour l'analyse par ICP-MS, une digestion acide doit être effectuée et le résultat final est un échantillon liquide.

Tableau 3.2: Estimation des plages d'erreurs des analyses de formulations multivitaminées par ICP-MS

Élément	Valeurs certifiées	SLRS-5 valeurs observées	Erreur minimale observée (%)	Erreur maximale observée (%)	Erreur moyenne (%)
Mg	2,54 ± 0,20 ppm	2,39	0	12,8	6,4
K	839 ± 36 ppb	760	5,4	13,1	9,2
Ca	10,5 ± 0,4 ppm	9,9	2,0	9,2	5,6
V	317 ± 33 ppt	304	0	13,1	6,6
Cr	208 ± 23 ppt	199	0	13,9	6,9
Mn	4,33 ± 0,20 ppb	3,81	7,7	15,9	11,8
Fe	91,2 ± 5,8 ppb	90,1	0	7,1	3,6
Cu	17,4 ± 1,3 ppb	16,6	0	11,2	5,6
Zn	845 ± 95 ppt	810	0	13,8	6,9
Mo	270 ± 40 ppt	205	10,9	33,9	22,4
Moyenne			2,9	14,4	8,5

Les plages d'erreurs analytiques sont montrées dans le Tableau 3.2. Puisque la valeur certifiée correspond à une plage (dû à l'erreur), des erreurs minimales et maximales sont calculées. L'erreur moyenne minimale correspond à moins de 2,9 % de la valeur attendue alors que l'erreur maximale est plutôt autour de 14,4 %. Ceci est à considérer dans l'analyse des erreurs de la méthode en développement puisque ces valeurs devront être appliquées pour la calibration des autres méthodes.

Dans la préparation des formulations, une attention particulière a été donnée pour minimiser les corrélations entre les compositions élémentaires; le Tableau 3.3 montre ces corrélations (obtenu par les résultats ICP-MS). Ces corrélations ont été obtenues en calculant les coefficients de détermination entre chacune des combinaisons élémentaires possibles. Tel que présenté dans le tableau, la plus forte corrélation obtenue est de 0,39 entre le Fe et le Mg ce qui signifie qu'aucune corrélation forte n'est présente dans le groupe d'échantillons de calibration.

Tableau 3.3: Matrice des corrélations des compositions élémentaires des échantillons de calibration

Élément	Mg	K	Ca	V	Cr	Mn	Fe	Cu	Zn	Mo
Mg	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-
K	0,17	1	-	-	-	-	-	-	-	-
Ca	0,04	0,001	1	-	-	-	-	-	-	-
V	0,11	0,01	0,07	1	-	-	-	-	-	-
Cr	0,15	0,02	0,01	0,16	1	-	-	-	-	-
Mn	0,001	0,07	0,005	0,16	0,03	1	-	-	-	-
Fe	0,39	0,001	0,02	0,0004	0,09	0,02	1	-	-	-
Cu	0,02	0,002	0,09	0,09	0,28	0,32	0,31	1	-	-
Zn	0,23	0,13	0,28	0	0,02	0,34	0,40	0,33	1	-
Mo	0,09	0,15	0,28	0,02	0,10	0,05	0,04	0,10	0,04	1

3.2.2. Détermination de la taille de particules

Courbe de broyage

Afin d’optimiser le temps requis pour le broyage des échantillons avant la compression manuelle, une courbe de broyage a été effectuée. Celle-ci consiste à corréler la taille de particules (dans ce cas-ci de façon qualitative) avec le temps de broyage employé. L’appareil utilisé pour le traitement était un *Mixer Mill* avec une bille d’acier inoxydable dans un contenant de la même composition.

Les temps de broyage ont été variés entre 0 et 10 minutes selon les recommandations du fournisseur (Retsch). Selon le fournisseur, un tel appareil peut permettre d’atteindre des tailles de particules d’environ 50 µm avec des échantillons de nature minérale. L’amplitude utilisée pour les essais est de 50 %.

L’estimation qualitative de la taille de particules s’est faite par microscopie électronique à balayage avec un grossissement de 50X. Une comparaison visuelle et qualitative des images a servi pour déterminer le temps de broyage requis.

Détermination des tailles de particules des matières premières

Il a été jugé pertinent d’évaluer le comportement de chaque type de matière première face au prétraitement de broyage au *Mixer Mill*. Pour ce faire, chaque matière première d’intérêt pour les

analyses élémentaires a été broyée avec le même procédé que le produit fini habituel : 7 g de matière est broyé par la méthode présentée précédemment. À défaut d'obtenir un solvant universel pour tous les composés du mélange, la granulométrie laser n'a pas pu être employée. C'est pourquoi les échantillons ont été mis sous le microscope électronique à balayage et plusieurs prises de photos ont pu être effectuées. Pour toutes les matières, une large étendue de tailles de particules pouvait être observée, donc une première image à un grossissement de 50X a été effectuée pour observer l'allure générale des poudres broyées. Une deuxième série de photos a été prise en mettant l'emphase sur une grosse particule du mélange (grossissement de 250X). Finalement, dans plusieurs cas, les particules les plus fines étaient difficilement observables à 50X, donc un grossissement supplémentaire (variable) a été fait sur les particules les plus fines de chaque matière première. Un voltage de 5,0 kV a été employé pour toutes les photos. La métallisation a été effectuée par pulvérisation cathodique avec une cathode de platine. En somme, chaque composé a été observé à 50X et 250X, certains composés ayant nécessité de grossissements supplémentaires jusqu'à 5000X.

Étude des tailles de particules par MEB (Microscope électronique à balayage)

Une analyse d'images informatisée a été utilisée pour calculer une taille de particules moyenne pour chaque composé minéral du mélange. Pour ce faire, un script Matlab a été rédigé permettant l'identification des contours de particules tout en calculant le nombre de pixels composant chacune de celles-ci. La Figure 3.1 montre une photo MEB avant de subir un traitement et la Figure 3.2 montre la figure traitée pour dénombrer les particules présentes. Chaque particule colorée est une particule comptée par le programme automatisé. Ensuite, connaissant les facteurs de grossissement de chaque image, il a été possible de convertir les pixels en unités de mesure. Finalement, une moyenne massique des diamètres de particules a été approximée en posant l'hypothèse de sphéricité des particules (qui peut être confirmée par l'observation des images).

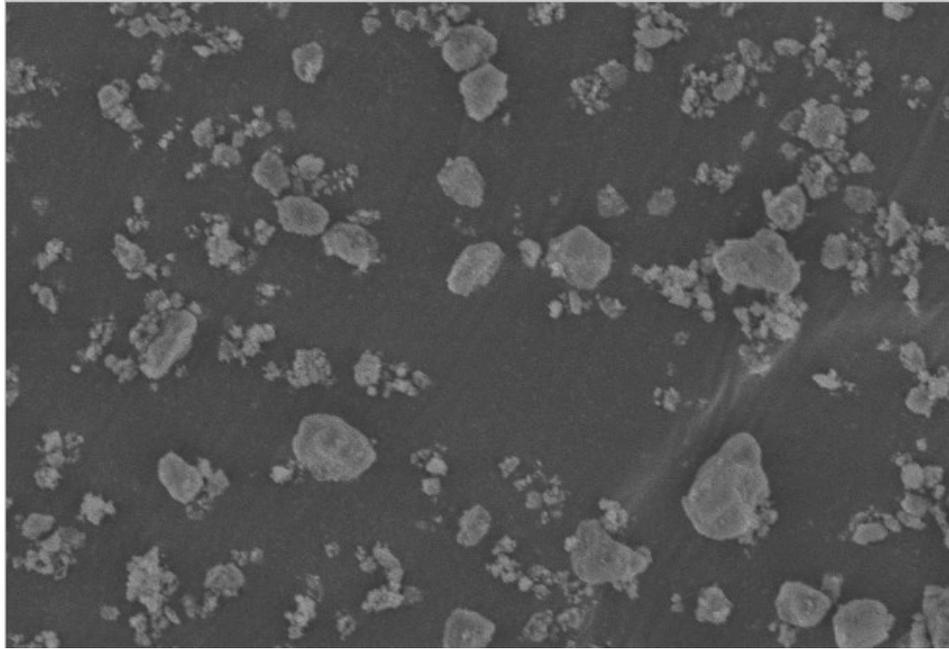


Figure 3.1: Photo MEB du dioxyde de silice à 1500X



Figure 3.2: Image traitée pour le calcul de particules, chaque couleur représente une particule distincte

Quelques problèmes peuvent être associés à cette méthode de calcul. Par exemple, l'algorithme d'identification des particules commet parfois des erreurs en permettant des inclusions de particules lorsque des particules de grande taille ont beaucoup de relief. De plus, le collant de carbone qui composait la matrice des particules avait certaines imperfections (bulles, craques,

diverses intensités de gris...) qui pouvaient potentiellement biaiser les calculs. Lorsque plusieurs particules sont collées sur une même image, elles sont reconnues comme étant une seule forme pour le programme, donc leur diamètre moyen est biaisé à la hausse. Finalement, le MEB peut être endommagé par des particules fines mobiles, donc afin d'éviter ceci, les échantillons devaient être soufflés avec un jet d'air comprimé pour enlever toutes particules non-collées sur le collant de carbone. Cela pourrait potentiellement éjecter préférentiellement certaines tailles de particules, donc ceci peut être considéré comme une source potentielle d'erreur sur la mesure des tailles de particules.

3.3. Résultats et discussion

3.3.1. Courbe de broyage

Les résultats d'imagerie par MEB à différents temps de broyage sont montrés dans les Figure 3.3 à la Figure 3.7.

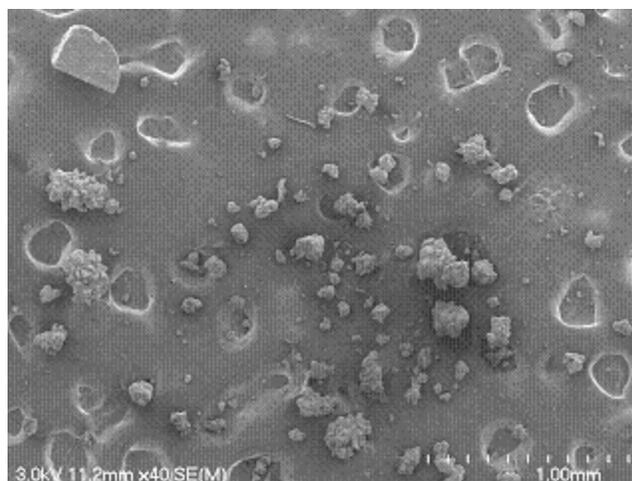


Figure 3.3: Photo MEB d'un mélange multivitaminé, aucun broyage



Figure 3.4: Photo MEB d'un mélange multivitaminé, 1 minute de broyage

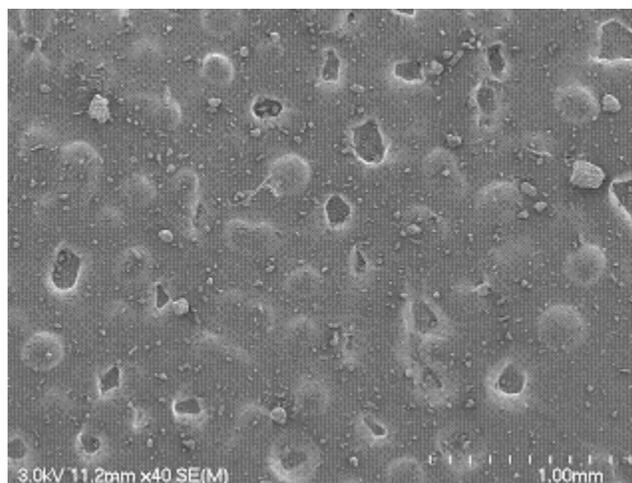


Figure 3.5: Photo MEB d'un mélange multivitaminé, 2 minutes de broyage

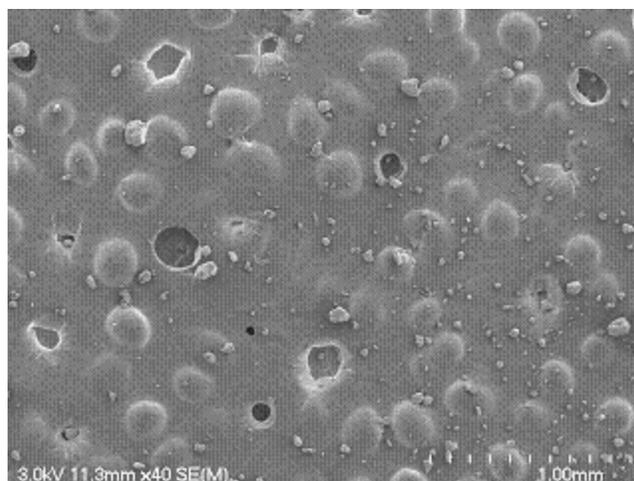


Figure 3.6: Photo MEB d'un mélange multivitaminé, 3 minutes de broyage

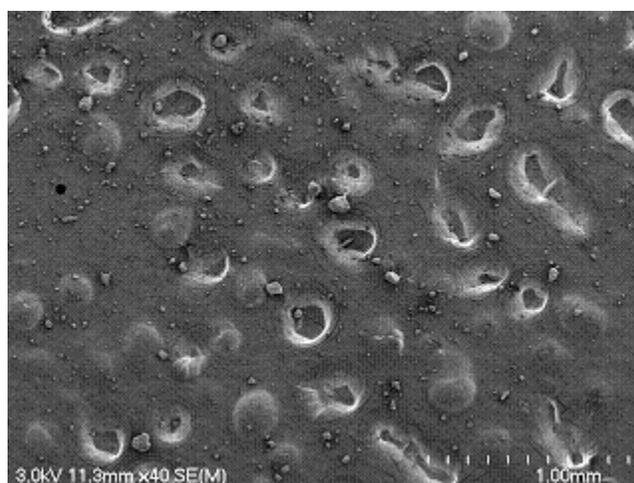


Figure 3.7: Photo MEB d'un mélange multivitaminé, 10 minutes de broyage

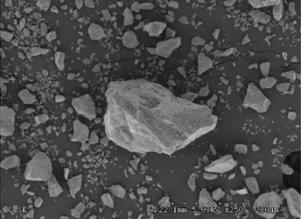
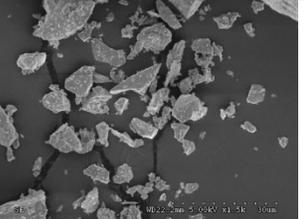
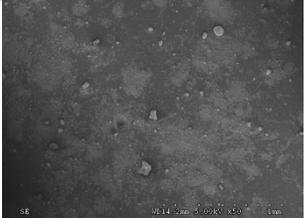
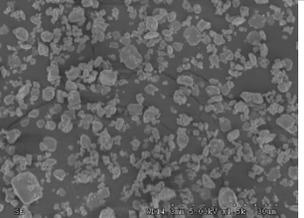
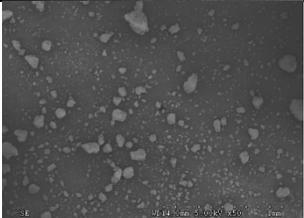
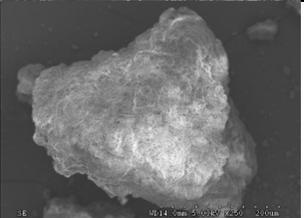
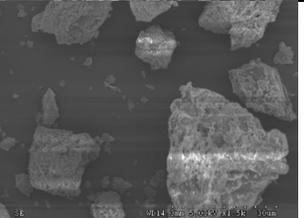
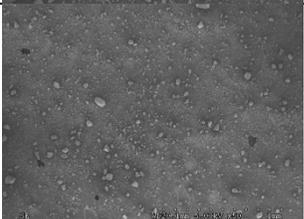
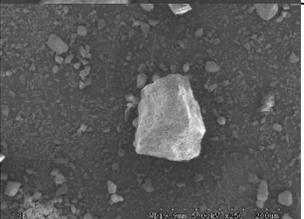
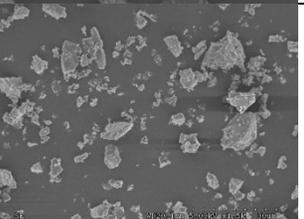
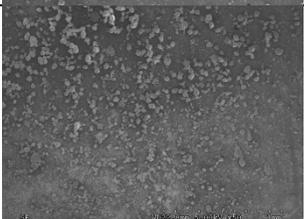
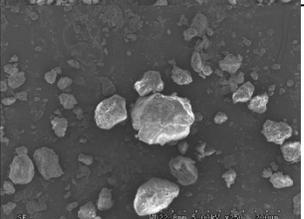
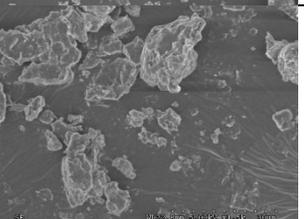
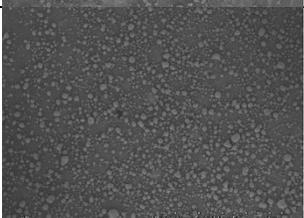
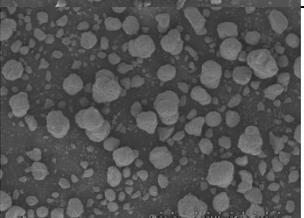
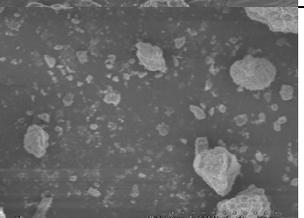
Au temps zéro, il y a beaucoup de grosses particules, soit d'environ 500 μm de diamètre moyen. Toutefois, à partir de la première minute de broyage, la taille de particules semble se stabiliser avec une distribution entre 0 et 100 μm . En somme, l'ajout de temps de broyage après 1 minute ne semble pas être utile selon cette analyse qualitative. Pour cette raison, les comprimés pour XRF et LIBS ont été faits en employant une minute de broyage à 50 % d'amplitude dans des cuvettes d'acier inoxydable à une bille.

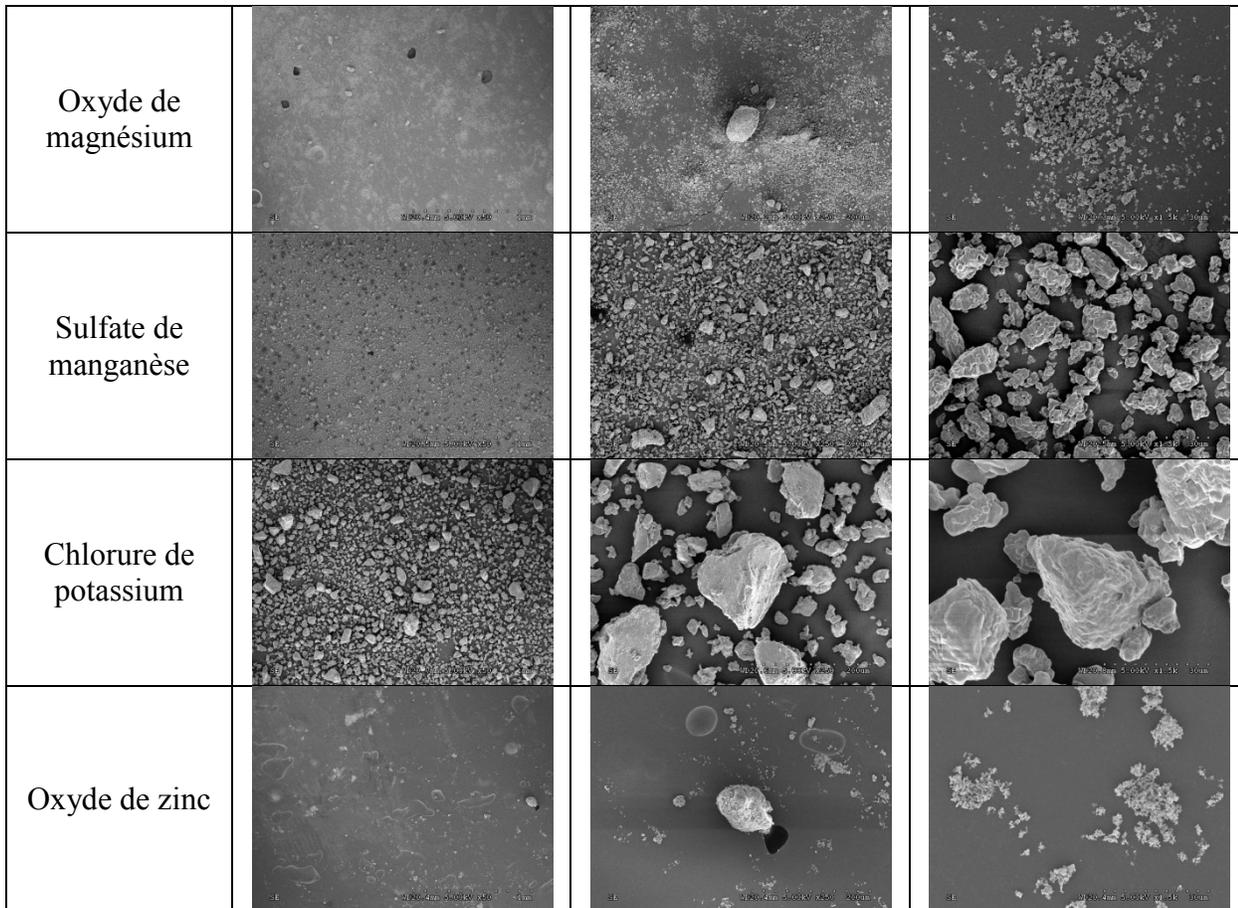
3.3.2. Étude des tailles de particules des matières premières

Le Tableau 3.4 montre les photos prises à divers grossissements pour chacune des matières premières d'intérêt. Les images à 50X montrent l'allure générale de la distribution de tailles de

particules, les photos à 250X montrent des particules de grande taille en gros plan et les photos à 1500X montrent les plus petites particules de chaque composé.

Tableau 3.4: Image MEB pour l'évaluation de la taille de particules des matières premières

Composé	Grossissement 50X	Grossissement 250X	Grossissement 1500X
Molybdate de sodium			
Métavanadate de sodium			
Carbonate de calcium			
Picolinate de chrome			
Sulfate de cuivre			
Fumarate ferreux			



Il semble y avoir une différence significative entre les distributions de tailles de certaines matières premières. Plus particulièrement, le métavanadate de sodium a une taille de particule moyenne approximative avoisinant les 3 μm alors que le carbonate de calcium aurait des particules plus grosses soit d'environ 50-100 μm en moyenne. Ceci doit être considéré pour les étapes subséquentes du développement de méthode LIBS dû à son échantillonnage restreint.

De plus, une seconde conclusion importante peut être tirée de ces images. Les grosses particules de certaines matières semblent être composées d'un agrégat de plus petites particules. C'est le cas du métavanadate de sodium. La Figure 3.8 montre une photo de cette matière à plus fort grossissement pour faciliter l'illustration du phénomène.

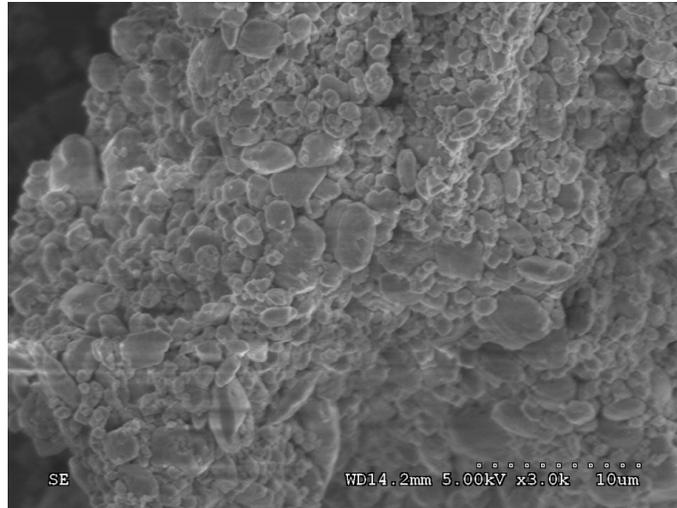


Figure 3.8: Agrégat de métavanadate de sodium à 3000X

La Figure 3.9 montre une photo à 5000X de l'oxyde de magnésium puisque la photo prise à 1500X n'est pas suffisamment agrandie pour permettre de bien estimer la taille des particules fines.

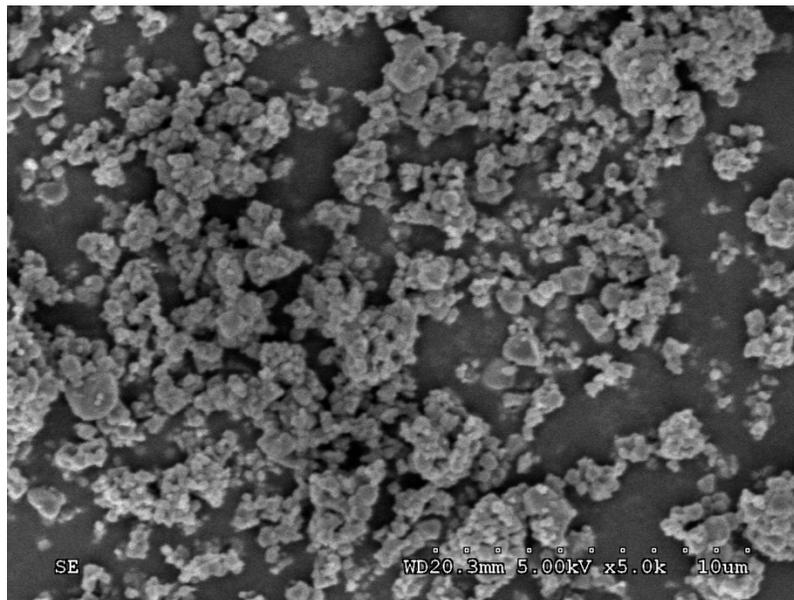


Figure 3.9: Particules fines d'oxyde de magnésium à 5000X

En conclusion, il serait pertinent d'analyser les distributions de tailles de particules pour chacune des matières puisqu'il semble y avoir des différences significatives selon l'analyse qualitative visuelle. Toutefois, par simplicité, les agrégations de particules n'ont pas été considérées pour la suite des essais. Leur effet a cependant été évalué par une simulation dans la section à ce sujet.

3.3.3. Évaluation des tailles de particules par MEB

Le Tableau 3.5 montre les diamètres de particules moyens calculés à partir des images et du script Matlab mentionnés précédemment. Plusieurs cas n'ont pas pu être calculés par la technique d'imagerie pour des raisons telles que la difficulté à disperser les particules (densité particulaire trop élevée), un contraste inadéquat ou une trop grande variabilité dans la distribution de taille de particule, ceci faisant qu'aucun grossissement n'était adéquat pour évaluer précisément les tailles de toutes les particules. Ces résultats ont donc été exprimés sous forme d'étendue de taille de particules et un estimé qualitatif a été déterminé comme taille moyenne.

Tableau 3.5: Estimation de la taille de particule moyenne des matières premières broyées

Élément	Note	Grossissement utilisé	Diamètre moyen (um)
Mo	-	50X	22,5
V	Trop de variabilité de taille de particule Très peu de grosses particules	n/a	3-70 (est. qual. = 5)
Ca	-	50X	30,4
Cr	Trop de particules se touchent Peu de grosses particules	n/a	6-140 (est. qual. = 15)
Cu	Trop de variabilité de taille de particule	n/a	12-70 (est. qual. = 40)
Fe	-	250X	20,1
Mg	Trop de variabilité de taille de particule	n/a	1-60 (est. qual. = 3)
Mn	Densité de particules trop élevée	n/a	9-40 (est. qual. = 15)
K	-	250X	35,2
Zn	Trop de variabilité de taille de particule et formation de flocons	n/a	1-60 (est. qual. = 5)

3.4. Conclusion de chapitre

Enfin, puisque les formulations préparées sont complexes, une méthode de référence adéquate est proposée, soit ICP-MS. Ces résultats permettent donc d'établir les limites de précision pouvant être atteinte avec les instruments évalués. De plus, les travaux d'évaluation des tailles de particules ont montré que chaque matière première a une distribution de tailles de particules différentes suite au processus de broyage proposé. Ceci est une information très importante pour

la suite des travaux puisque la taille de particules est directement liée à la micro-homogénéité du comprimé. Dans les prochains chapitres, ces données seront utilisées pour évaluer le potentiel des technologies XRF et LIBS pour la quantification de minéraux.

CHAPITRE 4 - EXPÉRIMENTATION AVEC XRF

4.1. Introduction de chapitre

Cette section du document élabore les différentes étapes du développement de méthode pour la technologie XRF, spécifiquement, en plus de poursuivre avec l'élaboration de modèles quantitatifs à partir des données recueillies. D'abord, la section débute par une brève description de l'instrument utilisé ainsi que des résultats d'une étude préliminaire sur divers appareils XRF de plusieurs fournisseurs. Ensuite, une description des quelques étapes du développement de méthode est présentée. Ces étapes incluent : la détermination des LOD et la détermination de la méthode d'acquisition et d'analyse de données. Finalement, les courbes de prédiction optimisées pour chacun des 10 éléments à quantifier sont présentées.

4.2. Matériel et méthodes

4.2.1. Description de l'appareil XRF et du fonctionnement

L'instrument utilisé pour les expériences est un PANalytical WD-XRF (Figure 4.1) ayant une source Rh-anode Super Sharp Tube (1 kW, 20-60 kV, 16-50 mA), un goniomètre DOPS, 11 cristaux interchangeables, un compteur proportionnel à gaz et un détecteur par scintillation.



Figure 4.1: Instrument WD-XRF Axios de PANalytical [PANalytical, 2015]

4.2.2. Tests volet préliminaire

Un projet de recherche exploratoire pour évaluer le potentiel des technologies XRF et LIBS a été effectué préalablement à cette étude. Les détails ne sont pas disponibles à des fins de confidentialité.

En résumé, quatre différents appareils provenant de trois fournisseurs ont été évalués. Cinq échantillons à composition connue ont été fournis aux fabricants des appareils XRF comme échantillons de calibration. Ensuite, trois échantillons supplémentaires à composition inconnue par les fournisseurs d'instruments ont été testés pour valider l'erreur de prédiction. Des appareils de type portable, *Energy Dispersive* (ED) et *Wavelength Dispersive* (WD) ont été évalués afin de déterminer les performances de différentes gammes de prix et de versatilité d'appareils.

L'objectif de l'étude préliminaire étant d'atteindre moins de 5 % d'erreur de prédiction sur la concentration pour la totalité des espèces atomiques, aucun des appareils est suffisamment performant pour justifier son application directement. Dans cette étude, les résultats bruts des fournisseurs n'étaient pas disponibles pour faire une analyse supplémentaire des données pour optimiser la méthode et donc les résultats. De plus, la méthode d'interprétation des résultats n'était, encore une fois, pas dévoilée par les fournisseurs, c'est pourquoi une analyse plus

exhaustive a été poursuivie sur le sujet afin de comprendre les phénomènes sous-jacents à ces résultats afin de tenter de les améliorer.

4.2.3. Détermination des LOD

La première étape du développement de la méthode XRF consiste à déterminer les limites de détection (LOD) pour chacun des éléments à quantifier. Ces LOD ont été calculées à partir des spectres bruts de chaque échantillon.

Dans le produit étudié, 10 composés sont à quantifier. Un total de 13 mélanges ont été produits : un mélange binaire à concentration nominale pour chacun des éléments d'intérêt avec une matrice de cellulose microcristalline (MCC). Un autre échantillon de matrice pure (MCC) a été produit pour avoir l'allure du spectre de la matrice. Finalement, puisque le vanadium est présent en concentration trace, des échantillons supplémentaires à plus forte concentration ont été produits : Sodium métavanadate 0,01 % et Sodium métavanadate 0,1 %.

Du Licowax a été ajouté à chaque pastille pour faciliter la compression. Des pastilles de 6,3 g de produit et 0,7 g de Licowax ont été comprimées manuellement à 25 000 psi avec une presse manuelle.

Les calculs pour obtenir les LOD ont été effectués à l'aide d'un programme Matlab pour évaluer numériquement certaines valeurs nécessaires pour calculer la limite de détection. Voici les méthodes utilisées pour évaluer chacune de ces valeurs.

Bruit

Le bruit de mesure a été défini comme étant l'écart-type de la région environnante du pic d'intérêt par rapport à la tendance. Pour déterminer la tendance, un lissage Savitzky-Golay (SG) d'ordre 2 à 25 points a été effectué. Les limites du pic ont été définies visuellement où la variation de la pente associée au pic était nulle. Les 10 points avant et après ces limites ont été soustraits de la courbe lissée pour ensuite calculer l'écart-type de ces valeurs traitées (Équation 4.1 et Équation 4.2) où p_i est un point du spectre avec la coordonnée en abscisse de i , $p_{l,i}$ est un point de coordonnée en abscisse de i sur la courbe lissée, x_i est la variation d'un point par

rapport à la courbe de lissage, s est l'écart-type de l'échantillon, N est le nombre d'échantillons et \bar{x} est la moyenne des x .

$$e_i = p_i - p_{l,i} \quad (\text{Équation 4.1})$$

$$s = \sqrt{\frac{1}{N-1} \sum_{i=1}^N (e_i - \bar{e})^2} \quad (\text{Équation 4.2})$$

La Figure 4.2 illustre un pic de cuivre. Les zones encadrées en rouge sont les données utilisées pour calculer le bruit en calculant leur variation par rapport à cette même courbe lissée (Figure 4.3).

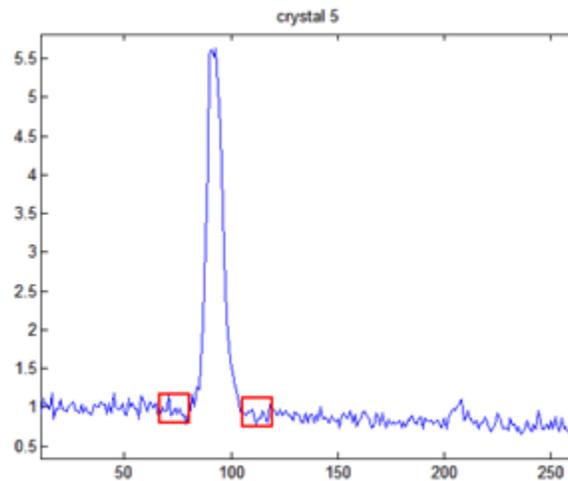


Figure 4.2: Spectre original d'un échantillon de sulfate de cuivre. Les zones en rouge représentent des sections du spectre pouvant être utilisées pour le calcul du bruit de mesure

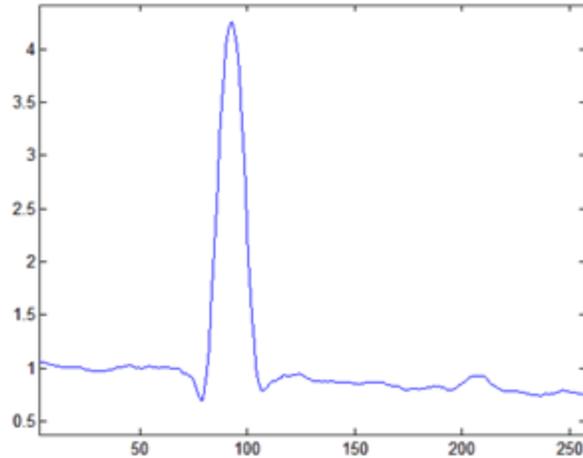


Figure 4.3: Spectre lissé par un algorithme SG (25 pts d'ordre 2)

Tel qu'il est possible de remarquer dans la Figure 4.3, la zone directement à la base du spectre comporte un biais dû à l'algorithme SG d'ordre 2. Il est donc indispensable de décaler la zone utilisée pour le calcul du bruit.

Connaissant cette source de biais, les données encadrées en rouge dans la Figure 4.4 permettent de limiter cette source d'erreur liée à l'algorithme de lissage.

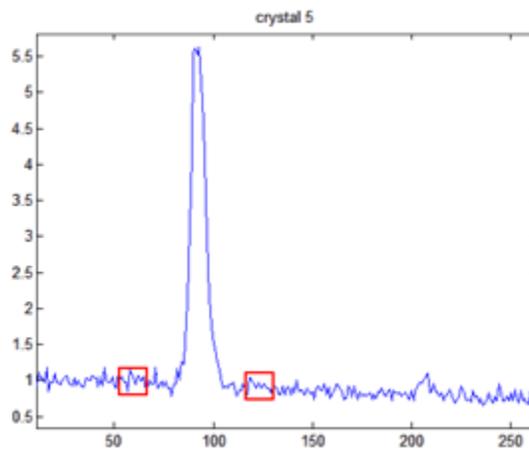


Figure 4.4: Choix de données corrigé manuellement

Intensité de la ligne de base

L'intensité de la ligne de base a été calculée en traçant une droite entre les deux points déterminés manuellement comme étant les limites du pic. Ensuite, la valeur y de cette courbe correspondant à l'abscisse de la valeur maximale du pic a été utilisée comme étant l'intensité

basale. La Figure 4.5 représente un exemple de calcul de ligne basale par la méthode décrite ci-haut.

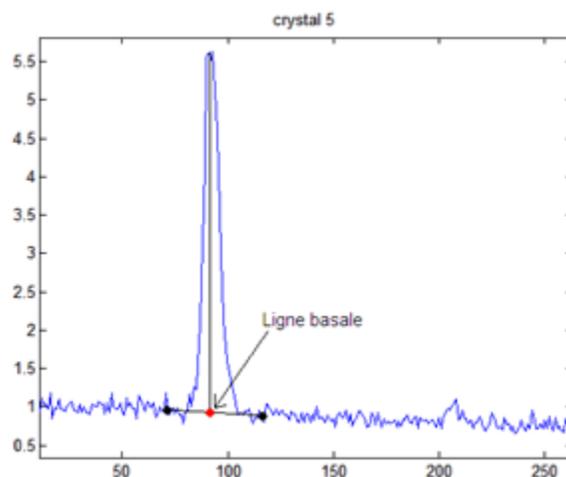


Figure 4.5: Exemple de calcul de ligne basale

Signal et ratio signal/bruit

L'intensité du signal est calculée en soustrayant la ligne basale de l'intensité maximale dans l'étendue du pic d'intérêt. Le ratio signal/bruit correspond au ratio de ces deux valeurs calculées dans les étapes précédentes.

LOD (Limit of Detection) et LOQ (Limit of Quantification)

Il existe diverses façons d'estimer une limite de détection à partir de données expérimentales. La méthode retenue provient des normes ICH [*ICH Harmonized Tripartite Guideline, Validation of Analytical Procedures : Text and Methodology Q2(R1)2005*]. Le critère choisi pour que l'élément soit considéré identifiable est son ratio signal/bruit et celui-ci doit être supérieur ou égal à 3. En somme, la LOD est estimée par le point où le ratio signal/bruit est égal à 3. Selon la même méthodologie, la LOQ est estimée par le point où le ratio signal/bruit est égal à 10.

4.2.4. Tests volet final

Deux comprimés de 7 g de chaque formulation ont été confectionnés en respectant le protocole de préparation d'échantillons. Ces comprimés ont été testés au XRF sur chacune des faces faisant ainsi un total de 4 lectures par formulation (exceptions pour les formulations de production : 5

comprimés chacun, testés sur les deux faces). Les paramètres d'acquisition choisis sont ceux recommandés par le fournisseur de l'appareil utilisé pour chacun des éléments à échantillonner.

4.2.5. Analyse des données

Amorçage (*bootstrapping*) et modélisation

Afin d'arriver à développer des modèles robustes, le nombre de composantes principales (ou variables latentes en régression PLS) à utiliser est primordial : trop de composantes mènent à la modélisation de bruit de mesure nuisant ainsi à la précision des prédictions des données de vérification et trop peu de composantes négligent une portion de la structure des données qui peut être utile pour améliorer la prédiction en vérification.

Plusieurs techniques existent pour déterminer le nombre de composantes principales à utiliser pour un modèle. Dans cette étude, la méthode par amorçage a été employée. Cette méthode consiste à faire une validation-croisée à plusieurs itérations moyennant ainsi l'erreur de toutes les possibilités de combinaisons de données pouvant être utilisées pour créer une matrice de calibration. En employant un nombre de composantes principales minimisant l'erreur de validation-croisée moyenne, des résultats optimaux et robustes peuvent être obtenus.

Pour les modèles multivariés, une régression PLS-1 a été utilisée, soit un modèle par élément à quantifier. Ceci est dû au fait que les concentrations élémentaires sont faiblement corrélées. D'autre part, pour les modèles univariés, le pic ayant l'intensité la plus forte sans chevauchement par d'autres pics voisins a été choisi pour l'analyse. Les performances de ces deux méthodes d'analyse ont été comparées dans cette étude afin de déterminer l'approche la plus adaptée pour l'application désirée.

Critères de performance utilisés

Pour l'évaluation de la performance des modèles, quelques critères ont été utilisés. L'erreur moyenne de prédiction (MEP) a été calculée pour quantifier l'erreur prédictive et le coefficient de détermination (R^2) a été utilisé pour déterminer la linéarité des courbes. Finalement, l'importance des variables dans la projection (VIP) représentent quelles variables sont les plus influentes sur le modèle développé. Cette information peut être utile pour estimer la robustesse du modèle en permettant de faire des liens de cause à effet entre les variables et les phénomènes

théoriques. Pour les tests univariés, les mêmes critères de performance sont utilisés soit la linéarité de la courbe de calibration et le MEP. Plusieurs tests t-Student ont été effectués pour déterminer si une des deux populations est significativement supérieure à l'autre et les résultats sont représentés en tant que valeur-p (*p-value*) par paires unilatérales.

4.3. Résultats et discussion

4.3.1. Résultats LOD

Le Tableau 4.1 montre une comparaison des concentrations approximatives dans les comprimés typiques avec les LOD calculées.

Tableau 4.1: Comparaison des LOD théoriques et des ratios signal/bruit observés

Éléments/mélanges	Concentration théorique (ppm)	Signal/bruit	LOD théorique (ppm)	Identifiable? (signal/bruit > 3)
Carbonate de calcium	629000	2979	633	oui
Sulfate de cuivre	1700	86	59	oui
Fumarate ferreux	13000	428	91	oui
Oxyde de magnésium	39900	333	359	oui
Chlorure de potassium (K)	76800	175	1317	oui
Molybdate de sodium	80	10	24	oui
Sulfate de manganese	3700	84	132	oui
Oxyde de zinc	9700	1261	23	oui
Picolinate de chrome	320	12	80	oui
Métavanadate de sodium	11	0	n/a	non
Métavanadate de sodium (concentré)	100	7	43	oui

Suite à l'analyse des résultats, un seul élément parmi les 10 étudiés se retrouve à une concentration inférieure à sa limite de détection calculée. Pour cette raison, le vanadium ne pourra probablement pas être quantifié par la méthode XRF avec précision. Pour les autres éléments, les étapes subséquentes permettront de déterminer si la quantification est possible.

4.3.2. Résultats tests préliminaires

Le Tableau 4.2 montre la comparaison des résultats obtenus par des fournisseurs d'instruments XRF pour la linéarité. Les deux instruments de la compagnie Bruker (S2 Ranger et S8 Tiger) semblent performer mieux que leurs compétiteurs avec des linéarités supérieures. Une des raisons pouvant expliquer cette différence est au niveau du type d'instrument qui est utilisé. L'instrument Niton XL3 est de type portable et donc miniaturisé, le S8 et le S2 sont des instruments d'échelle laboratoire, donc ils sont plus puissants et plus gros. En ce qui concerne le modèle X-5000, il se classe parmi les appareils mobiles, donc ses dimensions sont sensiblement entre les deux autres types de modèles. En somme, selon les résultats de linéarité, plus l'instrument est miniaturisé, moins les courbes de calibration semblent être linéaires.

Tableau 4.2: Comparaison des coefficients de détermination des courbes de calibration des différents instruments XRF

Élément	NITON XL3	X-5000	S2 Ranger	S8 Tiger
Ca	0,93	0,96	1,00	1,00
Cu	0,55	0,99	0,99	0,98
Fe	0,12	0,93	0,92	0,92
Mg	n/a	n/a	0,98	0,98
Mn	0,53	0,93	0,99	0,99
K	0,37	0,93	1,00	1,00
Zn	0,29	0,74	0,98	0,98
Cr	n/a	0,90	0,94	0,98
Mo	n/a	0,50	0,92	0,95
V	n/a	n/a	n/a	n/a
Moyenne	0,47	0,86	0,97	0,98

En ce qui concerne l'erreur de prédiction, le Tableau 4.3 montre les MEP obtenus des échantillons de vérifications. Encore une fois, la même tendance est observée qu'avec la linéarité : les instruments à l'échelle laboratoire performant mieux que leurs compétiteurs, même que le fournisseur du Niton XL3 portable a refusé de compléter les tests.

Tableau 4.3: Comparaison des erreurs de prédiction obtenues par les différents instruments XRF

Élément	X-5000	S2 Ranger	S8 Tiger
Ca	4,3	1,7	2,0
Cu	19	3,1	4,4
Fe	16	7,1	7,3
Mg	n/a	3,8	4,6
Mn	15	7,2	5,2
K	18	12	11
Zn	16	5,3	4,9
Cr	63	29	3,1
Mo	63	49	62
V	n/a	n/a	n/a
Moyenne	27	13	12

Finalement, ces résultats montrent que malgré que ces résultats ne soient pas assez performants pour une application directe, les efforts subséquents devraient être effectués avec un instrument d'échelle laboratoire (*benchtop*). En ce qui concerne la différence entre un instrument ED et WD, il ne semble pas y avoir de différence significative (entre le Bruker S8 et Bruker S2) pour la linéarité des courbes de calibration ($p = 0.12$) ni pour l'erreur de prédiction ($p = 0.33$).

4.3.3. Résultats tests XRF

Développement de méthode

Pour optimiser la méthode pour la technologie XRF, plusieurs étapes successives ont été accomplies. D'abord, en ce qui concerne la production des échantillons, initialement, la recommandation du fournisseur était de faire une dilution de l'échantillon avec un composé liant, soit du LICOWAX, afin d'assurer une bonne intégrité post-compression de l'échantillon. Puisque les formules multivitaminées sont des formules conçues pour être compressibles, cette dilution de 10 % a été jugée comme étant non-nécessaire dans le contexte pour éviter la dilution des échantillons.

Ensuite, le nombre d'échantillons à inclure dans la calibration a été évalué pour optimiser les résultats de prédiction. Les modèles de départ ont été conçus avec seulement 5 formulations en calibration. La Figure 4.6 montre l'espace des variables latentes d'un modèle PLS à 3 composantes avec les projections des 16 observations (5x2 en calibration + 3x2 en vérification). Puisqu'il y a plusieurs sources de variations dans les mélanges (plus de 35 ingrédients à concentrations variables), l'espace expérimental ne semble pas être bien comblé avec seulement

8 niveaux, ce qui signifie que le nombre d'échantillons en calibration serait insuffisant. Par exemple, les échantillons 11 à 16 sont ceux qui ont été conçus pour faire partie des données de vérification. Les échantillons 11 et 12 ainsi que 13 et 14 semblent être la principale source de variation pour la deuxième variable latente (LV2) d'un modèle PLS avec les concentrations élémentaires comme variables d'intérêt.

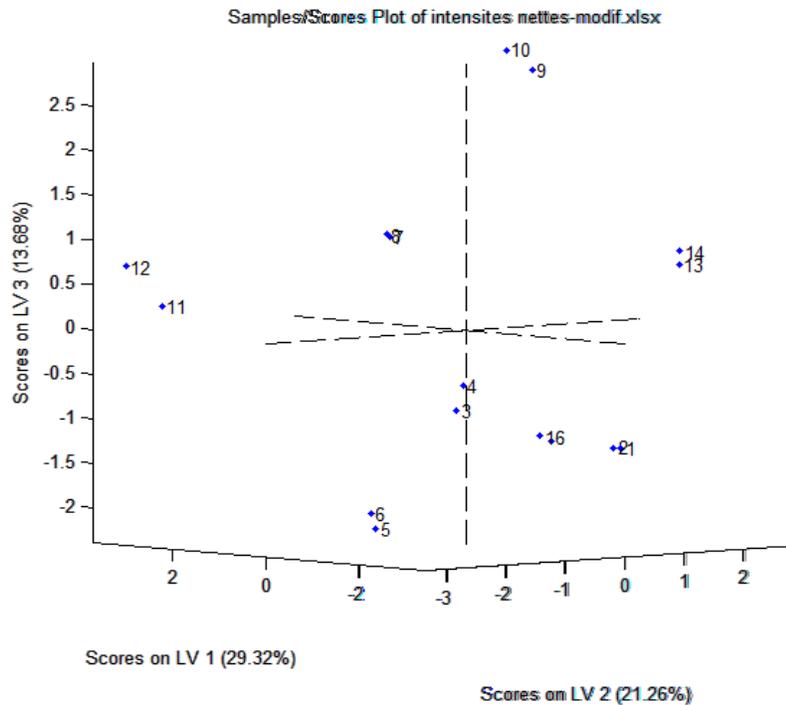


Figure 4.6: Scores en fonction des 3 principales variables latentes

Dans le cas d'un modèle avec seulement les échantillons 1 à 10 en calibration, les échantillons 11 à 14 ne seraient pas adéquatement modélisés et ils auraient une valeur résiduelle élevée.

Selon cette observation, la méthodologie a été adaptée et le nombre d'observations en calibration a été doublé en ajoutant 5 formulations supplémentaires. La Figure 4.7 montre la projection des observations dans l'espace des variables latentes 1 à 3. Les observations semblent être plus uniformément distribuées que dans la Figure 4.6.

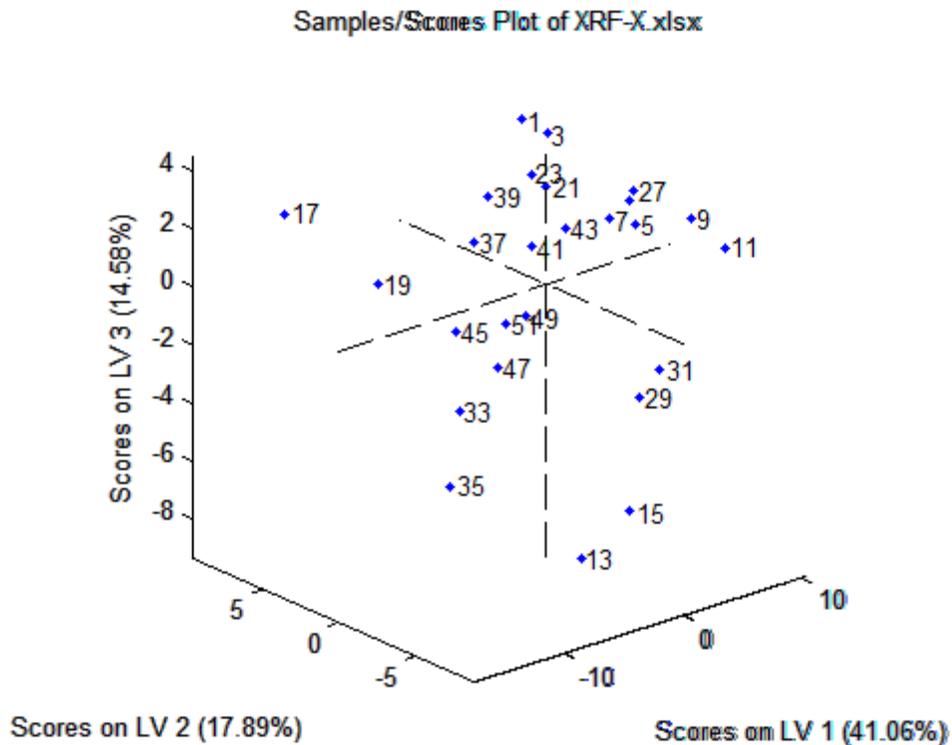


Figure 4.7: Scores selon les 3 principales variables latentes pour les 16 observations avec un modèle de calibration incluant tous les échantillons en calibration ainsi que les 5 formules additionnelles

Résultats univariés et multivariés

Le Tableau 4.4 montre les résultats obtenus par la technologie XRF suite à l'optimisation de la méthode. Des analyses univariées et multivariées sont comparées. La performance des modèles univariés semble être fortement dépendante à la nature élémentaire ainsi que la concentration des échantillons. Les échantillons à faible concentration tendent à avoir une erreur de prédiction supérieure puisque leurs concentrations s'approchent de la limite de détection de l'instrument estimée précédemment. D'autre part, la linéarité ne semble pas être reliée à la concentration. Par exemple, même certains éléments majeurs comme le K montrent des linéarités faibles pour leurs courbes de calibration.

La Figure 4.8 montre les résultats univariés et multivariés obtenus par XRF pour chacun des éléments d'intérêt.

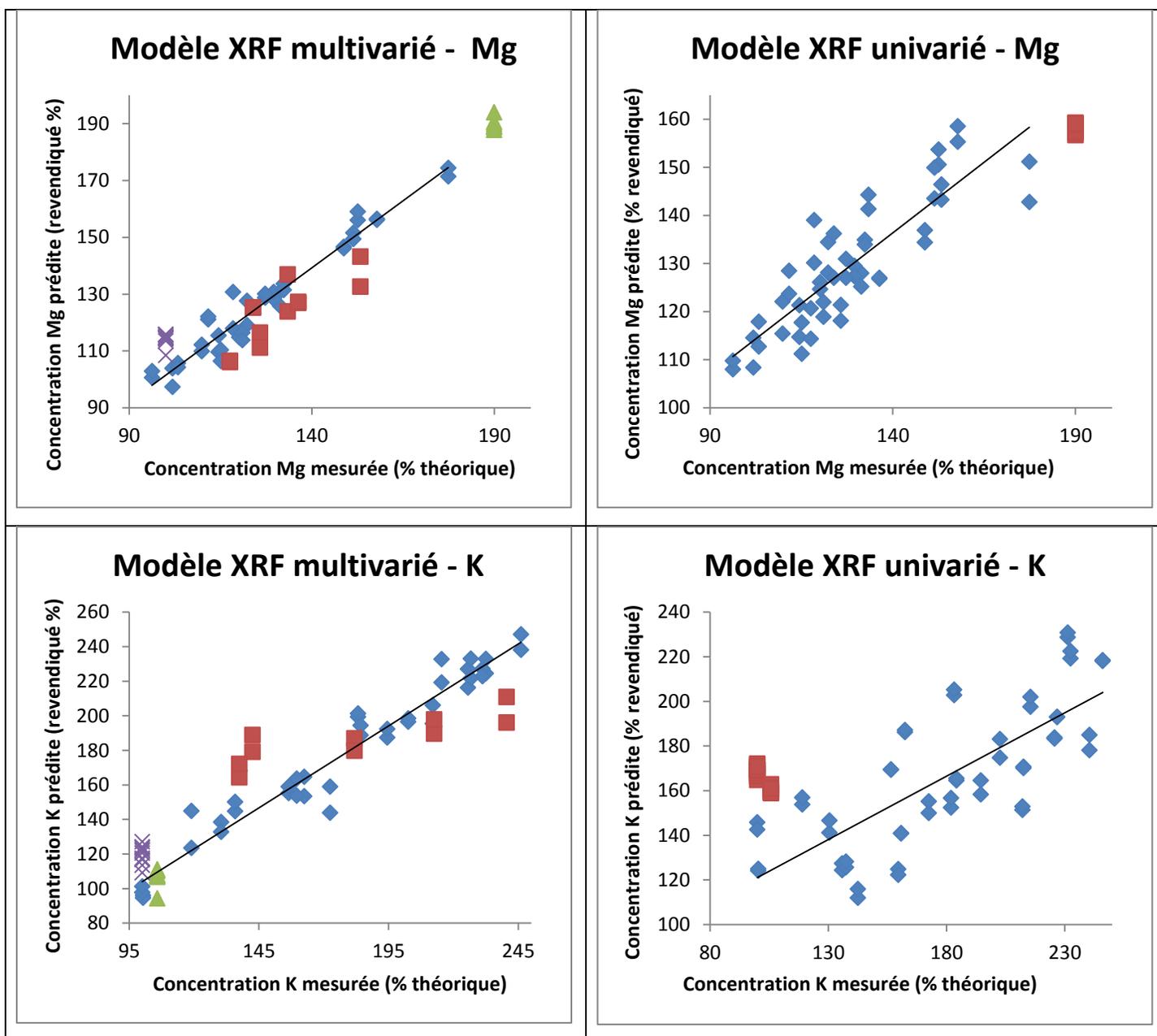
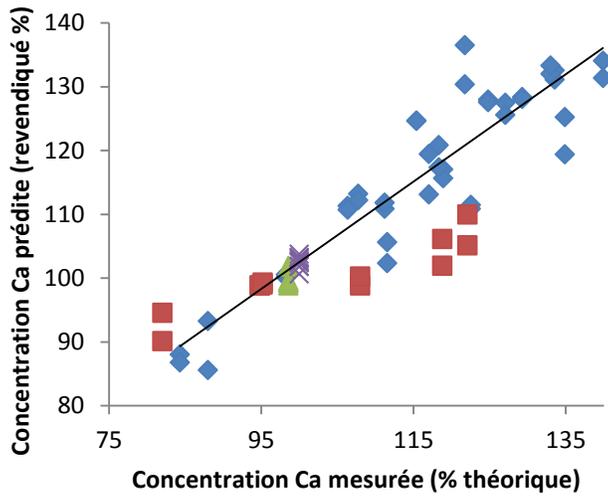
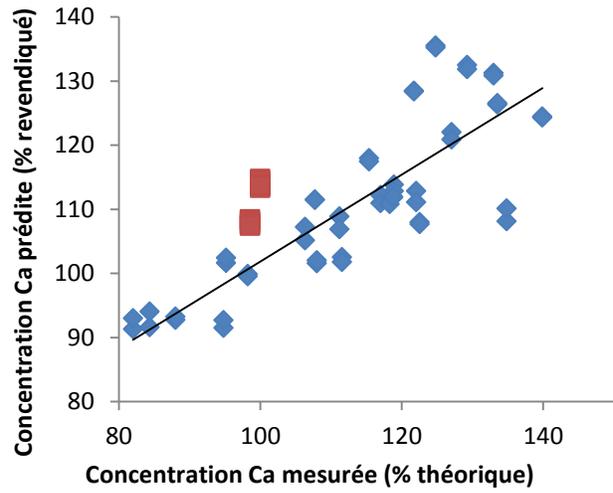


Figure 4.8: Résultats des analyses multivariées et univariées par XRF

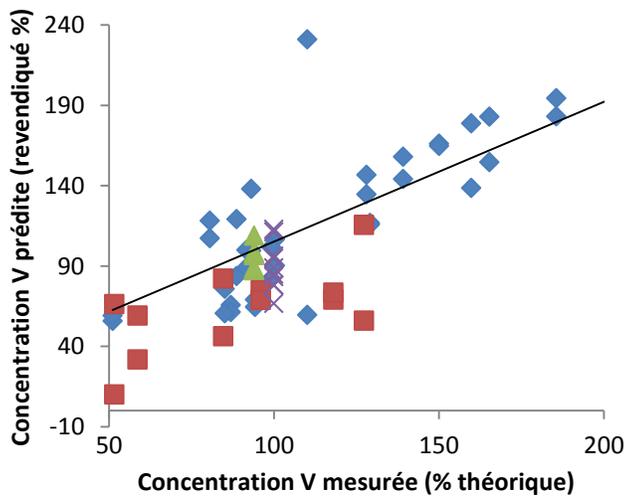
Modèle XRF multivarié - Ca



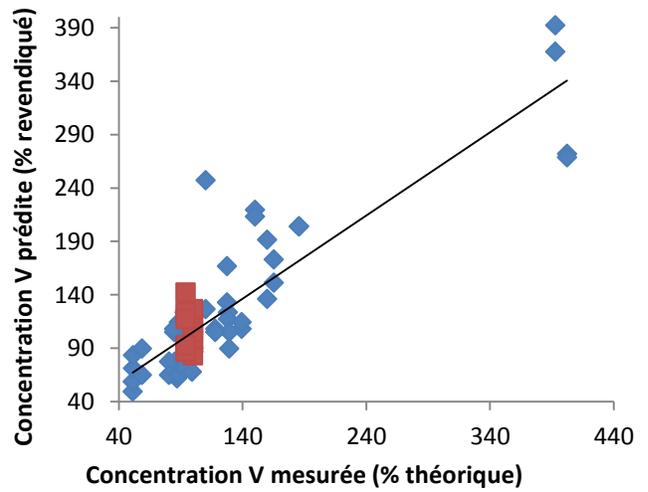
Modèle XRF univarié - Ca



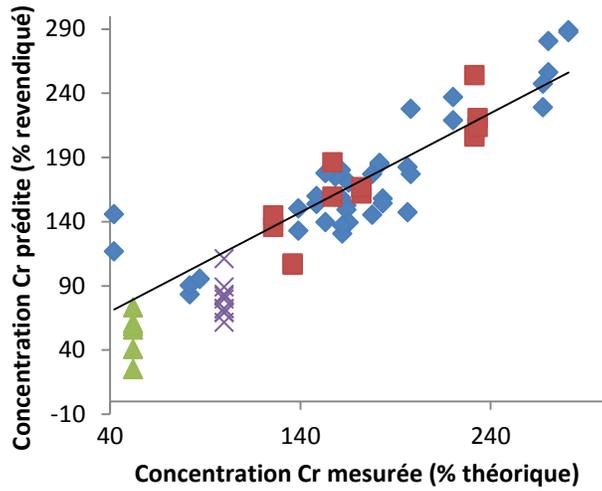
Modèle XRF multivarié - V



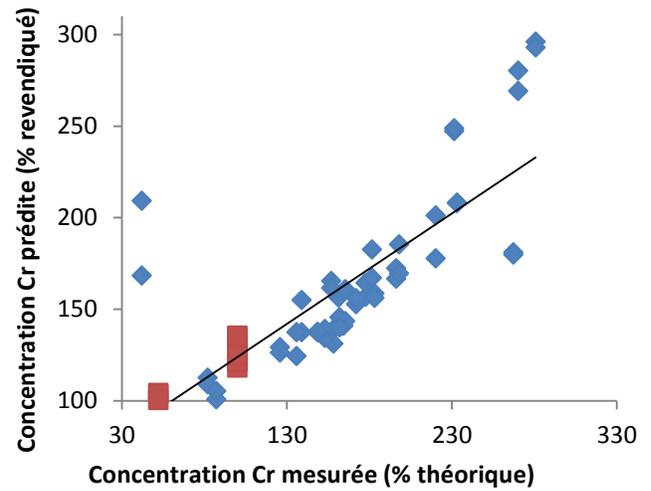
Modèle XRF univarié - V



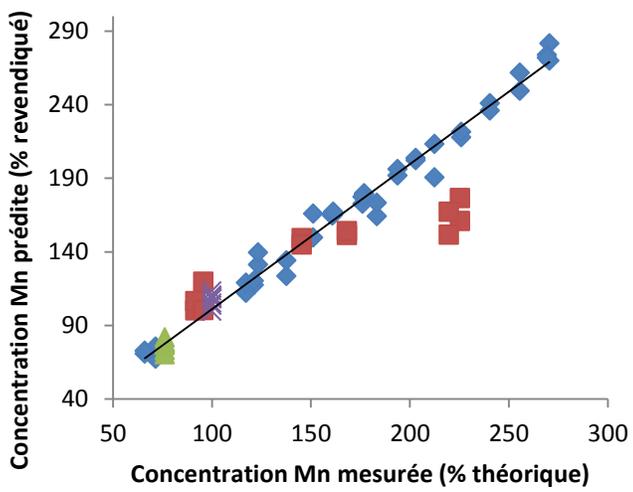
Modèle XRF multivarié - Cr



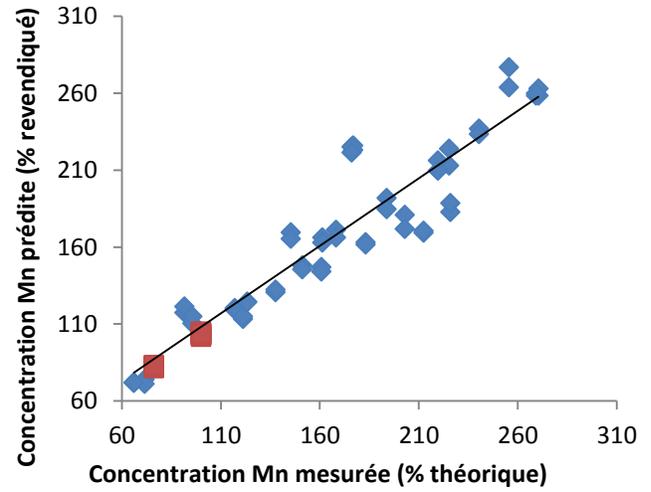
Modèle XRF univarié - Cr



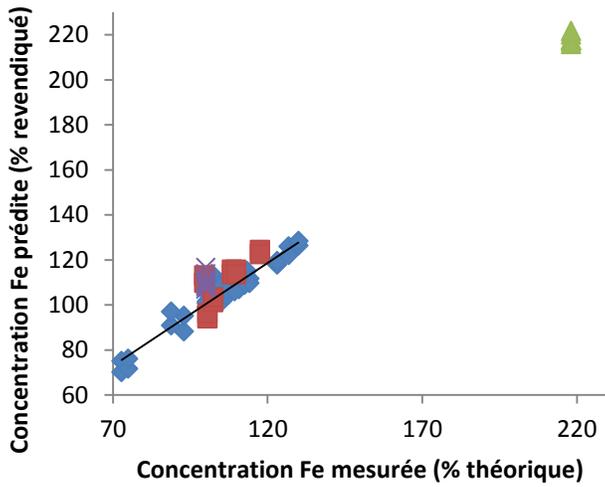
Modèle XRF multivarié - Mn



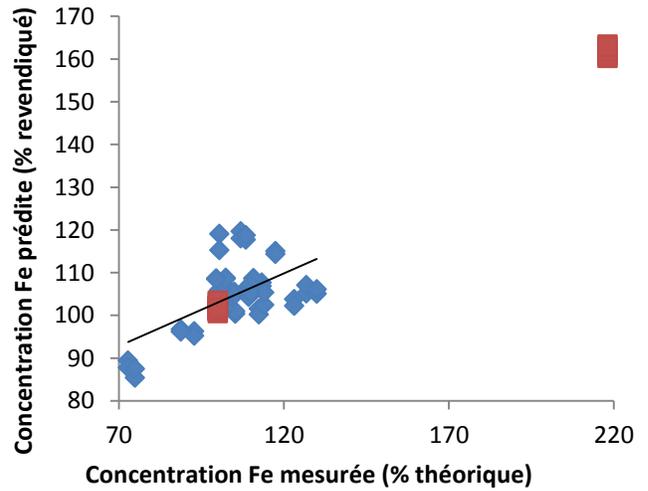
Modèle XRF univarié - Mn



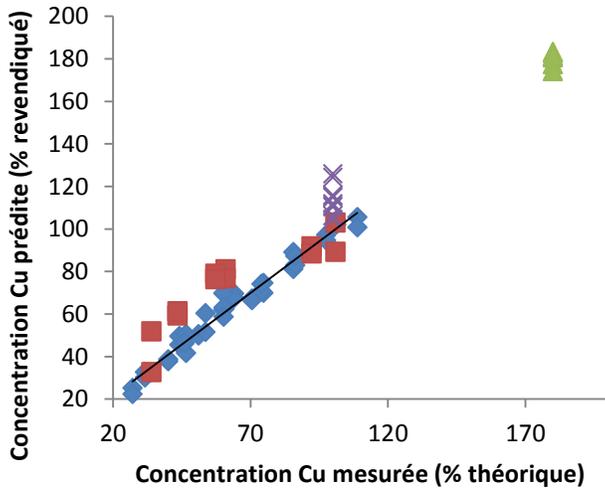
Modèle XRF multivarié - Fe



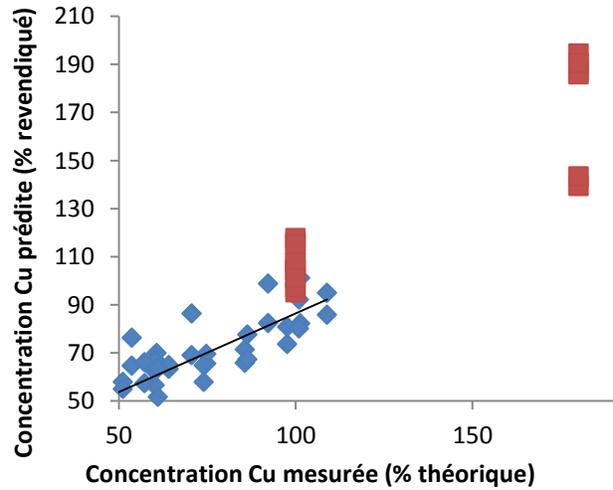
Modèle XRF univarié - Fe



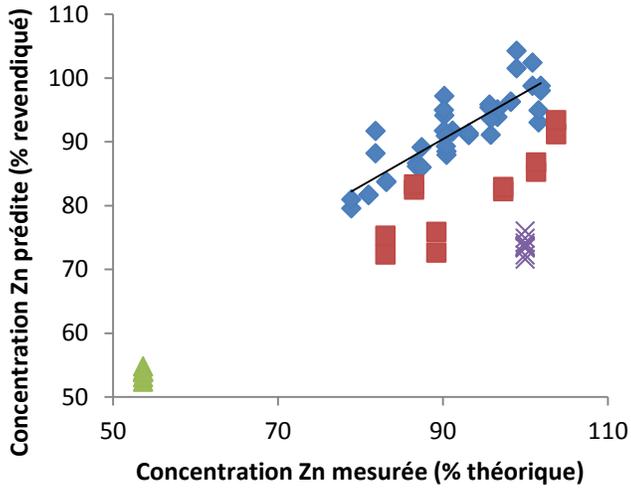
Modèle XRF multivarié - Cu



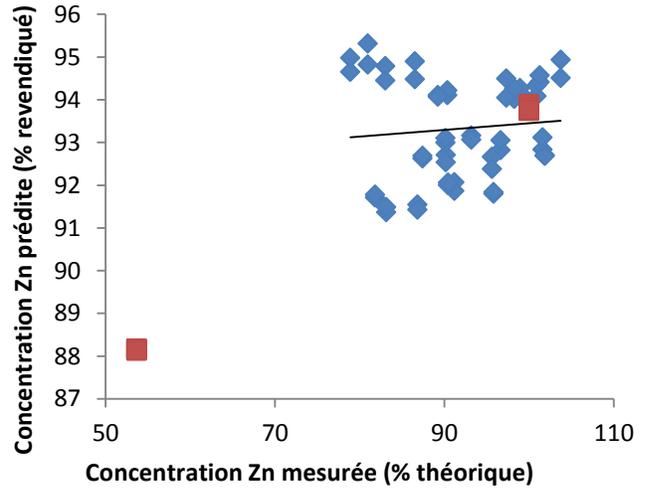
Modèle XRF univarié-Cu



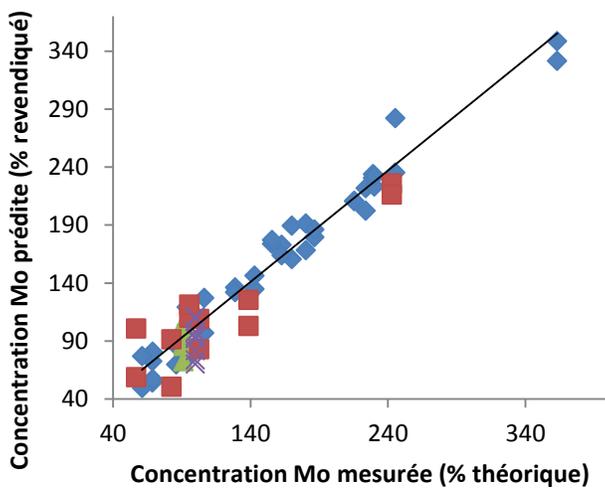
Modèle XRF multivarié - Zn



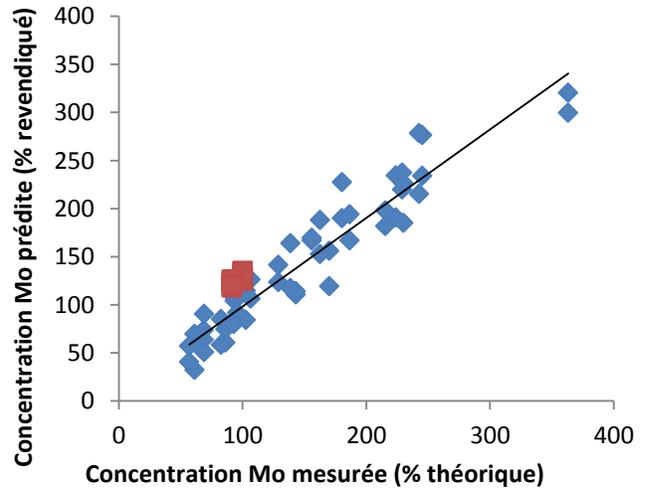
Modèle XRF univarié - Zn



Modèle XRF multivarié - Mo



Modèle XRF univarié - Mo



- ◆ Calibration (labo)
- ▲ Calibration (production)
- Vérification (labo)
- × Vérification (production)

- ◆ Calibration (lab)
- Calibration (production)

Un modèle multivarié a le potentiel de tenir compte de certaines interactions élémentaires tels que les effets de matrice. Ceci peut être observé dans les VIPs pour chacun des modèles ainsi que le nombre élevé de variables latentes qui sont requises pour minimiser l'erreur de prédiction. L'élément d'intérêt est toujours parmi les VIPs majeurs pour son modèle respectif, mais il y a aussi, dans plusieurs cas, d'autres lignes spectrales qui sont utilisées pour la prédiction. Ceci signifie qu'il y a possiblement une interaction entre ces éléments due à des effets de matrice. Tel que présenté dans le Tableau 3.3, les corrélations entre les concentrations élémentaires connues (certains éléments sont en concentrations inconnues tel que le Na) ont été minimisées ce qui limite la probabilité que ces corrélations soient la cause des observations des VIPs.

Tableau 4.4 : Résultats XRF obtenus par analyses univariées et multivariées

Élément	MEP (%) univarié	MEP (%) multivarié	Nb. LVs	VIP	R ² cal. univarié	R ² cal. multivarié	R ² val.
Mg	7	10	10	Mg, Na, Fe	0,80	0,98	0,58
K	27	18	8	K, Cl, B, Mg	0,33	0,96	0,82
Ca	8	6	3	Aucun supérieur à 2	0,57	0,85	0,63
V	20	25	6	V	0,77	0,87	0,35
Cr	30	16	6	Cr, Zn, Cu	0,65	0,85	0,90
Mn	8	12	8	Mn, Zn, Cu, S, P	0,91	0,99	0,89
Fe	9	8	11	Fe, Zn, Cu, Si, Na	0,89	0,99	0,40
Cu	13	19	11	Cu, Zn, Fe, Mn, Na	0,90	0,99	0,86
Zn	12	19	5	Zn, Cu, Fe, Na	0,56	0,95	0,05
Mo	18	17	9	Mo	0,87	0,97	0,82
Moyenne	15	15	NA	NA	0,73	0,94	0,63
Valeur-p	0,48		NA	NA	8,2E-04		NA

Les données de calibration sont beaucoup plus linéaires que les ensembles de vérification, ce qui pourrait s'expliquer par le fait que, dans de nombreux cas, les concentrations de l'ensemble de vérification ont été établies afin d'interpoler ce qui donne nécessairement une plage plus étroite de concentrations. En outre, moins d'échantillons sont présents dans l'ensemble de prédiction ce qui pourrait influencer la linéarité.

Avec un niveau de confiance de 95 %, il est possible de conclure qu'aucune de ces deux approches (univariée ou multivariée), ne semble mieux performer quant à son erreur de

prédiction ($p = 0,48$). Par contre, la linéarité de la courbe de calibration est significativement supérieure dans des modèles multivariés ($p = 8,2e-4$).

4.4. Conclusion de chapitre

Ce chapitre propose une méthode applicable *At-line* pour quantifier des minéraux dans des comprimés pharmaceutiques. Selon des analyses PLS, certaines améliorations à la méthode originale ont été proposées et appliquées pour optimiser les résultats. Quoique variables, ces résultats ne satisfont pas en général les standards de précision requis. Toutefois, ceux-ci pourraient s'avérer suffisants pour d'autres applications si moins d'éléments étaient à quantifier. Il a aussi été démontré qu'une méthode d'analyse multivariée permet d'améliorer la linéarité de la calibration, mais ne permet pas d'obtenir de diminution significative quant à l'erreur de prédiction.

CHAPITRE 5 - EXPÉRIMENTATION AVEC LIBS

5.1. Introduction de chapitre

Tout comme le chapitre précédent, ce prochain chapitre traite des diverses étapes de développement d'une application de quantification de minéraux. Par contre, cette fois-ci, la technologie évaluée, LIBS, requiert plus d'étapes de développement de méthode. Ceci est principalement dû à sa propriété de micro-échantillonnage qui rend son utilisation complexe sur des échantillons micro-hétérogènes. Une simulation est développée pour pallier à cette complication d'échantillonnage et cette méthode est ensuite appliquée pour développer des modèles quantitatifs à partir des résultats LIBS à haute dimensionnalité (ayant plus de 40 000 variables).

5.2. Matériel et méthodes

5.2.1. Description de l'équipement LIBS utilisé

L'instrument LIBS utilisé pour les expériences est un Insight de TSI équipé avec le matériel suivant:

- Caméra: Caméra haute sensibilité ICCD à ouverture modulable, 16 bits, UV amplifiés;
- Spectromètre: spectromètre Échelle, plage d'analyse 200-1000 nm;
- Laser: 200 mJ/pulse, 1 Hz, 1064 nm Nd: YAG, énergie laser réglable de 0-100%.

Les données ont été analysées à la fois par le logiciel fourni par TSI (AddLIBS) pour la base de données de lignes spectrales ainsi que le logiciel de programmation Matlab pour la modélisation, la simulation et les manipulations spectrales.

5.2.2. Développement de méthode LIBS

Afin d'obtenir un modèle de quantification approprié, une méthodologie spécifique à des échantillons particuliers micro-hétérogènes a dû être mise au point. Les étapes suivantes décrivent le cheminement effectué pour le développement de la méthode.

Évaluation de la taille des ablations LIBS

Le volume de matière ablaté par tir LIBS a été mesuré par profilométrie l'aide d'un appareil Physik Instrumente Altisurf 500. Vingt-cinq tirs LIBS ont été effectués sur une surface de comprimé. Les tirs LIBS ont été faits avec 75 % de puissance de laser et une taille de 500 μm de diamètre puisque ce sont les paramètres d'acquisition optimaux pour l'échantillonnage des éléments d'intérêt tel que déterminé par expérimentation. Les mesures ont été prises au profilomètre avec les paramètres suivants :

- Résolution en X = 5 μm
- Résolution en Y = 5 μm
- Vitesse de la sonde = 2000 $\mu\text{m/s}$

Les données ont été analysées avec un script Matlab. Celui-ci sert premièrement à soustraire la ligne basale des données pour les centrer sur un plan pour remédier à la hauteur variable du comprimé analysé (surface légèrement en angle). Pour ce faire, les données périphériques de l'analyse sont utilisées pour faire une régression planaire, dont le résultat est soustrait des données brutes (Figure 5.1).

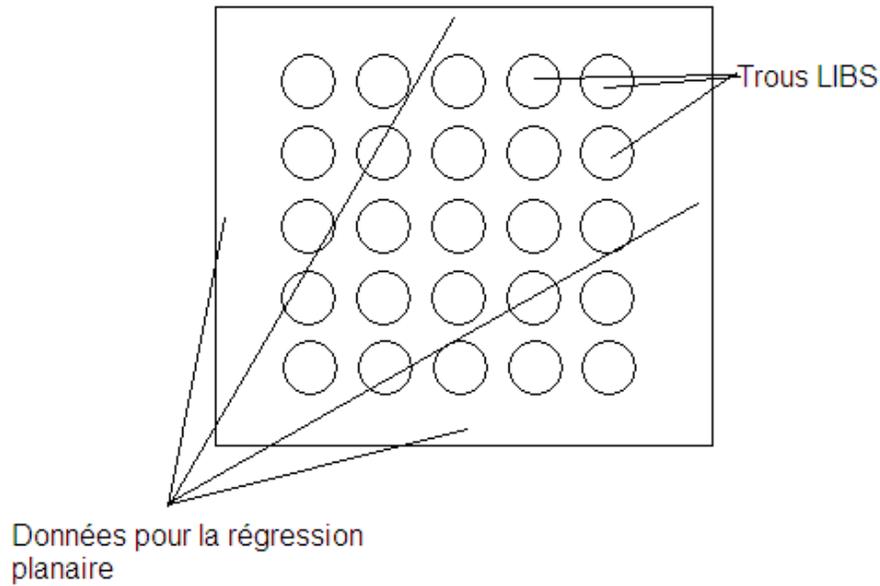


Figure 5.1: Exemple de figure obtenue au profilomètre

La Figure 5.2 montre un exemple d'une ablation LIBS vue par le profilomètre.

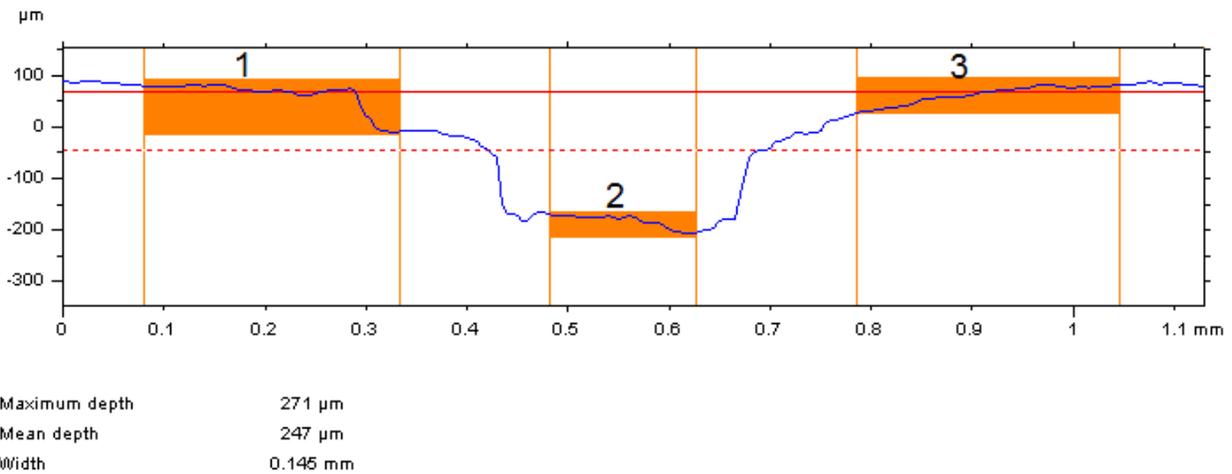


Figure 5.2: Exemple d'ablation LIBS vue par le profilomètre

Ensuite, connaissant la résolution en X et en Y (5 par 5 μm), il est possible d'estimer le volume total des trous par sommation de volumes (Équation 5.1) où V_{total} est le volume total ablaté et x , y et z sont les coordonnées dans les directions respectives. Avec cette méthode, le volume

échantillonné estimé par tir LIBS est d'environ $0,0203 \text{ mm}^3$, obtenu en divisant le volume total par le nombre de tirs soit 25 afin d'obtenir une moyenne sur plusieurs tirs.

$$V_{total} = \sum_i (xyz)_i \quad (\text{Équation 5.1})$$

Simulation de l'échantillonnage

Connaissant le diamètre de la zone échantillonnée par LIBS, il est possible de conclure que les échantillons de multivitamines peuvent être considérés comme fortement hétérogènes à cette échelle (milli/micrométrique) puisque les tailles de particules se situent entre 5-200 μm .

Il a été démontré par profilométrie que le volume échantillonné est approximativement de $0,0203 \text{ mm}^3$. La densité d'un comprimé est approximativement de $1,70 \text{ g/cm}^3$ et un comprimé de multivitamines commercial a une masse approximative de 2,20 g. Cela implique que le comprimé a un volume d'environ $1,29 \text{ cm}^3$. Le nombre de tirs requis pour échantillonner un comprimé complet peut alors être estimé à l'aide de l'Équation 5.2.

$$nb. \text{ tirs} = \frac{\text{volume comprimé}}{\text{volume échantillonné}} = \frac{1,29 \text{ cm}^3}{0,0203 \text{ mm}^3} = 6,35E4 \text{ tirs} \quad (\text{Équation 5.2})$$

Connaissant la fréquence de tir qui est environ 0,25 Hz, le temps requis peut être estimé à l'aide de l'Équation 5.3.

$$\text{temps} = \frac{nb. \text{ tirs}}{\text{fréquence tir}} = \frac{6,35E4 \text{ tirs}}{0,25 \text{ Hz}} = 2,94 \text{ jours} \quad (\text{Équation 5.3})$$

La résolution des équations indique un temps d'échantillonnage approximatif de 3 jours, ce qui n'est pas envisageable.

Afin de minimiser le temps requis pour les tests, il serait favorable de réduire le nombre de tests. De plus, avec un aussi grand nombre de données, la manipulation des données devient ardue, voire impossible (dans l'ordre d'une centaine de giga-octets par comprimé).

Pour ce faire, une simulation du procédé d'échantillonnage a été générée pour modéliser la fréquence d'échantillonnage de chaque type de particules. Cette simulation a été effectuée sur Matlab avec la logique suivante :

- Générer un cylindre de mêmes dimensions qu'un comprimé de multivitamines;
- Générer aléatoirement 10 particules ayant un diamètre défini à l'intérieur des limites du cylindre;
- Générer aléatoirement un tir laser demi-sphérique ayant le volume calculé par profilométrie à la surface du cylindre;
- Déterminer si les volumes de particules intersectent le volume d'échantillonnage;
- Itérer les quatre étapes précédentes jusqu'à la convergence du ratio succès/échec.

Au final, la Figure 5.3 montre une représentation du modèle d'échantillonnage proposé : le cylindre bleu correspond au comprimé, les gros points noirs correspondent aux ablations laser et les petits points noirs correspondent aux particules à échantillonner.

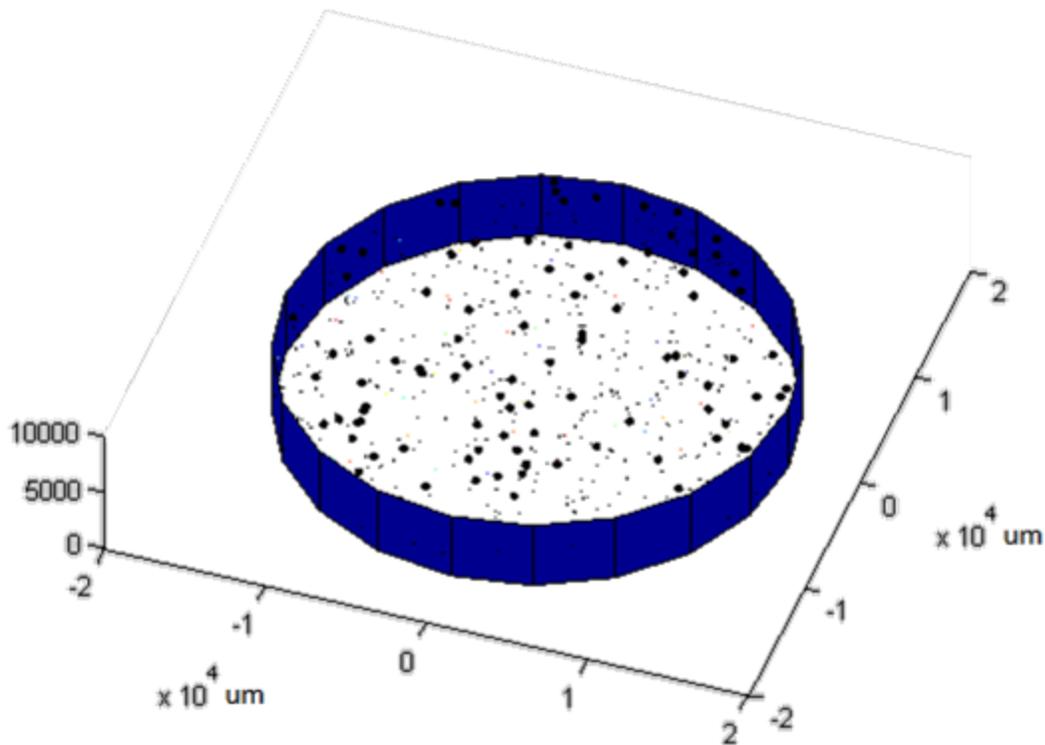


Figure 5.3: Représentation 3D de la simulation où le cylindre bleu correspond au comprimé, les gros points noirs correspondent aux ablations laser et les petits points noirs correspondent aux particules à échantillonner

Plusieurs hypothèses sont nécessaires afin d'appliquer cette simulation au processus d'échantillonnage de comprimés multivitaminés:

- Les particules de chaque composant sont distribuées au hasard dans la tablette;
- La taille des particules est constante à la valeur définie;
- L'échantillonnage d'une seule particule d'un composant quelconque donne une concentration locale au-dessus de la limite de détection de l'instrument;
- L'échantillonnage de 30 particules est suffisant pour obtenir un échantillon représentatif du comprimé complet selon le théorème central limite.

Il était alors possible de déterminer une méthode d'échantillonnage en fonction du composé limitant dans le mélange (le moins probable à être échantillonné). Les résultats d'un modèle théorique ont été comparés avec ceux de la simulation.

Modèle théorique d'échantillonnage

Le modèle théorique d'échantillonnage est basé sur le fait qu'à un nombre de particules suffisamment élevé dans un comprimé, comme dans le cas présent (10^3 - 10^9 particules), celles-ci seront uniformément distribuées s'il n'y a pas de phénomènes de ségrégation.

Pour estimer la fréquence (F) tel qu'effectué avec la simulation, une simple règle proportionnelle est appliquée entre le volume échantillonné et le volume total du comprimé tel que décrit par l'Équation 5.4 où F est la fréquence, V_{tir} est le volume ablaté par un tir laser, V_t est le volume total du comprimé et $\#p$ est le nombre de particules au total dans le comprimé. Les fréquences d'échantillonnage peuvent être calculées pour un cas homogène et uniformément distribué.

$$F = \frac{V_{tir}}{V_t} * \#p \quad (\text{Équation 5.4})$$

Par exemple, si un volume de tir est de 1 mm^3 et le volume total du comprimé est de 100 mm^3 , 1 % de la matière est ablatée à chaque tir. S'il-y-a 100 particules dans le comprimé, cela fera $F = \frac{1}{100} * 100 \text{ particules} = 1$ pour le calcul de fréquence. Ceci signifie qu'en moyenne, une particule sera échantillonnée par tir.

Calculs du temps d'échantillonnage requis

À l'aide de la fréquence d'échantillonnage connue par la simulation, l'étape subséquente consiste à déterminer un nombre de tirs par échantillonnage. Pour ce faire, les probabilités Poissonniennes sont appliquées.

La loi de Poisson permet de calculer la probabilité d'occurrence d'un nombre défini d'événements dont la moyenne d'occurrences est connue. La probabilité est définie par l'Équation 5.5 où P est la probabilité d'avoir k occurrences (nombre entier) ayant un nombre moyen d'occurrences λ dans une fenêtre définie.

$$P(X = k) = e^{-\lambda} \frac{\lambda^k}{k!} \quad (\text{Équation 5.5})$$

Dans la situation d'intérêt, λ est la fréquence calculée par simulation (nombre de particules moyen échantillonné par tir) et k est le nombre d'occurrences voulues. Ce nombre d'occurrences (k) est fixé arbitrairement à 30 selon le théorème central limite. Ce choix signifie que si près de 30 particules sont échantillonnées, une quantification adéquate devrait être possible.

Finalement, il faut fixer un pourcentage de probabilité d'échantillonner ces 30 particules. Cette variable est aussi arbitrairement fixée à 95 % pour éviter des nombres de tirs trop élevés sans que ce soit nécessaire. C'est pourquoi il est estimé que ce nombre d'occurrences permettra d'optimiser la quantification des éléments dans les multivitamines tout en minimisant le nombre de tirs requis.

La Figure 5.4 montre la probabilité de Poisson à un nombre d'occurrences constant à 30 en fonction de λ . D'autre part, la Figure 5.5 montre la probabilité cumulative de Poisson en fonction de λ , avec un trait rouge montrant la valeur de λ permettant d'obtenir une probabilité cumulative de 95 %.

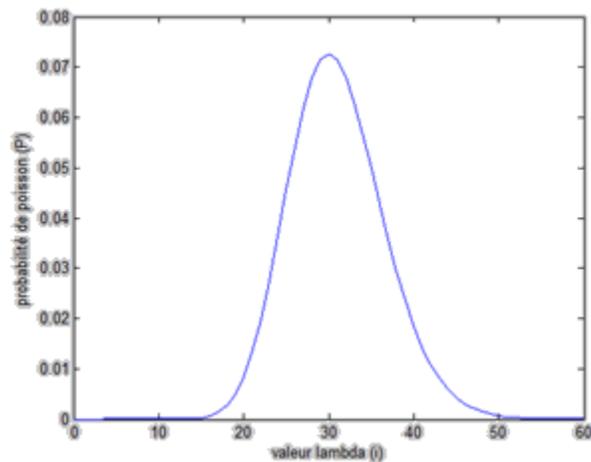


Figure 5.4: Graphique de la probabilité en fonction de λ (i)

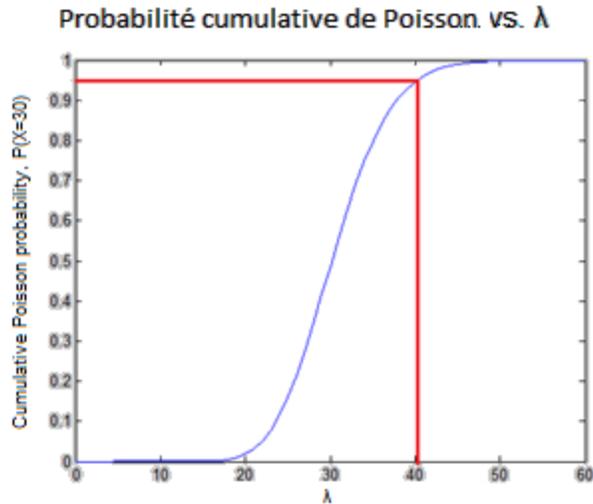


Figure 5.5: Obtention de λ correspondant à une probabilité cumulative de 95% ($\lambda = 40,4$)

Par définition, λ est relié au nombre de tirs requis par l'Équation 5.6. C'est donc possible de déterminer un nombre de tirs laser requis pour avoir 95 % de probabilité d'obtenir 30 succès (particules échantillonnées).

$$\#tirs = \frac{\lambda}{\#succes/tir} \quad (\text{Équation 5.6})$$

Vérification des hypothèses de simulation

Une des hypothèses du modèle d'échantillonnage proposé est qu'un échantillonnage d'une seule particule dans un tir est dans un volume de matière d'une concentration supérieure à la limite de détection de l'appareil. Le fournisseur de l'appareil LIBS a fourni des limites de détection pour la majorité des éléments d'intérêt dans les formulations de suppléments multivitaminés (**Error! Reference source not found.**).

Tableau 5.1 : Limites de détection pour divers éléments avec l'instrument LIBS

Élément	Limite de détection LIBS Insight (%)	Composition typique (%)
Ca	0,001	10
Fe	0,003	0,5
Mg	0,001	5
Zn	0,005	1
Cu	0,002	0,01
Mn	0,003	0,1
K	0,001	5
Cr	0,005	0,005
Mo	0,003	0,005
V	0,002	0,0005

Les LOD des éléments manquants ont été ajoutés en fonction de références de la littérature scientifique (disponible dans la revue de la littérature). Afin de valider l'hypothèse, la concentration locale à l'endroit échantillonné est comparée à la LOD théorique.

La seconde hypothèse de la simulation est basée sur le fait que les particules d'un composé ont un diamètre uniforme et fixe. La simulation peut être utilisée pour démontrer la validité de cette hypothèse. Pour ce faire, une distribution de tailles de particules est proposée ayant une taille moyenne volumique de 50 μm alors que la moyenne des diamètres est de 11,6 μm :

- 9 particules de 1 μm
- 1 particule de 107 μm

Selon l'hypothèse de la simulation, cette distribution extrême devrait se comporter de la même façon qu'un mélange homogène de 10 particules de 50 μm . Les résultats des simulations avec des particules de 50 μm ont donc été comparés par test de t-Student avec les résultats de cette distribution. Les résultats sont présentés dans la section Résultats : Vérification des hypothèses de simulation.

Vérification expérimentale du modèle d'échantillonnage

Le procédé d'échantillonnage a été modélisé théoriquement ainsi que simulé. Les résultats étant très semblables pour les deux scénarios, cela confirme ainsi la validité de la simulation avec les hypothèses posées. Toutefois, il est pertinent de vérifier l'applicabilité de ces modèles sur des

échantillons réels. Pour ce faire, des échantillons commerciaux typiques ont été broyés et comprimés avec le même protocole que celui appliqué pour les tests LIBS.

Les paramètres d'acquisition utilisés sont les suivants : 75 % puissance laser, 3,7 μs de *gate delay*, 15 μs de *gate width*, un diamètre de tir de 500 μm et un gain de 2000 (choisi pour maximiser le signal sans obtenir une saturation de la caméra).

Le critère utilisé pour déterminer l'absence ou la présence d'un élément est fonction de son SNR. De plus, afin de permettre le traitement d'une grande quantité de spectres séquentiellement, les SNR ont été calculés par un algorithme Matlab. Voici les étapes du calcul :

- Déterminer un pic caractéristique de l'élément étudié;
- Déterminer les bornes inférieures et supérieures du pic (limites gauche et droite du pic);
- Calcul de la ligne basale;
 - o Lisser les spectres par un algorithme Savitzky-Golay (degré 2, 51 points ou 15 points en fonction des conditions locales tel que la présence d'un pic chevauché ou non);
 - o Déterminer la droite passant par les deux points de la courbe lissée ayant les abscisses des deux bornes déterminées précédemment;
 - o Interpoler la valeur de cette droite à l'abscisse du pic, l'ordonnée de ce point correspond à la ligne de base;
- Calcul de l'intensité nette;
 - o Calculer l'intensité nette en faisant la soustraction de la ligne de base de l'intensité brute obtenue par l'intensité du spectre brut à l'abscisse du pic;
- Calcul du bruit de mesure;
 - o Calculer la différence entre les spectres bruts et les spectres lissés pour les 50 points en amont de la borne inférieure et les 50 points en aval de la borne supérieure;
 - o Calculer l'écart-type de ces points pour obtenir la valeur du bruit;
- Calculer le SNR en divisant l'intensité nette par le bruit de mesure.

La limite d'identification du pic est obtenue lorsque le SNR est supérieur ou égal à 3. Trois cents tirs ont été effectués sur les échantillons choisis et chacun des spectres a été classifié comme ayant absence ou présence de l'élément étudié.

Étude de l'effet de divers cas d'hétérogénéités dans des comprimés

Le niveau d'homogénéité des comprimés pharmaceutiques peut avoir un effet catastrophique sur des échantillonnages LIBS considérant le faible pourcentage de matière qui est échantillonné par

la méthode ainsi que le fait que seulement la surface de l'échantillon peut être analysée. Le développement de la simulation permet d'évaluer l'effet de divers types d'hétérogénéités sur les échantillonnages LIBS. Toutefois, puisque les efforts de quantification prétendent comme hypothèse que les échantillons sont macro-homogènes, cette section ne sera pas élaborée en détail.

Sept types de ségrégation sont volontairement simulés et leurs résultats sont comparés à ceux d'un cas homogène. Voici les sept cas étudiés (par simulation seulement):

- Ségrégation ou mélange inadéquat/incomplet
 - o Axial
 - Axial 1 : Particules concentrées à la surface de l'échantillon (inverse de la Figure 5.8)
 - Axial 2 : Particules concentrées vers le bas de l'échantillon (Figure 5.8)
 - o Latéral
 - Latéral 1 : Particules concentrées dans un seul cadran du comprimé (Figure 5.6)
 - Latéral 2 : Particules concentrées vers le centre du comprimé (Figure 5.7)
- Agglomération
 - o Faible agglomération : Agglomérats ayant un diamètre équivalent à 2 fois le diamètre des particules
 - o Moyenne agglomération : Agglomérats ayant un diamètre équivalent à 10 fois le diamètre des particules
 - o Forte agglomération : Agglomérats ayant un diamètre équivalent à 20 fois le diamètre des particules

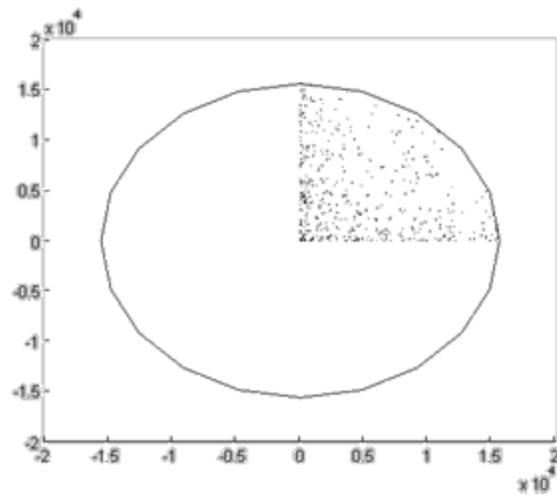


Figure 5.6 : Simulation avec hétérogénéité latérale forcée (latéral 1).

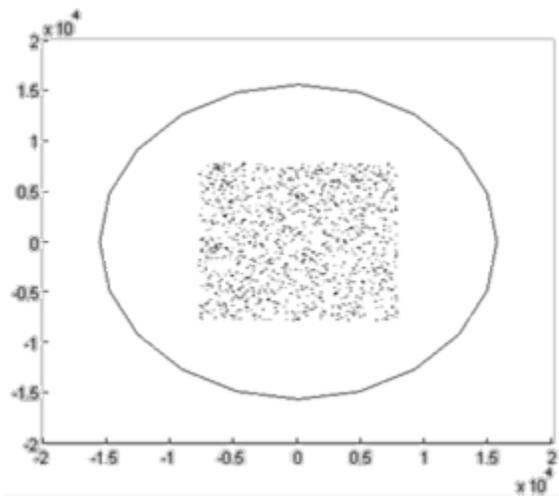


Figure 5.7 : Simulation avec hétérogénéité latérale forcée (latéral 2).

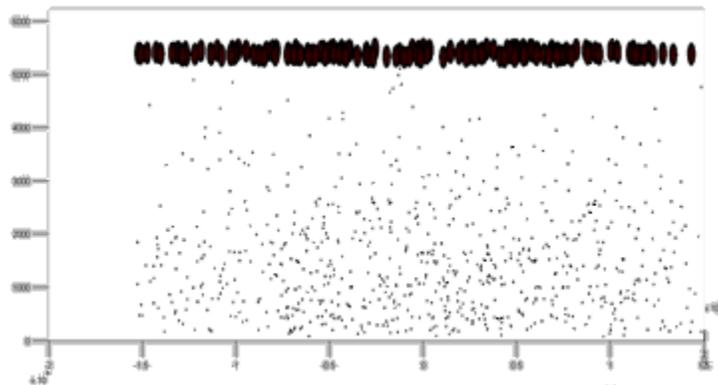


Figure 5.8 : Simulation avec hétérogénéité axiale forcée (Axial 1 et 2). Les points noirs de grande taille correspondent aux échantillonnages simulés alors que ceux de petite taille correspondent aux particules simulées avec un biais axial.

Les résultats de simulation avec tous ces types de ségrégation sont comparés par analyse statistique et la méthode de Tukey est appliquée comme méthode d'analyse Post-Hoc puisque la comparaison de plusieurs groupes doit être effectuée.

Optimisation des paramètres d'acquisition

Afin d'optimiser les paramètres d'acquisition pour chaque élément à quantifier dans la formule de multivitamines, un plan expérimental a été élaboré. Un plan factoriel complet a été choisi avec des points centraux, tous testés en triplicatas, étant donné le peu de temps nécessaire pour les tests LIBS. Les plages d'intérêt pour le plan sont présentées dans le Tableau 5.2. Les résultats expérimentaux ont été analysés à l'aide du logiciel Statistica (version 10) de Statsoft et ces résultats sont présentés dans la section Résultats : Optimisation des paramètres d'acquisition.

Tableau 5.2: Variation des facteurs pour le plan d'expérience d'optimisation des paramètres d'acquisition

Facteur	Minimum	Centre	Maximum
Puissance laser (%)	50	75	100
Gate delay (μ s)	0,3	2	3,7
Gate width (μ s)	1	8	15
Diamètre de tir (μ m)	50	300	500
Gain	500	2250	4000

Les échantillons ont été préparés manuellement avec les matières premières et une presse manuelle. Un échantillon par élément à quantifier a été préparé. Les échantillons contenaient une concentration élevée de leur élément respectif: 50 % (masse/masse) du composé d'intérêt contenant l'élément, 40 % (masse/masse) de cellulose microcristalline et 10 % (masse/masse) de stéarate de magnésium. Les composants ultérieurs ont été ajoutés pour assurer une compression et intégrité adéquate des comprimés ainsi que pour faciliter l'éjection post-compression. Les échantillons ont été pressés à 3500 psi pendant 5 secondes.

La variable de réponse choisie pour l'analyse du plan d'expérience a été le SNR du pic d'intensité la plus élevée pour chaque élément qui n'était pas sujet à des interférences ou des chevauchements de pics voisins.

5.2.3. Quantification de minéraux dans des multivitamines avec LIBS

Échantillonnage

Suite aux résultats de simulation, le nombre de tirs nécessaires pour obtenir un échantillonnage représentatif du comprimé a pu être évalué et ce nombre s'élève à 220. Le modèle d'échantillonnage proposé est une matrice de 7 (longueur) x 6 (largeur) x 6 (profondeur) tirs, totalisant 252 tirs soit un peu plus du minimum de 220 afin d'ajouter un facteur de sécurité de 15 %.

Modélisation et critères de performance

Une méthode d'analyse univariée a été comparée à une approche multivariée. L'analyse univariée a été effectuée en corrélant l'intensité des pics élémentaires avec leur concentration théorique. Le pic ayant l'intensité la plus élevée et qui ne possédait pas de pics qui le chevauchent a été choisi pour cette analyse. Ce choix est basé sur le fait que chacun des éléments possède un très grand nombre de pics et le temps requis pour évaluer la pertinence de chacun des pics serait trop grand. Par contre, la présence de ces pics dans les bases de données NIST a été confirmée. Le Tableau 5.3 correspond aux longueurs d'onde choisies.

Tableau 5.3 : Longueurs d'onde utilisées pour l'analyse quantitative LIBS

Élément	Longueur d'onde
Mo	379,83 nm
Zn	481,05 nm
K	404,41 nm
Mg	448,11 nm
Cu	521,82 nm
V	609,02 nm
Fe	438,35 nm
Cr	520,60 nm
Mn	344,20 nm
Ca	393,36 nm

Dans l'approche multivariée, les modèles PLS ont été construits pour chaque élément et chaque instrument. Le nombre de variables latentes a été choisi en minimisant l'erreur de prédiction tout en cherchant à limiter le nombre de variables latentes utilisées par le modèle.

Pour l'évaluation de la performance des modèles, plusieurs critères ont été utilisés. L'erreur moyenne de prédiction (MEP) a été calculée pour évaluer l'erreur de prédiction et le coefficient de détermination (R^2) a été utilisé pour évaluer la linéarité. Pour les modèles multivariés, la linéarité des données de prédiction a également été étudiée. Enfin, les valeurs d'importance des variables dans la projection (VIP) représentent les variables qui sont les plus influentes sur la prédiction. Ainsi, elles contiennent des informations sur la robustesse du modèle si l'analyste est en mesure de relier ces variables avec des liens de cause à effet potentiels. Toutes les valeurs-p présentées correspondent à des résultats de comparaison par test-t de Student, unilatéral et par paires afin de comparer les prédictions élément par élément.

Tous les spectres LIBS pour chaque comprimé analysé ont été moyennés pour un total de 252 spectres par observation, ce qui donne une matrice de données $X(29 \times 40\ 002)$ soit 29 échantillons et 40 002 longueurs d'onde mesurées par l'instrument LIBS. Les spectres obtenus ont été normalisés en fonction de la lumière totale selon l'Équation 5.7.

$$var_norm(i) = \frac{var(i)}{\sum_{i=1}^{nb.vars} var(i)} \quad (\text{Équation 5.7})$$

Où $var(i)$ est la variable i , $var_norm(i)$ est la variable normalisée i et $nb.vars$ est le nombre total de variables dans le spectre.

Après cette normalisation, un algorithme SNV (*Standard Normal Variate*) et des algorithmes de centrage et de réduction des données ont été appliqués. Un algorithme SNV consiste en une normalisation en fonction des observations qui divise chaque variable par la moyenne de l'observation. De même, un centrage et réduction consiste en une normalisation en fonction de chaque variable dans laquelle la variable moyenne est soustraite de chaque observation et divisée par son écart-type.

5.3. Résultats et discussion

5.3.1. Développement de méthode LIBS

Simulation de l'échantillonnage

La simulation génère un rapport entre le nombre d'échantillonnages réussis divisés par le nombre d'échantillonnages total. Ensuite, cette valeur doit être corrigée pour obtenir une fréquence d'échantillonnage (F) en corrigeant pour le nombre de particules présentes tel que présenté par l'Équation 5.8.

$$Ratio = \frac{nb.succès}{nb.échantillons\ total} = \frac{10}{nb.échantillons\ total} \quad (\text{Équation 5.8})$$

Le numérateur dans le calcul du ratio correspond au nombre de réussites obtenues pendant le processus de simulation. La simulation effectue des itérations en boucle jusqu'à ce que cette valeur atteigne 10 succès. Ensuite, la fréquence (F) peut être calculée avec l'Équation 5.9.

$$F = Ratio * nb.particules \quad (\text{Équation 5.9})$$

La Figure 5.9 est un exemple de l'évolution de la moyenne cumulative vs le nombre d'itérations pour une taille de particules moyenne de 50 microns.

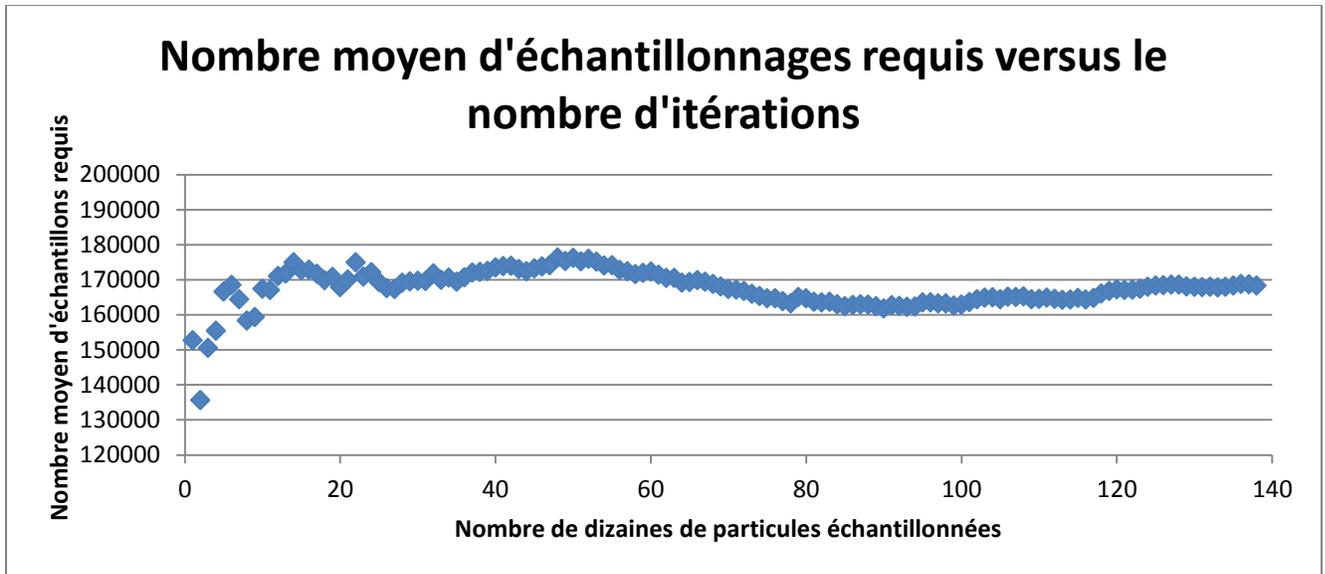


Figure 5.9: Graphique de convergence des résultats de la simulation

Après environ 1400 particules échantillonnées dans la simulation, le nombre moyen d'échantillons requis pour obtenir 10 échantillonnages de particules se stabilise à environ 168 000. Cela signifie que cette proportion d'échantillonnage peut être attendue dans le cas d'un échantillon réel d'un même nombre de particules. Une variation de la taille de particule simulée peut influencer cette valeur. Pour cette raison, des tailles de particules multiples ont été simulées (μm) : 0,1, 2, 25, 75 et 100. La Figure 5.10 représente les résultats du nombre moyen d'échantillonnages nécessaires en fonction de la taille des particules pour les 5 tailles proposées.

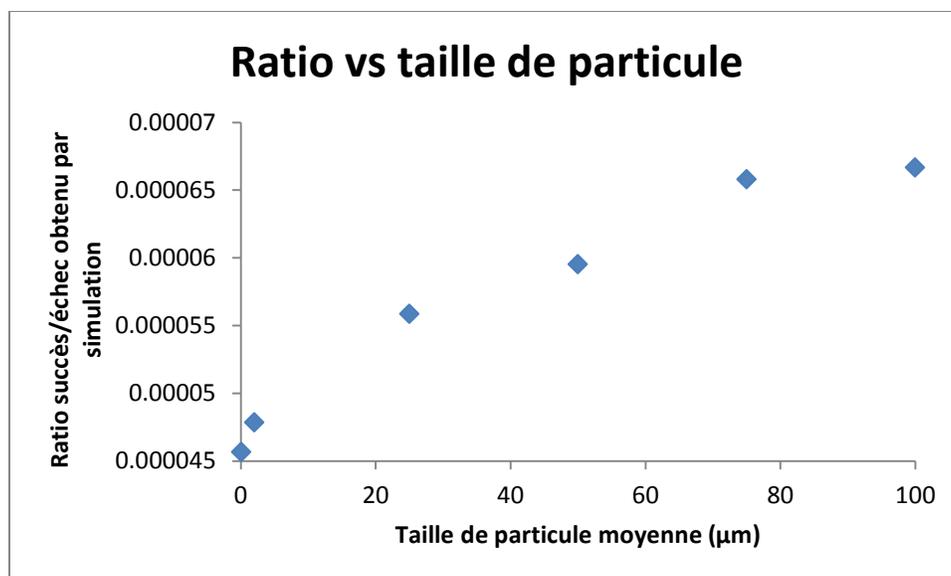


Figure 5.10: Graphique de corrélation entre la taille de particules et le ratio de simulation

Malgré l'allure légèrement courbée, il a été choisi d'approximer une relation linéaire dans la plage étudiée soit de 0,1 à 100 µm.

Des ratios spécifiques peuvent être interpolés pour chaque élément d'intérêt en fonction de sa taille de particule moyenne estimée par imagerie. Le Tableau 5.4 montre les ratios interpolés ainsi que la fréquence calculée associée à ces paramètres.

Tableau 5.4: Résultats des ratios interpolés et des fréquences

Élément	Taille de particule moyenne (µm)	Ratio interpolé	Fréquence (F)
Ca	30	5,44E-05	626
Mg	3	4,86E-05	2,8E+04
Zn	5	4,91E-05	8,9E+02
Fe	20	5,23E-05	45
K	35	5,55E-05	61
Cu	40	5,65E-05	0,58
Cr	15	5,12E-05	4
Mo	23	5,28E-05	0,16
Mn	15	5,12E-05	23
V	5	4,91E-05	1,0

Les éléments ayant une fréquence élevée devraient être échantillonnés à chaque tir laser. D'autre part, les composants tels que Mo qui ont une fréquence inférieure à 1, ne devraient pas être

échantillonnés à chaque tir. Cela signifie que de multiples tirs laser sont nécessaires pour obtenir un échantillon suffisant pour être représentatif du comprimé total.

Comparaison entre les résultats théoriques et simulés

Le Tableau 5.5 compare les résultats entre les deux méthodes de calcul. Selon cette comparaison, il est possible de constater que les deux modèles convergent vers des résultats similaires avec une erreur moyenne de 8 %. Cette erreur est possiblement due au fait que la simulation est basée sur un nombre défini d'itérations plutôt qu'une infinité d'itérations.

Tableau 5.5 : Comparaison entre les fréquences obtenues par simulation et par un calcul théorique

Élément	F théorique	F simulation	% différence
Ca	862	709	18
Mg	3,10E+04	3,20E+04	-7
Zn	9,70E+02	1,00E+03	-4
Fe	57	51	10
K	88	69	21
Cu	0,87	0,66	24
Cr	4,6	4	5
Mo	0,21	0,18	12
Mn	27	26	5
V	1,1	1,2	-4

Calculs du temps d'échantillonnage requis

La probabilité de Poisson cumulative peut être tracée pour $k = 30$ tel que représenté dans la Figure 5.5. À partir de cette courbe, une valeur de $\lambda = 40,4$ est obtenue pour un degré de confiance de 95 %. Ensuite, le nombre de tirs laser requis peut être déterminé par l'Équation 5.10 qui correspond à une équivalence de l'Équation 5.6).

$$\# \text{ tirs} = \frac{\lambda}{F} \quad (\text{Équation 5.10})$$

Sachant qu'un tir laser nécessite environ 4 secondes avec la méthodologie expérimentale proposée y compris l'intégration de données par l'ordinateur), le temps d'échantillonnage nécessaire peut être estimé pour chaque élément et ces résultats sont présentés dans le Tableau 5.6.

Tableau 5.6: Résultats des temps requis pour échantillonner chacun des éléments d'intérêt dans la formulation proposée (entre parenthèses se trouve le nombre de tirs calculé, puisque c'est impossible d'effectuer une fraction de tir)

Élément	Tirs requis	Temps requis (min)
Ca	0,06	1 (0,004)
Mg	0,001	1 (0,0001)
Zn	0,04	1 (0,003)
Fe	0,8	1 (0,05)
K	0,6	1 (0,04)
Cu	62	4
Cr	9	1 (0,6)
Mo	220	15
Mn	2	1 (0,1)
V	35	2

Ce tableau montre que tous les 10 éléments peuvent être théoriquement quantifiés en 15 minutes en sachant que le Mo est l'élément qui nécessite le nombre maximum de tirs laser pour la quantification, en raison de sa taille de particule relativement grande et sa faible concentration.

Vérification des hypothèses de simulation

Le Tableau 5.7 compare les concentrations locales estimées avec les LOD théoriques pour chacun des éléments. Ces concentrations locales correspondent à la concentration obtenue si une seule particule est présente dans le volume ablaté.

Tableau 5.7: Évaluation des concentrations locales d'un tir LIBS

Élément	LOD LIBS (%)	Taille particule moyenne (µm)	Masse volumique (g/mL)	Concentration locale (%)	Différence avec LOD (%)	F théorique
Ca	0,001	30	2,75	0,070	6864	862
Fe	0,003	20	2,44	0,018	510	57
Mg	0,001	3	3,58	0,00009	-91	30500
Zn	0,005	5	5,61	0,00066	-87	973
Cu	0,002	40	3,6	0,216	10705	0,87
Mn	0,003	15	3,25	0,010	243	27
K	0,001	35	1,98	0,080	7862	88
Cr	0,005	15	1,57	0,00497	-0,6	4,6
Mo	0,003	23	3,78	0,043	1338	0,21
V	0,002	5	5,15	0,001	-70	1,1

Les éléments ayant des concentrations locales inférieures aux LOD fournies par TSI ne devraient pas être détectables si une seule particule est échantillonnée, donc la simulation ne pourrait pas s'appliquer. Toutefois, dans le cas de Mg, Zn et Cr, les concentrations totales sont suffisamment élevées pour qu'il soit très peu probable qu'il y ait seulement une particule dans un échantillonnage; en comparant avec le F théorique qui correspond au nombre de particules moyen dans chaque échantillonnage avec une distribution uniforme.

Finalement, le V semble être le seul élément problématique pour lequel l'hypothèse ne peut pas s'appliquer puisque ses particules sont trop petites pour offrir une concentration locale suffisante pour dépasser la LOD théorique. De plus, la concentration dans le comprimé n'est pas suffisante pour assurer une distribution des particules adéquate au niveau microscopique.

En ce qui concerne l'hypothèse d'approximation de la distribution de tailles de particules par une taille moyenne, le Tableau 5.8 compare les résultats de simulation entre un diamètre de particule constant versus un diamètre variable à l'extrême (écart maximal entre les tailles de particules en conservant le même diamètre moyen).

Tableau 5.8: Comparaison des résultats de simulations employant des tailles de particules constantes vs des tailles de particules variables

Essai	Nombre d'échantillonnages requis par la simulation à diamètre de particule constant	Nombre d'échantillonnages requis par la simulation à diamètre de particule variable
1	160632	277792
2	144747	135544
3	101618	239054
4	195035	137164
5	175189	265862
6	222154	255157
7	179901	110382
8	135777	178040
9	109763	193218
10	168651	132533
11	248111	176216
12	162688	210242
13	219658	161690
14	180635	172729
15	219658	235274
16	138374	139807
17	176414	271428
18	151441	156782
19	137497	241164
20	187407	166171
n/a	Valeur-p	0.07

Selon cette comparaison par t-test, il est possible d'affirmer à 95% de confiance que les deux populations sont confondues. Ceci signifie que l'hypothèse est valide dans les conditions proposées puisque le cas étudié est d'une variabilité maximale entre les tailles de particules, ce qui n'est pas le cas dans des échantillons réels.

Vérification expérimentale du modèle d'échantillonnage

Le Tableau 5.9 montre les résultats pour les 10 éléments d'intérêt. Dans le cas où le modèle simulé représente un cas réel d'échantillonnage, le ratio calculé devrait être similaire au ratio attendu. Le nombre de spectres où un pic élémentaire d'un élément spécifique a été identifié a

été compté et comparé au nombre de spectres en absence de ce pic. Le ratio correspond au nombre de pics identifié divisé par le nombre de spectres total. Le ratio attendu correspond au F théorique calculé précédemment lorsque celui-ci est entre 0 et 1 et lorsque le F théorique est supérieur à 1, ce ratio demeure à 1 (puisque c'est impossible d'avoir plus de 100 % d'identification de pics).

Tableau 5.9: Tableau comparant les ratios attendus avec les ratios observés expérimentalement

Élément	Pic théorique (nm)	Nb. pics identifiés	Nb. Pics absents	F théorique	Ratio calculé	Ratio attendu
Mo	379,83	132	168	0,21	0,4	0,21
Zn	334,56	300	0	973	1	1
K	769,90	300	0	88	1	1
Mg	383,83	300	0	30500	1	1
Cu	324,75	300	0	0,87	1	0,87
V	270,09	17	283	1,1	0,06	1
Fe	275,57	282	18	57	0,9	1
Cr	359,34	300	0	4,6	1	1
Mn	403,36	300	0	27	1	1
Ca	393,36	300	0	862	1	1

Il existe diverses sources d'erreurs pouvant expliquer les différences observées entre les modèles théoriques et la réalité expérimentale. Voici les hypothèses principales pouvant expliquer ces différences :

Types d'erreurs

- 1- La taille de particule n'est pas estimée adéquatement (utilisation d'un algorithme d'imagerie et seulement un petit échantillon est analysé);
- 2- Dans le cas du V, la faible concentration locale (dans une ablation LIBS) d'une seule particule est possiblement sous la limite de détection tel que démontré dans la vérification des hypothèses de simulation, donc avec un F théorique de seulement 1,1, il y a de fortes probabilités d'obtenir une seule particule dans un échantillonnage et tomber sous la LOD;
- 3- De plus, lorsque le F théorique est près de 1, il est probable que certains échantillonnages ne contiennent aucune particule.

Le Tableau 5.10 montre les sources d'erreurs probables pour chacun des éléments où les ratios attendus ne concordent pas avec les ratios observés.

Tableau 5.10: Sources d'erreurs probables pour chacun des éléments

Élément	Source d'erreur probable
Mo	1 et 3
Zn	n/a
K	n/a
Mg	n/a
Cu	1 et 3
V	1 et 2
Fe	1 et 3
Cr	n/a
Mn	n/a
Ca	n/a

Étude de l'effet de divers cas d'hétérogénéités dans des comprimés par simulation

Quinze itérations de chaque scénario ont été faites pour la comparaison de chaque scénario. Le scénario Axial 2 a dû être retiré de l'analyse, car ses résultats étaient largement différents (100 fois plus grande) des autres groupes et la valeur du carré moyen était considérablement influencée et biaisait l'analyse. Le Tableau 5.11 montre quelques descriptifs des groupes étudiés alors que le Tableau 5.12 montre les résultats de l'ANOVA générés à partir des résultats de simulations.

Tableau 5.11: Description des groupes soumis à l'ANOVA

<i>Groupes</i>	<i>n</i>	<i>Somme groupe</i>	<i>Moyenne groupe</i>	<i>Variance groupe</i>
Latéral 1	15	2,62E+06	1,75E+05	1,75E+09
Latéral 2	15	2,42E+06	1,62E+05	2,54E+09
Latéral 3	15	2,21E+06	1,47E+05	1,80E+09
Agglomération 2X	15	2,39E+06	1,59E+05	2,41E+09
Agglomération 10X	15	9,59E+05	6,39E+04	2,90E+08
Agglomération 20X	15	5,55E+05	3,70E+04	2,82E+08
Axial 1	15	1,07E+06	7,14E+04	3,47E+08

Tableau 5.12: Résultats de l'ANOVA pour comparer les différents cas d'hétérogénéités

Source de Variation	SS	df	MS	F	Valeur-p	F crit
Inter-groupes	2,92E+11	6	4,87E+10	36,1	8,94E-23	2,19
Intra-groupes	1,32E+11	98	1,35E+09	n/a	n/a	n/a
Total	4,24E+11	104	n/a	n/a	n/a	n/a

Les résultats d'analyse de variance montrent une différence significative ($p = 8.9E-23$) entre au moins deux des groupes. Afin de déterminer quels groupes diffèrent des données homogènes, une analyse post-hoc de Tukey a été réalisée. La différence minimale requise pour obtenir une différence significative ($\alpha = 0,05$) a été calculée à $4,4E4$ en fonction de l'Équation 5.11. Le Tableau 5.13 montre les différences moyennes entre les groupes, les résultats en gras et soulignés étant considérés comme significatifs par l'analyse de Tukey.

$$\text{différence minimale} = q_{crit} * \sqrt{\frac{MS_{intra}}{n}} \quad (\text{Équation 5.11})$$

Où q_{crit} est tabulé dans des tables de statistiques de Tukey ($k = 7$ traitements; $df = \text{infini}$; $q_{crit} = 4,17$), MS_{intra} est le carré moyen intra-groupe et n est le nombre d'échantillons dans un groupe.

Tableau 5.13: Différences entre les moyennes des différents cas d'hétérogénéités par le test de Tukey

	Homogène	Latéral 1	Latéral 2	Agglomération (2X)	Agglo. (10X)	Agglo. (20X)	Axial 1
Homogène	-	-	-	-	-	-	-
Latérale 1	1,33E+04	-	-	-	-	-	-
Latérale 2	2,78E+04	1,44E+04	-	-	-	-	-
Agglomération (2X)	1,58E+04	2,46E+03	1,20E+04	-	-	-	-
Agglomération (10X)	<u>1,11E+05</u>	<u>9,77E+04</u>	<u>8,32E+04</u>	<u>9,52E+04</u>	-	-	-
Agglomération (20X)	<u>1,38E+05</u>	<u>1,25E+05</u>	<u>1,10E+05</u>	<u>1,22E+05</u>	2,70E+04	-	-
Axiale 1	<u>1,04E+05</u>	<u>9,03E+04</u>	<u>7,58E+04</u>	<u>8,78E+04</u>	7,42E+03	3,44E+04	-

Les valeurs en gras et soulignés sont celles qui ont des différences significatives avec le cas homogène. Dans ce cas, les trois cas de figure de séparations latérales et le scénario d'agglomération 2X ne sont pas significativement différents du groupe homogène. Au contraire,

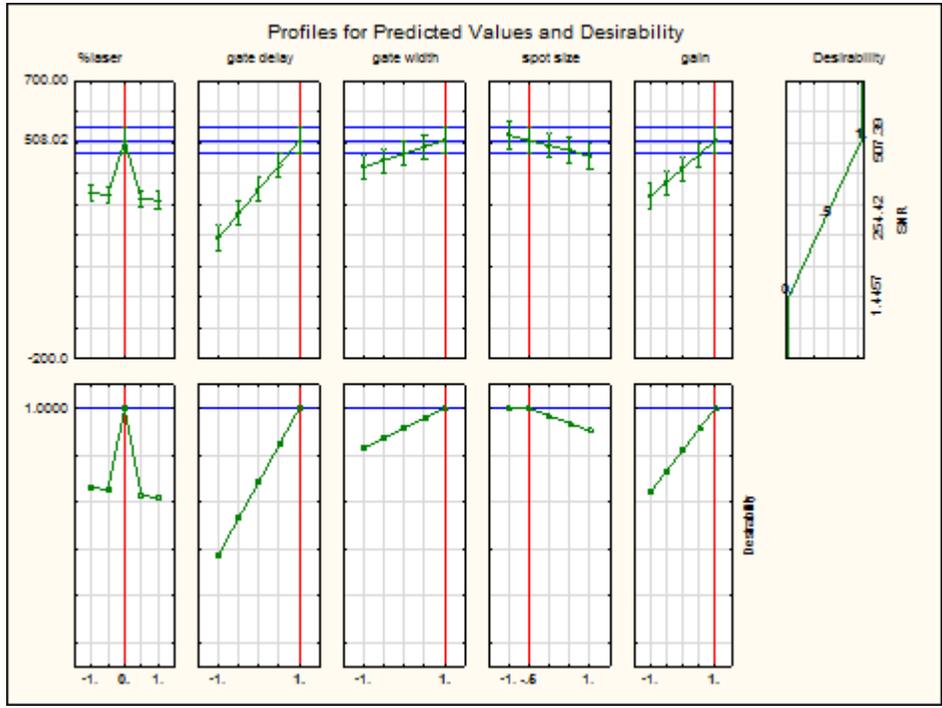
les cas d'agglomération 10X et 20X ainsi que le cas de ségrégation axiale sont significativement différents du groupe homogène.

Compte tenu de ces résultats de simulation, les grandes agglomérations de particules doivent être considérées dans la planification d'expériences LIBS quantitatives. Également, une ségrégation axiale doit aussi être considérée si possible, mais ce n'est pas le cas pour la ségrégation latérale. Cette grande différence est provoquée par le fait que l'échantillonnage LIBS doit être effectué à la surface de l'échantillon. En générant une ségrégation latérale, la probabilité de l'échantillonnage dans une portion de la tablette est réduite, mais elle est aussi augmentée dans la partie complémentaire. En ce qui concerne la ségrégation axiale, la seule partie de la tablette exposée à l'échantillonnage est soit augmentée ou réduite en nombre de particules provoquant une variation significative dans les résultats de la simulation. Les scénarios d'agglomération agissent similairement à une réduction du nombre de particules qui n'est que légèrement affecté dans la simulation, mais subit une variation importante dans le calcul en aval pour obtenir le nombre de coups nécessaires.

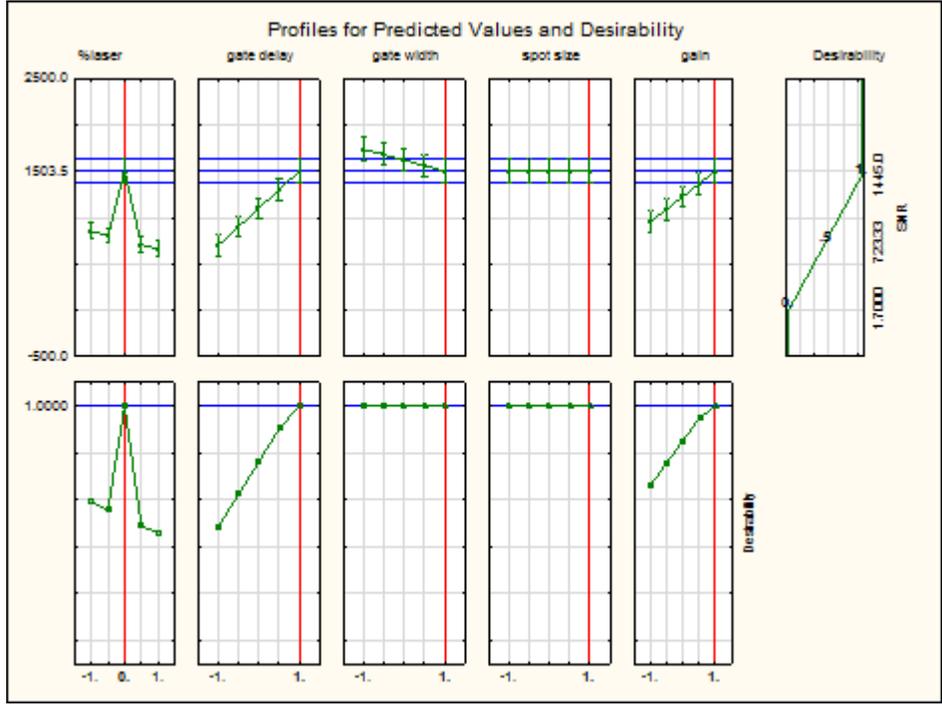
DOE pour optimisation des SNR pour chacun des éléments d'intérêt

Les résultats analysés par le logiciel Statistica de Statsoft sont présentés dans la Figure 5.11 pour chacun des éléments en question. Tel qu'observé, tous les paramètres d'acquisition optimaux sont les mêmes sauf dans certains cas isolés tel que la taille des tirs laser pour le Ca et le Mo. Toutefois, l'effet de ce paramètre dans le cas de ces deux éléments n'est pas ou est peu significatif à 95 % de confiance tel que présenté dans les diagrammes de Pareto de la Figure 5.12. Afin de valider cette hypothèse, les SNR optimisés ont été comparés pour chacun des cas, soit en utilisant la taille de tirs optimale ou la taille de tirs de 500 μm (taille optimale commune aux autres éléments). Dans le cas du Mo, la modification de ce paramètre cause une diminution du SNR de 525 à 458 et dans le cas du Ca, cette modification cause une diminution de 1151 à 1104. Les SNR étant très élevés à la base, l'uniformisation du paramètre de taille de tirs a été appliquée pour minimiser de temps d'analyse requis. Cette diminution des SNR optimaux ne devrait donc pas être problématique pour la détection de ces éléments. Dans chacun des diagrammes de Pareto, le paramètre de courbure (Curvatr.) est significatif. Cela signifie que la réponse n'est pas linéaire dans la plage de variation des paramètres.

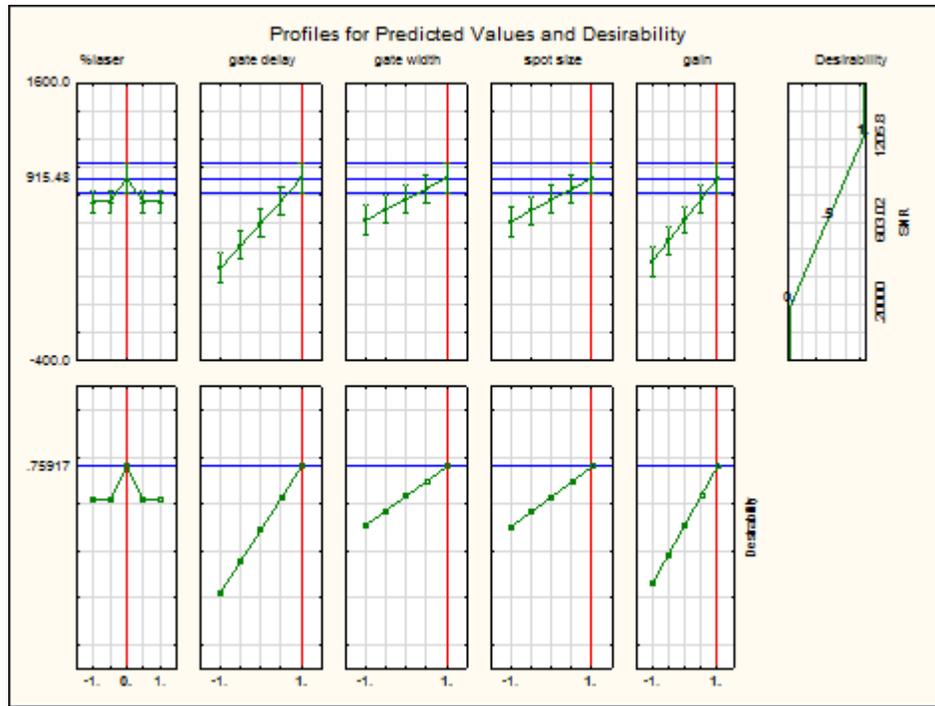
Mo



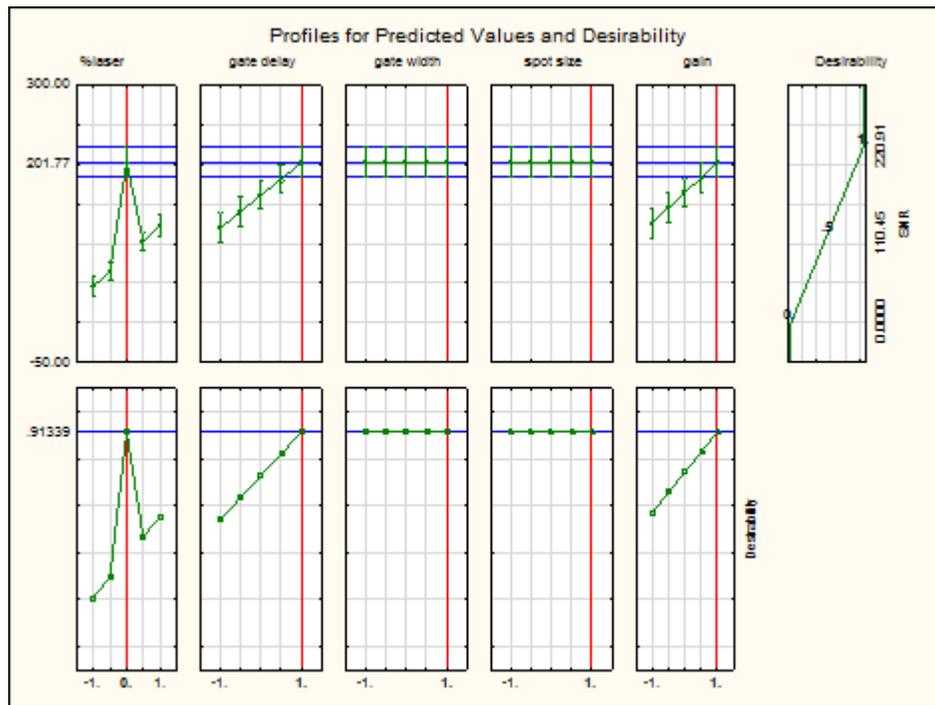
Zn



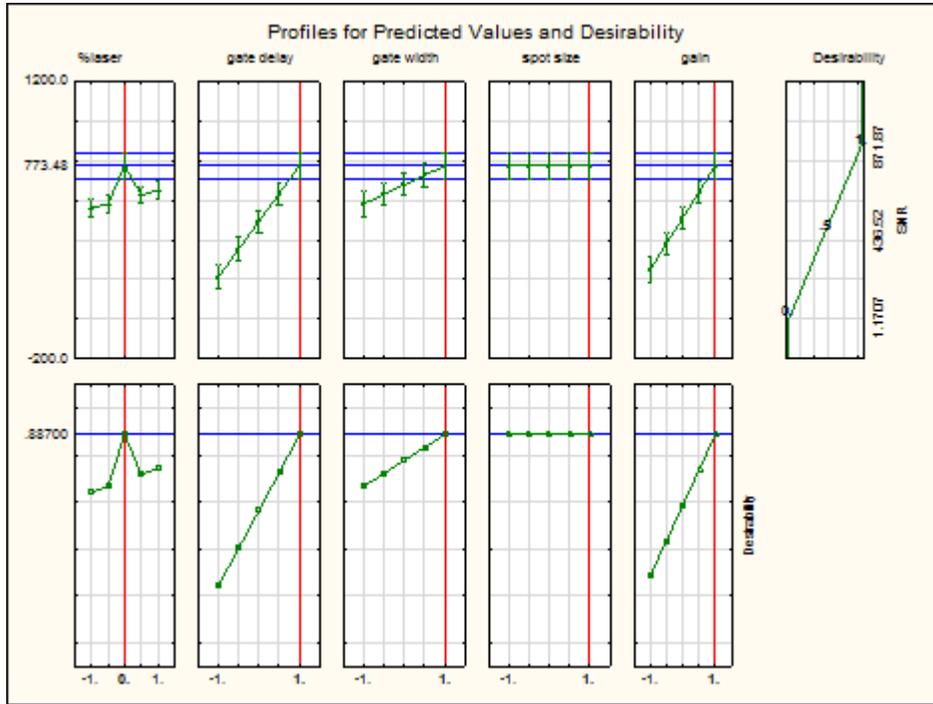
K



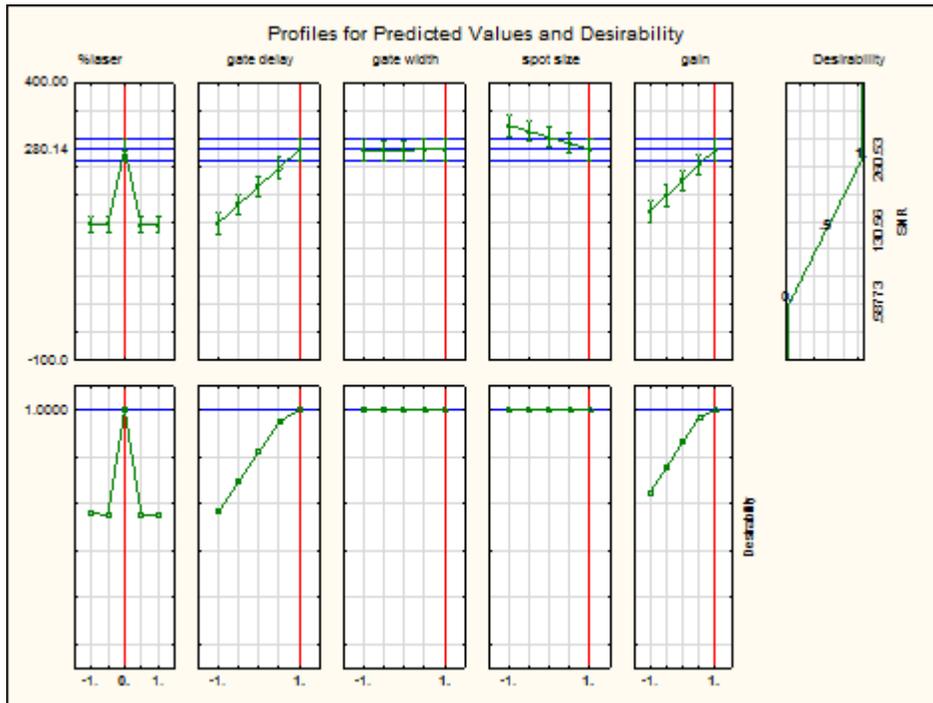
Mg



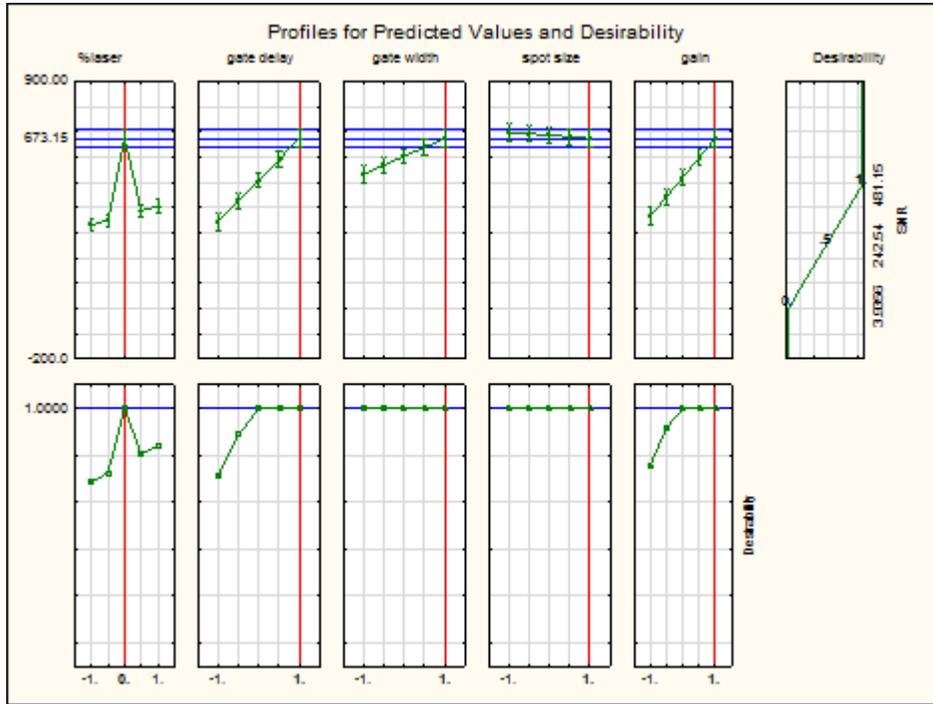
Cu



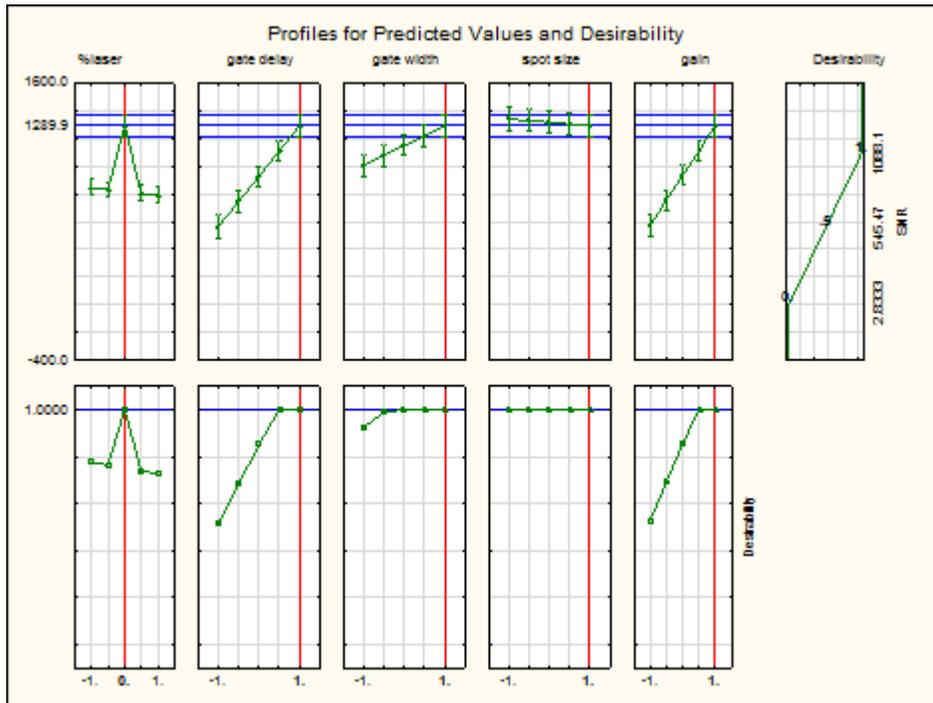
V



Fe



Cr



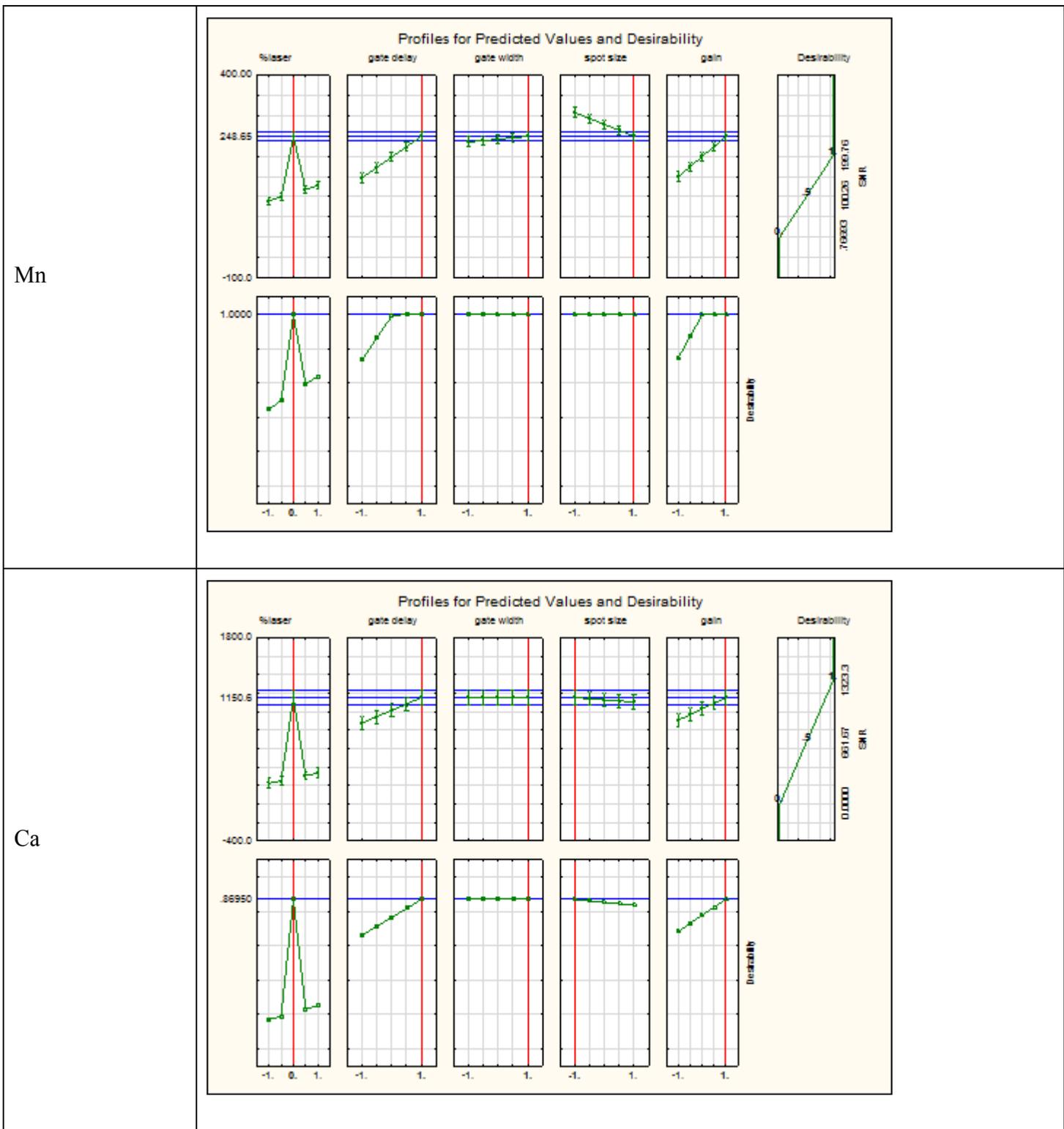


Figure 5.11: Résultats d'optimisation du SNR par plan d'expériences

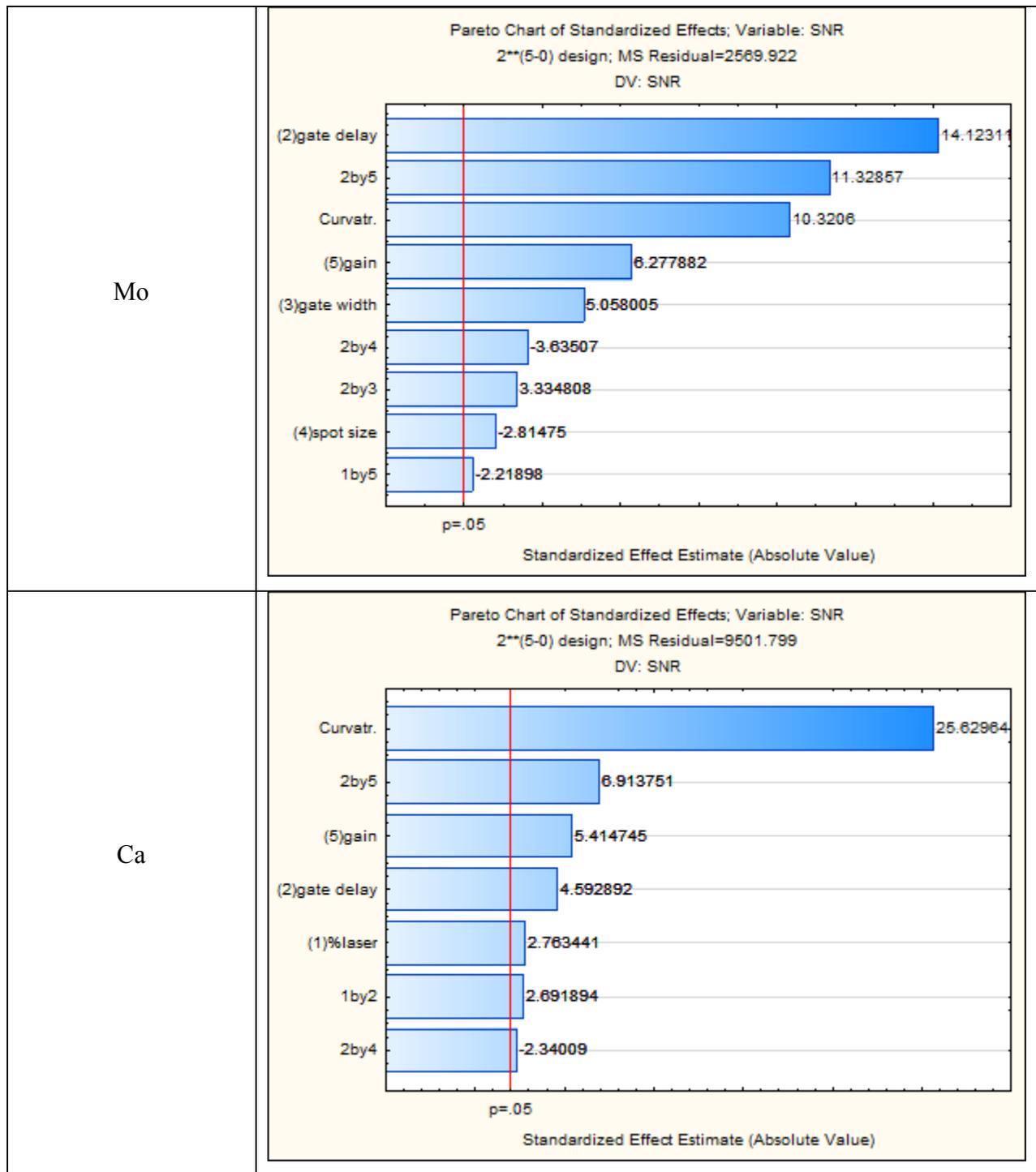


Figure 5.12: Diagrammes de Pareto pour le Mo et le Ca (les interactions sont représentées par les symboles XbyY qui signifie l'interaction entre le facteur X et le facteur Y, par exemple 1by2 est l'interaction entre le facteur 1 et le facteur 2)

Suite aux résultats des plans d'expérience, le Tableau 5.14 montre les paramètres d'acquisition permettant d'optimiser les SNR pour la majorité des éléments, et donc ce sont les paramètres qui ont été appliqués pour les tests subséquents.

Tableau 5.14: Modalités des paramètres LIBS optimisés

Paramètre	Modalité
% laser	75
Gate delay (μs)	3,7
Gate width (μs)	15
Spot size (μm)	500
Gain	4000

5.3.2. Quantification de minéraux dans des multivitamines avec LIBS

Les résultats obtenus avec la technique LIBS sont présentés dans le Tableau 5.15. En ce qui concerne la méthode, l'approche univariée semble obtenir des performances de prédiction sensiblement inférieures par rapport à l'approche multivariée ($p = 0,023$). Les mêmes conclusions sont obtenues lorsque l'on compare les deux méthodes d'analyse en fonction de la linéarité ($p = 9,2\text{E-}5$). Néanmoins, les modèles multivariés ne semblent pas être robustes, car la plupart d'entre eux ont des VIP en fonction de domaines spectraux qui n'ont pas de pics ou qui présentent des pics d'autres éléments.

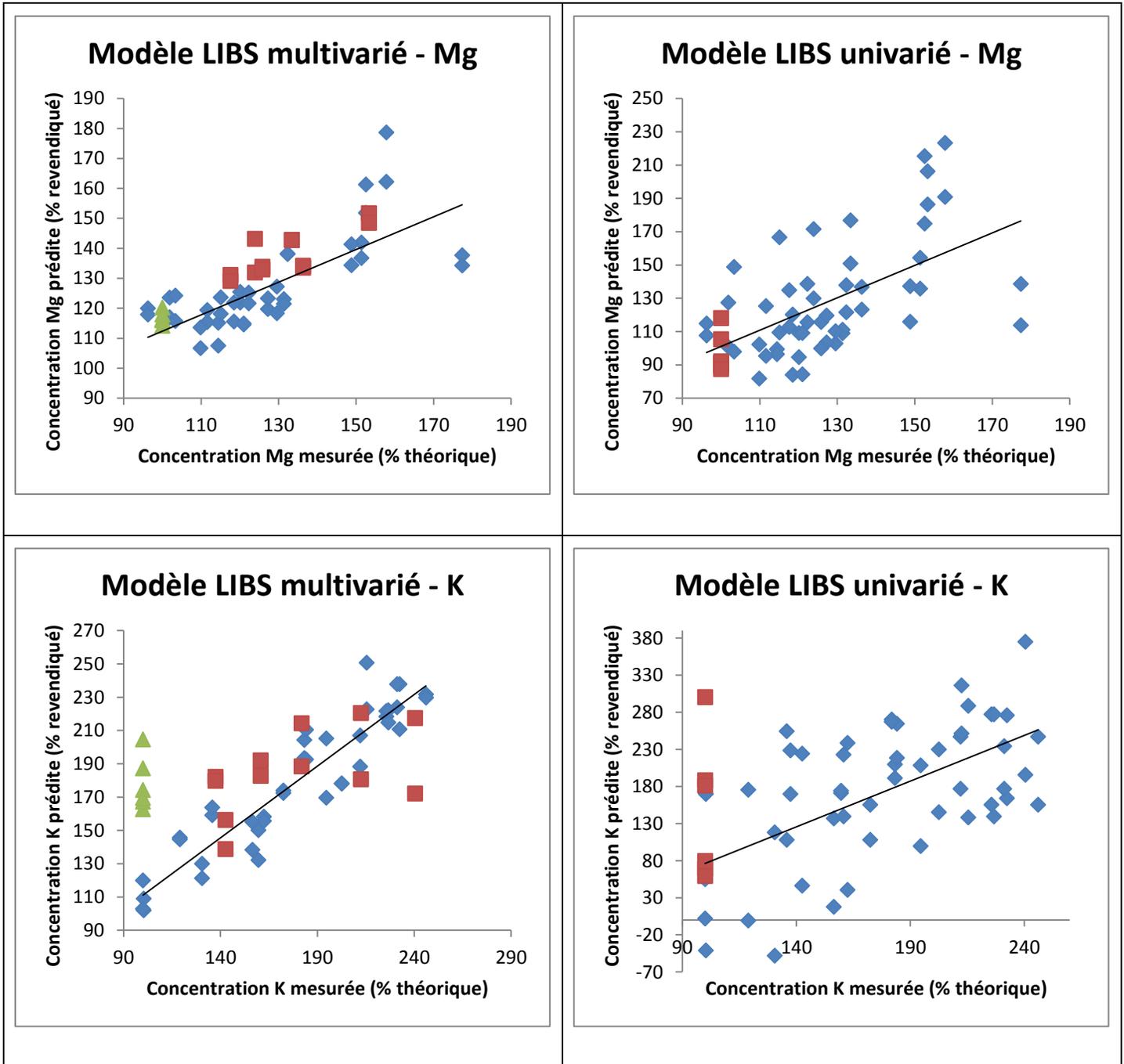
La Figure 5.13 montre les courbes de calibration obtenues avec les résultats LIBS par des analyses univariées et multivariées pour tous les éléments.

Tableau 5.15: Résultats LIBS obtenus par analyses univariées et multivariées des données

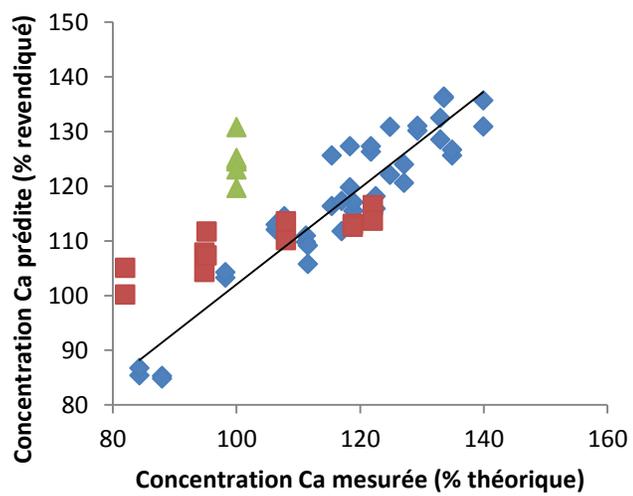
Élément	MEP (%) univarié	MEP (%) multivarié	Nb. LVs	VIP	R ² cal univarié	R ² cal multivarié	R ² val
Mg	16	10	2	Aucun pic (283.10 nm)	0,36	0,55	0,89
K	43	36	6	P (253.66 nm)	0,27	0,86	0,19
Ca	10	16	6	Si (288.16 nm)	0,53	0,88	0,08
V	213	94	5	Aucun pic (438.02 nm)	0,07	0,63	0,07
Cr	41	20	2	Aucun pic (286.44 nm)	0,44	0,54	0,84
Mn	15	39	9	Pic non-identifié (482.46 nm)	0,77	0,97	0,76
Fe	45	7	5	Si (288.16 nm)	0,04	0,66	0,17
Cu	67	24	10	Cu (327.40 nm)	0,23	0,97	0,58
Zn	70	4	5	Cr (425.43 nm)	0,01	0,72	0,76
Mo	73	50	3	Aucun pic (589.90 nm)	0,12	0,49	0,40
Moyenne	59	30	NA	NA	0,28	0,73	0,47
Valeur-p	0,023		NA	NA	9,2E-05		NA

L'analyse univariée performe faiblement probablement dû aux effets de matrice importants. Cela est plausible, car il existe d'importantes variations dans la composition de la matrice d'un échantillon à l'autre puisque les échantillons sont de seulement quelques microgrammes. Les matrices varient considérablement en compositions organiques et inorganiques, dont les propriétés peuvent influencer le plasma thermique et l'émission atomique. Ceci fait en sorte qu'il est difficile d'établir une corrélation entre l'intensité d'une ligne spectrale et sa concentration élémentaire. Pour l'analyse multivariée, une telle grande dimensionnalité (40 002 variables) augmente la probabilité d'avoir des corrélations entre le bruit dans les données et les valeurs de référence. Cela peut expliquer pourquoi tant de valeurs VIP sont des zones spectrales qui ne sont pas théoriquement liées à l'élément en question ou même qui correspondent à une zone où il n'y a aucun pic.

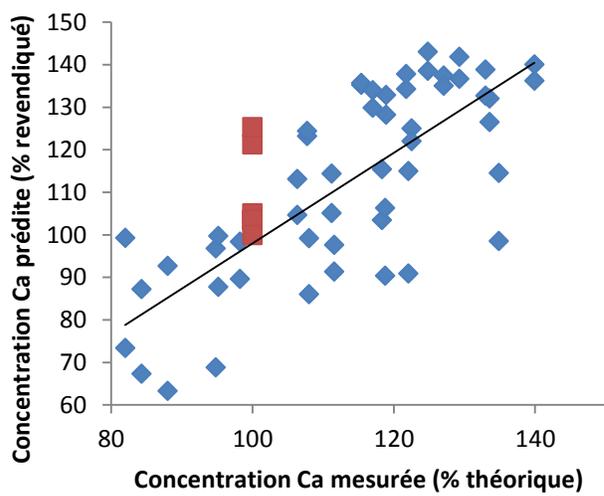
En général, les modèles multivariés montrent de meilleurs résultats dans le cas de LIBS sur la base des deux critères proposés, mais beaucoup d'améliorations sont nécessaires avant d'être en mesure de développer une application industrielle pharmaceutique.



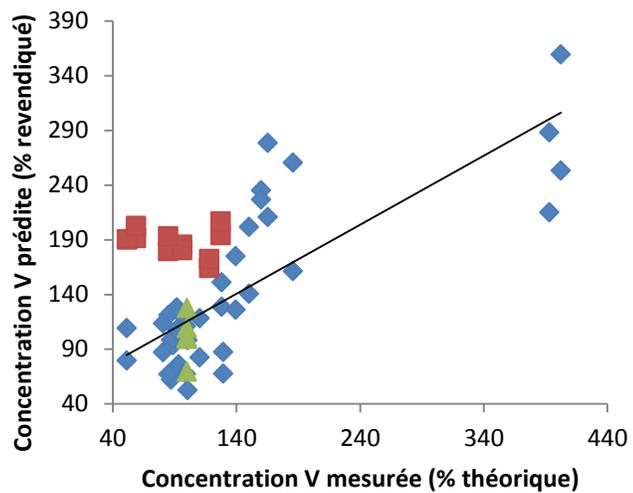
Modèle LIBS multivarié - Ca



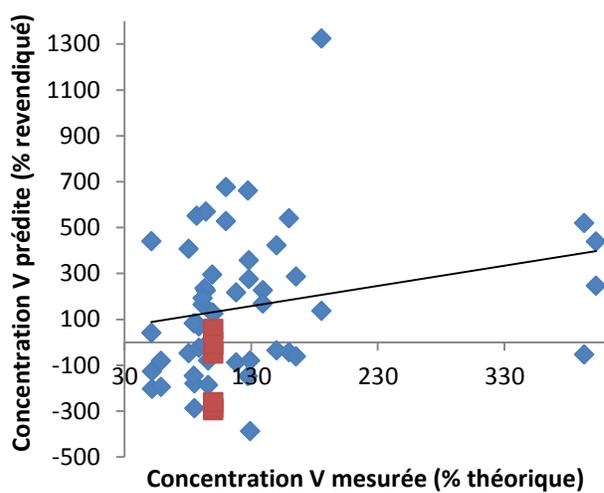
Modèle LIBS univarié - Ca



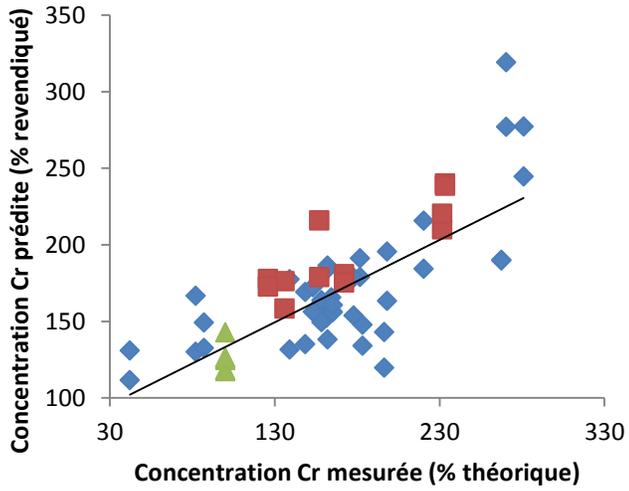
Modèle LIBS multivarié - V



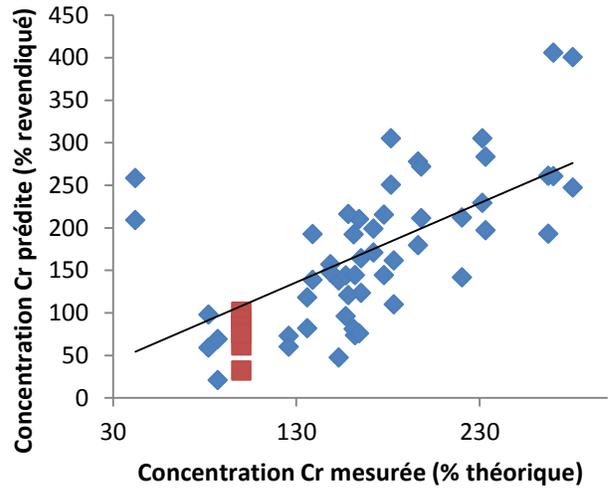
Modèle LIBS univarié - V



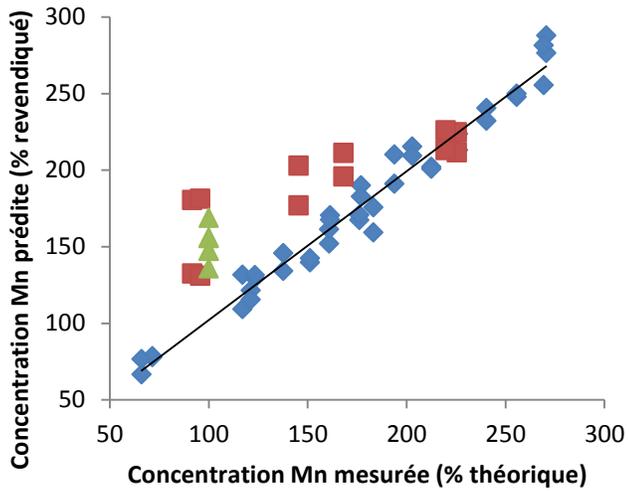
Modèle LIBS multivarié - Cr



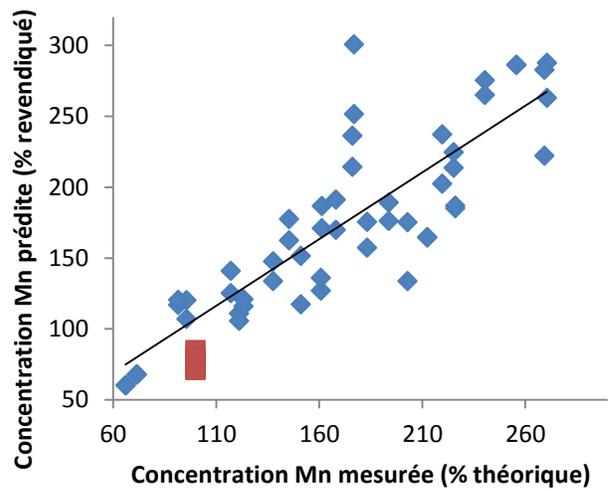
Modèle LIBS univarié - Cr



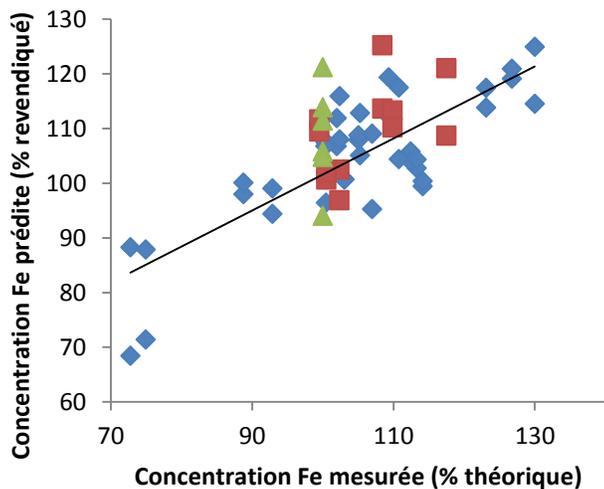
Modèle LIBS multivarié - Mn



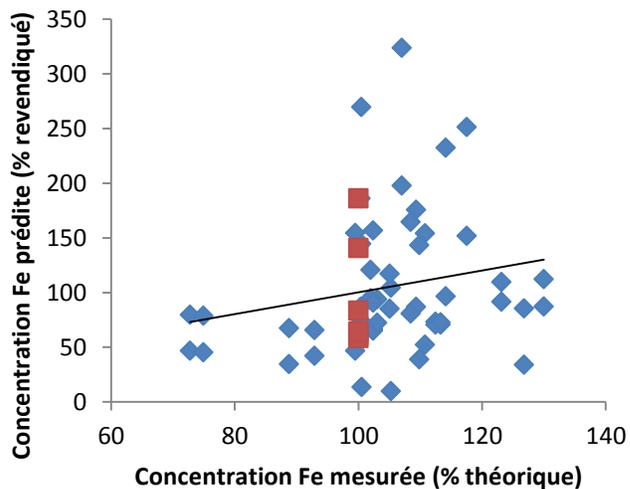
Modèle LIBS univarié - Mn



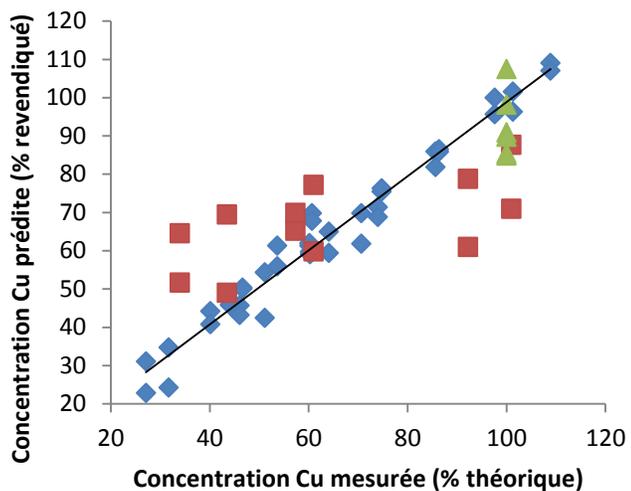
Modèle LIBS multivarié - Fe



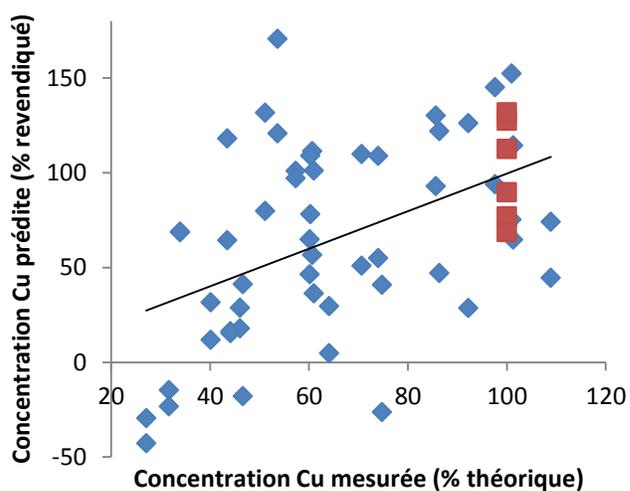
Modèle LIBS univarié - Fe



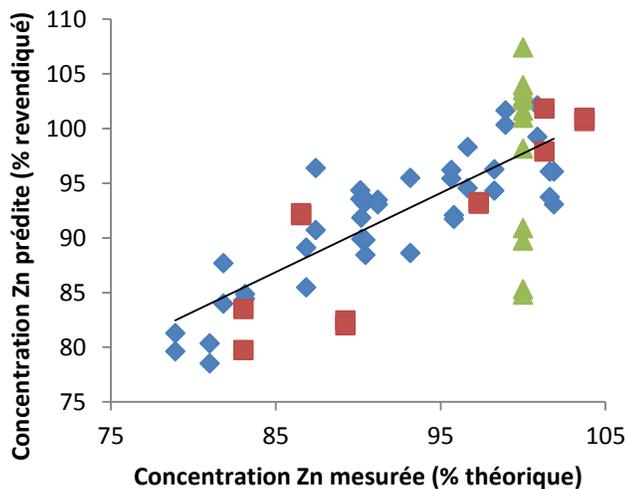
Modèle LIBS multivarié - Cu



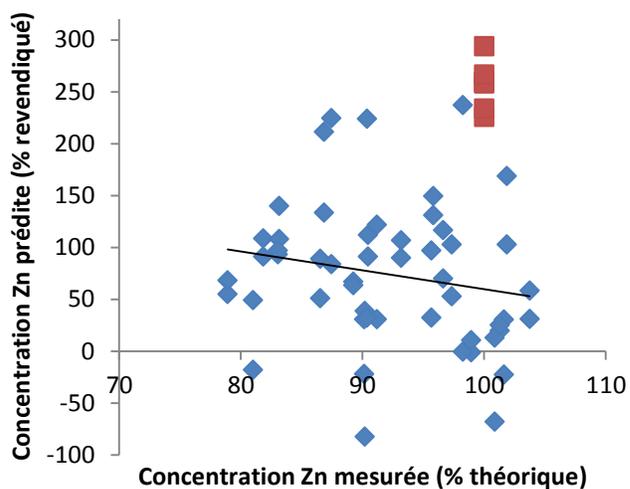
Modèle LIBS univarié - Cu



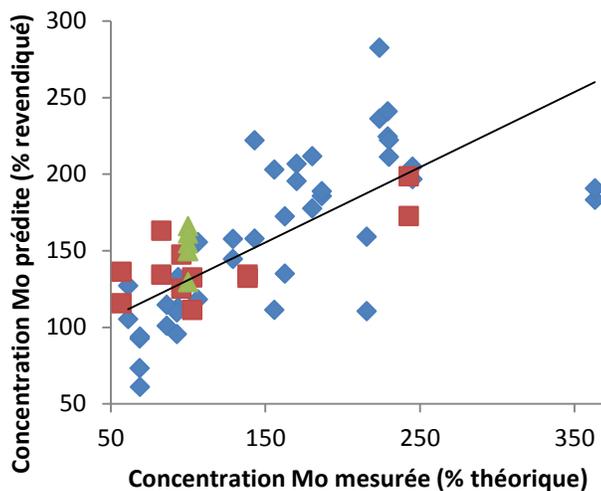
Modèle LIBS multivarié - Zn



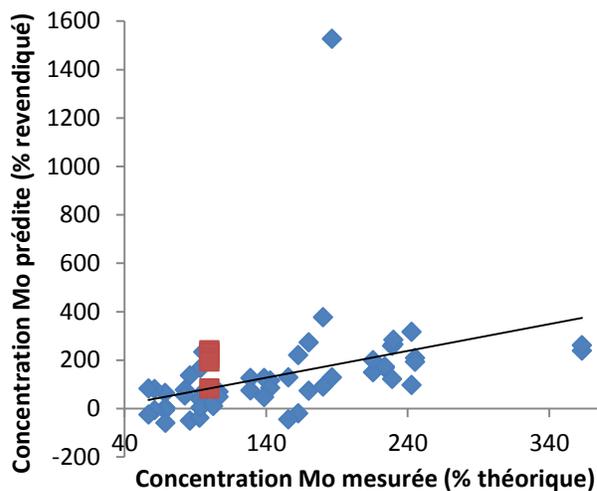
Modèle LIBS univarié - Zn



Modèle LIBS multivarié - Mo



Modèle LIBS univarié - Mo



- ◆ Calibration (labo)
- ▲ Calibration (production)
- Vérification (labo)

- ◆ Calibration (lab)
- Calibration (production)

Figure 5.13: Résultats des analyses multivariées et univariées par LIBS

5.4. Conclusion de chapitre

Ce chapitre avait pour but de décrire les étapes de développement de la méthode LIBS pour ensuite en venir au développement de modèles pour la quantification de minéraux dans des comprimés pharmaceutiques. La méthode proposée est basée sur une simulation du processus d'échantillonnage qui évalue statistiquement les probabilités d'échantillonner des particules de différentes tailles. Connaissant les tailles de particules pour chacune des matières premières, il est possible d'évaluer le nombre de tirs requis pour quantifier chacun des éléments.

Ensuite, la prochaine étape consistait à déterminer les paramètres d'acquisition optimaux pour obtenir des spectres de qualité pour chacun des 10 éléments d'intérêt. Les résultats d'un plan d'expérience ont permis de montrer qu'avec peu de compromis pour les SNR, il est possible d'avoir une combinaison de paramètres d'acquisition commune à tous les éléments. Cette découverte permet de réduire énormément le temps requis pour faire les tests LIBS.

Avec les résultats de ces deux premières étapes, il était possible d'échantillonner les comprimés à formulations complexes pour évaluer la faisabilité pour la quantification avec cet instrument. En général, les modèles ne semblent pas permettre de bonnes prédictions de concentrations et ne sont donc pas applicables dans un contexte pharmaceutique tels que proposés. Toutefois, une hypothèse expliquant la faible performance de ces modèles est la prise en considération des effets de matrices dans l'analyse. Cette technologie est fortement affectée par les effets de matrice et puisque celle-ci est fortement variable à petite échelle, il est primordial de pouvoir comprendre ce phénomène. Un des chapitres subséquents sera consacré à l'étude de ces effets de matrice. Tout d'abord, le prochain chapitre compare les deux technologies pour de potentielles applications futures en milieu pharmaceutique.

CHAPITRE 6 - COMPARAISON DES TECHNIQUES

6.1. Introduction de chapitre

Suite à l'expérimentation avec les deux technologies d'analyse élémentaire, ces technologies ont été comparées en tant qu'application potentielle en milieu pharmaceutique. Après tout, l'objectif de cette étude est d'évaluer l'applicabilité de ces instruments pour la quantification *At-line* de produits multivitaminés. Les performances seront comparées en fonction des critères évalués dans les chapitres précédents et ensuite, plusieurs attributs qualitatifs seront explorés permettant de déterminer quels instruments seraient plus adaptés pour des applications spécifiques.

6.2. Comparaison selon les critères de performance

Afin de comparer les deux instruments, seuls les résultats des modèles multivariés seront pris en compte. Avec une erreur moyenne de prédiction près de 15% pour XRF et près de deux fois plus que pour LIBS, XRF doit être considérée comme la meilleure alternative pour la quantification des minéraux sous forme de comprimés de multivitamines pharmaceutiques ($p = 0,038$). De plus, les courbes de calibration ont tendance à être beaucoup plus linéaires avec XRF ($p = 0,002$).

6.3. Comparaison des attributs qualitatifs des instruments

Pour les autres applications potentielles, il est important d'examiner les autres attributs de ces deux techniques pour déterminer correctement, ce qui est plus approprié. Le Tableau 6.1 fournit une comparaison selon différents attributs pour les deux instruments.

Tableau 6.1: Comparaisons qualitatives entre XRF et LIBS

Attribut	LIBS	XRF
Cartographie	3D	Aucune
Peut analyser tous les éléments?	Oui	Non ($Z > 10-12$)
Quantité d'échantillon requise	microgrammes	grammes
Préparation d'échantillon	Aucune	Minutes
Destructif?	Micro-destructif	Généralement non-destructif
Taille d'échantillonnage	μm^2	cm^2
Potentiel At-line?	Oui	Oui

Ces attributs font de ces instruments qu'ils sont applicables dans des situations différentes et doivent donc être considérés avec les résultats de performance de quantification pour choisir l'instrument optimal pour l'application de quantification élémentaire.

6.4. Conclusion de chapitre

Deux nouvelles technologies, XRF et LIBS, ont été évaluées afin de déterminer leur potentiel pour remplacer les instruments d'analyse élémentaire traditionnels qui sont laborieux pour la quantification des minéraux sous forme de comprimés de multivitamines pharmaceutiques.

XRF fournit des modèles à partir de ses données qui offrent une plus faible erreur de prédiction et une meilleure linéarité dans les courbes d'étalonnage. Lorsque l'on compare les méthodes d'analyse de données, ni multivariée ni univariée se distingue comme une meilleure méthode pour cette technologie. Pour des raisons de simplicité, l'approche univariée est donc recommandée à l'état actuel du développement de la méthode.

Une solution alternative serait de profiter de l'avantage qu'offre chacune des méthodes d'analyse pour améliorer les performances générales. Puisqu'un modèle est généré par élément, ce serait avantageux de choisir une méthode d'analyse spécifique à cet élément ce qui permettrait de modéliser des interactions ou des effets de matrices tout en prenant en compte les plages de concentrations analysées.

En outre, même si LIBS n'a pas encore prouvé que ses résultats de quantifications sont supérieurs à ICP et XRF pour des échantillons sous forme de comprimés multivitamines

complexes et hétérogènes, c'est encore bien loin d'une conclusion définitive quant à son utilité pour des applications pharmaceutiques. Au contraire, il s'agit d'une technologie qui offre beaucoup de potentiel pour la cartographie 3D des minéraux dans des échantillons hétérogènes et pourrait s'avérer utile pour réduire le temps de préparation des échantillons (temps et coût) pour la quantification dans des échantillons homogènes de composition simple.

CHAPITRE 7 - ÉVALUATIONS DES EFFETS DE MATRICE LIBS

7.1. Introduction de chapitre

Les expériences précédentes avaient, entre autres, pour but d'évaluer le potentiel de la technologie LIBS pour la quantification de minéraux dans des comprimés pharmaceutiques. Par contre, certains efforts récents de recherche dans la littérature démontrent que les effets de matrice sont significatifs avec cette technologie [Windom et Hahn, 2009]. C'est pourquoi ce chapitre est une initiative pour tenter de comprendre ces phénomènes complexes.

Afin d'évaluer les effets de matrice, les pics de K ont été étudiés dans diverses matrices. De plus, les propriétés de ces matrices ont été compilées pour évaluer les corrélations possibles entre ces paramètres et les intensités LIBS observées. Finalement, une analyse multivariée est proposée pour tenter de prédire les effets de matrice.

7.2. Matériel et méthodes

7.2.1. Choix des matrices et de l'API

Afin de comprendre la phénoménologie derrière les effets de matrice LIBS, plusieurs matrices ont été choisies pour tenter d'obtenir des informations spécifiques. D'abord, des matrices organiques ont été comparées à des matrices de nature inorganiques. Ensuite, divers oxydes et carbonates d'alcalino-terreux ont été testés pour évaluer l'effet spécifique de la présence de certains atomes. Sommairement, voici la liste des composés utilisés comme matrices :

Tableau 7.1 : Matrices choisies pour l'analyse des effets de matrices

Matrices organiques	Matrices inorganiques
Cellulose microcristalline	Formate de calcium
Xylitol	Carbonate de calcium
Ca-pantothénate	Carbonate de magnésium
	Oxyde de calcium
	Oxyde de magnésium

En ce qui concerne l'API à suivre dans ces composés, le KCl a été choisi puisqu'il offre un bon signal LIBS dans les conditions d'expérimentation, il est présent en grande concentration dans les comprimés, facilitant ainsi la production d'échantillons et il n'a que quatre lignes d'émission atomique entre 200 et 1000 nm.

7.2.2. Préparation des échantillons

Les échantillons ont été préparés manuellement au laboratoire pour les mélanges et la compression. Les poudres ont été broyées manuellement au pilon et mortier avant la pesée et le mélange dans des sacs de plastique. La pression appliquée sur les comprimés était de 4000 psi pour 7 secondes. En ce qui concerne la composition, une concentration variable de K dans la plage étudiée précédemment a été utilisée soit de 3,8 % à 9,4 % massique.

7.2.3. Méthode d'acquisition et d'analyse des spectres

La matrice d'échantillonnage proposée consiste de 3 matrices de 4 tirs en largeur par 4 tirs en longueur et 6 tirs de profondeur pour un total de 288 tirs. Ce nombre de tirs est conforme selon le modèle d'échantillonnage proposé dans la section sur le développement de méthode LIBS. Un grand facteur de sécurité est ajouté pour tenir compte de la différence potentielle due à la méthode de broyage qui a été modifiée. Les paramètres d'acquisition sont les paramètres optimisés par plan expérimental précédemment.

Afin de comparer les différentes matrices, seulement l'interpolation des courbes de calibration à une concentration de 6,7 % est utilisée. Ceci permet d'obtenir une seule valeur d'intensité LIBS par matrice avec une concentration en K constante.

7.2.4. Étude des effets de matrice

Selon les observations de la littérature, il existe effectivement des effets de matrice LIBS et une première hypothèse pouvant expliquer ces effets est la différence entre les propriétés thermo-physiques des composés et des comprimés, tel que proposé par quelques auteurs [Goueguel *et al.*, 2014; Kim *et al.*, 2014]. Les corrélations entre les intensités LIBS et quelques propriétés seront mesurées pour évaluer la validité de cette hypothèse.

Une autre hypothèse pouvant expliquer davantage les effets de matrice, qui n'est pas encore supportée par la littérature, est l'effet de dilution dans l'espace d'échantillonnage. Le volume de gaz généré par la vaporisation de la matière influence le facteur de dilution de l'élément mesuré, soit le K. Ceci tient pour acquis que la masse vaporisée à chaque tir est constante et que la pression dans le volume de gaz est constante, donc si plus de gaz est généré par l'ablation laser, les ions K émetteurs s'épandront au-delà de la zone collectée par la fibre optique. Pour valider cette hypothèse, la concentration atomique de K par rapport au nombre total de moles d'atomes sera corrélée à l'intensité LIBS observée. De plus, une correction par rapport à la densité molaire de K sera apportée pour vérifier la corrélation entre la concentration volumique de K et l'intensité LIBS. Aussi, la concentration molaire de K est calculée par rapport aux concentrations massiques des mélanges solides (nombre de moles de K par rapport au nombre de moles total dans le mélange). En somme, les concentrations molaires, volumiques et atomiques seront étudiées.

7.3. Résultats et discussion

7.3.1. Courbes de calibration dans des matrices simples

Suite à l'acquisition de données, une courbe de calibration à 5 points a été effectuée pour chacune des matrices. La Figure 7.1 montre des résultats de ces calibrations. La plupart des composés permettent d'obtenir une courbe de calibration (intensité LIBS vs. Concentration élémentaire) avec une linéarité supérieure à 0,80 à l'exception du formate de calcium, tel qu'observé dans le Tableau 7.2. Une hypothèse possible pour expliquer ces différences de linéarité est la compressibilité du mélange de poudre. Par exemple, le formate de calcium, une fois comprimé, génère un comprimé très friable qui est facilement détruit par le processus d'ablation laser du LIBS.

Tableau 7.2: Coefficients de détermination des courbes de calibration pour chacune des matrices étudiées

Matrice	Coefficient de détermination (R^2)
Formate de calcium	0,60
Xylitol	0,80
Carbonate de calcium	0,80
Pantothénate de calcium	0,82
Cellulose microcristalline	0,84
Carbonate de magnésium	0,90
Oxyde de magnésium	0,96
Oxyde de calcium	0,97

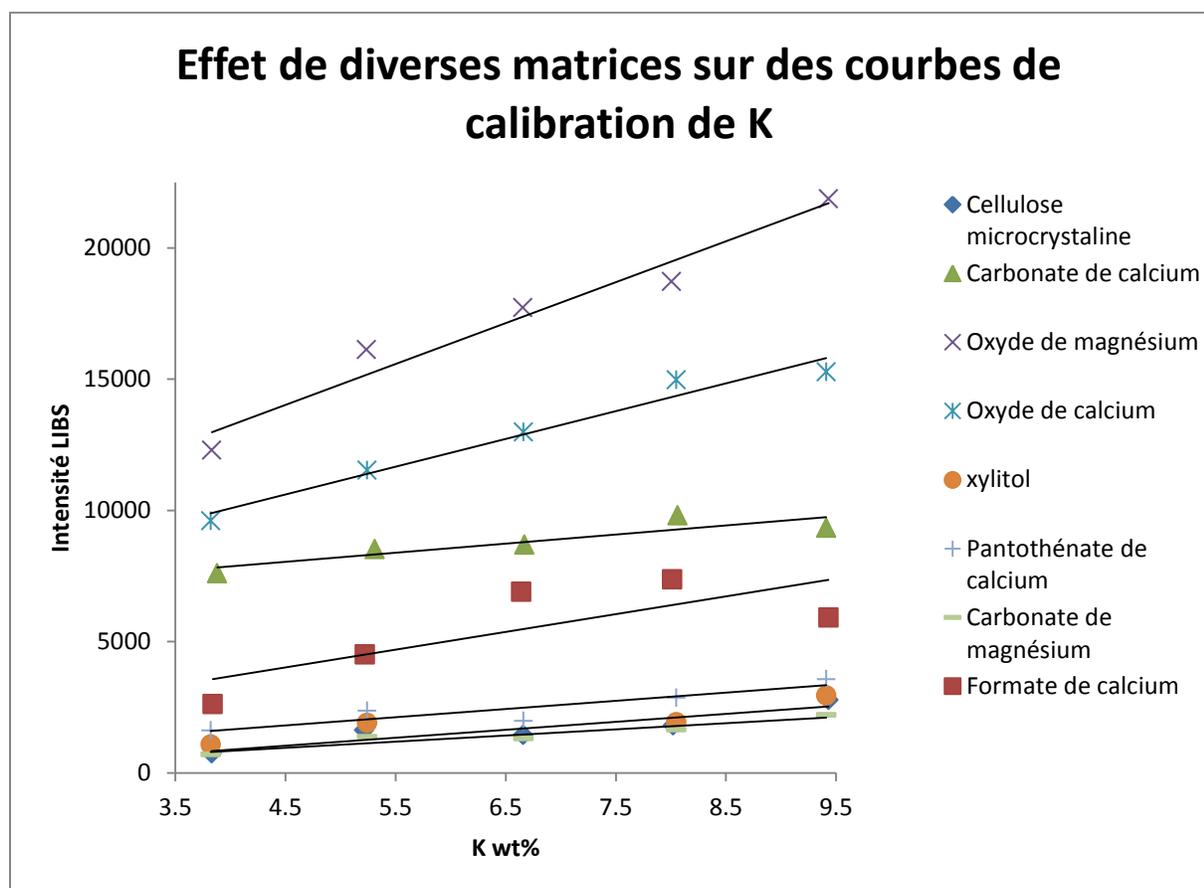


Figure 7.1: Courbes de calibration pour chacune des matrices étudiées

Tel que prévu, une importante différence d'intensité est observée lorsque le composé matriciel est modifié. En général, les composés organiques comme les sucres semblent avoir des intensités

générales plus faibles que les composés inorganiques tels que les oxydes. La section suivante détaille l'analyse de ces différences d'intensités.

7.3.2. Étude des effets de matrice

Les propriétés physico-chimiques des matrices ont été compilées dans le Tableau 7.3 afin d'établir des corrélations avec les intensités LIBS observées. Plusieurs valeurs manquantes ont été approximées par des composés analogues similaires. Les densités des comprimés ont été mesurées au laboratoire. Le pourcentage molaire de K a été calculé ainsi que la concentration volumique de K à partir des concentrations théoriques des mélanges.

Tableau 7.3: Propriétés physiques, thermiques et chimiques des matrices étudiées

Propriétés	MCC	Xylitol	Panto-Ca	Formate-Ca	Carbonate-Ca	Oxyde-Ca	Oxyde-Mg	Carbonate-Mg
Chaleur spécifique (kJ/kg/K)	1,2 ¹	1,42 ²	0,96 ³	2,17 ⁴	0,82 ⁵	0,76 ⁶	0,92 ⁶	0,9 ³
Conductivité thermique (W/m/K)	0,2 ⁷	0,12 ⁸	0,15 ³	0,226 ⁴	5,05 ⁷	30 ⁹	50 ¹⁰	4,15 ¹¹
Masse volumique du comprimé (g/mL)	1,33	1,58	1,17	1,68	1,89	1,77	1,96	1,01
Énergie ionisation (kJ/mol) ¹²	26209	27746	78074	10642	5618	1904	2052	5766
Chaleur spécifique atomique (kJ/mol/K) ¹³	422	370	392	637	820	776	1373	1059
% molaire de K (%)	1,47	1,32	1,44	2,69	3,65	4,96	3,64	3,10
Concentration volumique de K (mol K/mL)	0,012	0,014	0,004	0,035	0,069	0,157	0,177	0,037
Affinité électronique (J/mol) ¹²	112210	106732	103590	113308	115854	71685	70500	115380
Poids moléculaire (g/mol)	162	152	477	130	100	56	40	84

¹ (Thybring, 2014)

² (Tong *et al.*, 2007)

³ (NIST, 2011)

⁴ (Reuteman et Kieczka, 2012)

⁵ (Kenny et Oates, 2012)

⁶ (Leitner *et al.*, 2003)

⁷ (Powel et Childs, 1972)

⁸ (Maccarthy et Fabre, 1989)

⁹ (Madelung *et al.*, 1999)

¹⁰ (Slack, 1962)

¹¹ (EngineeringToolbox, 2011)

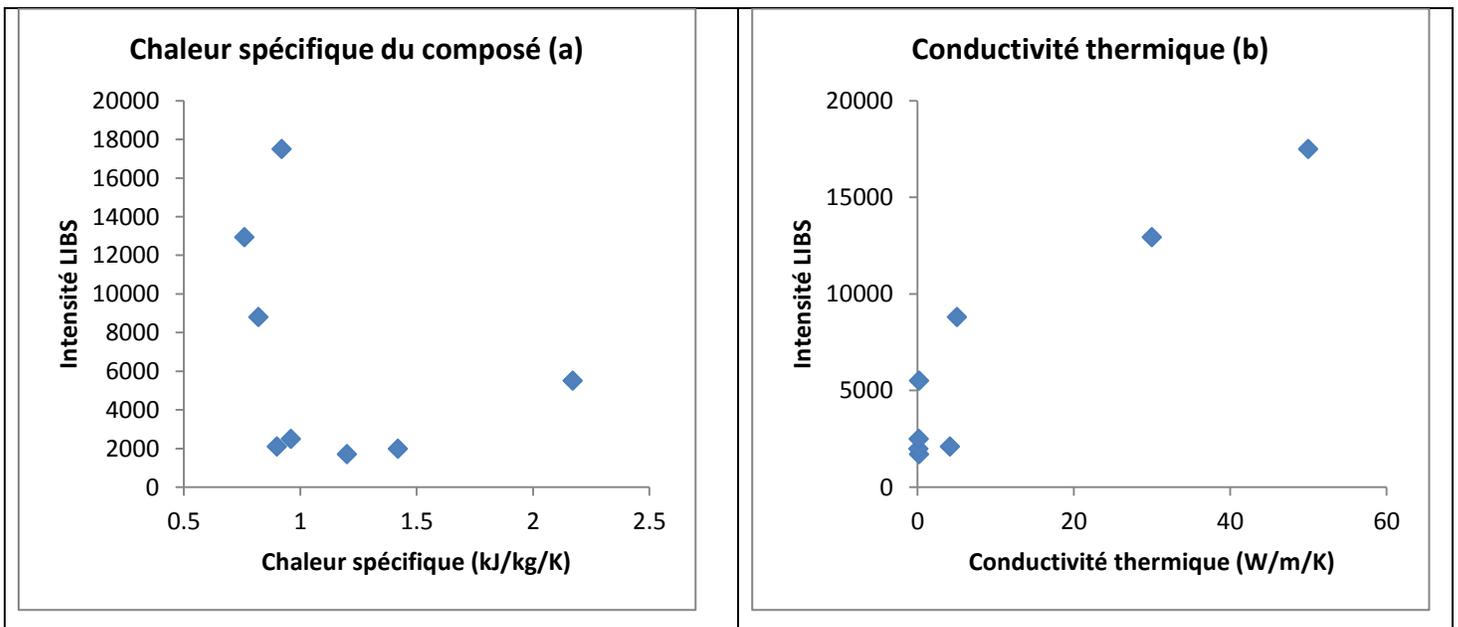
¹² (WebElements, 2012)

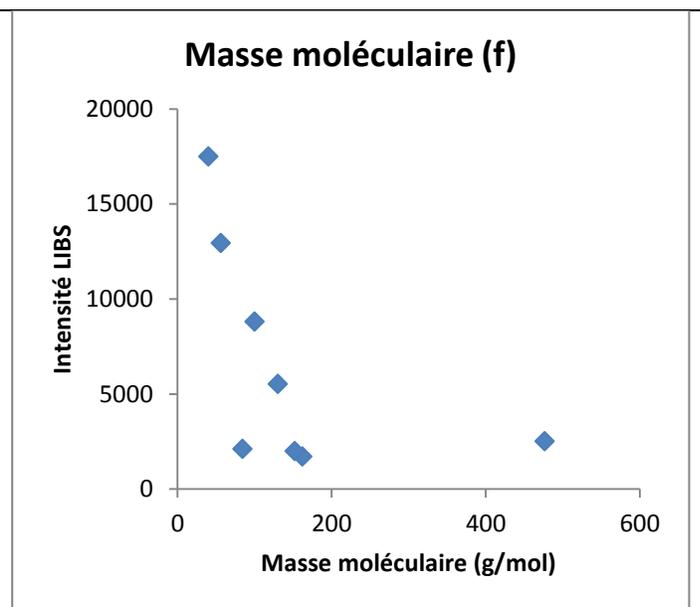
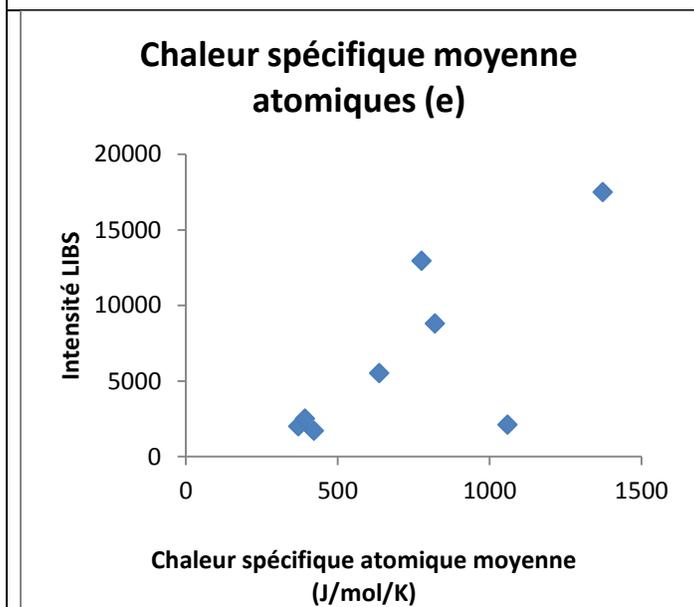
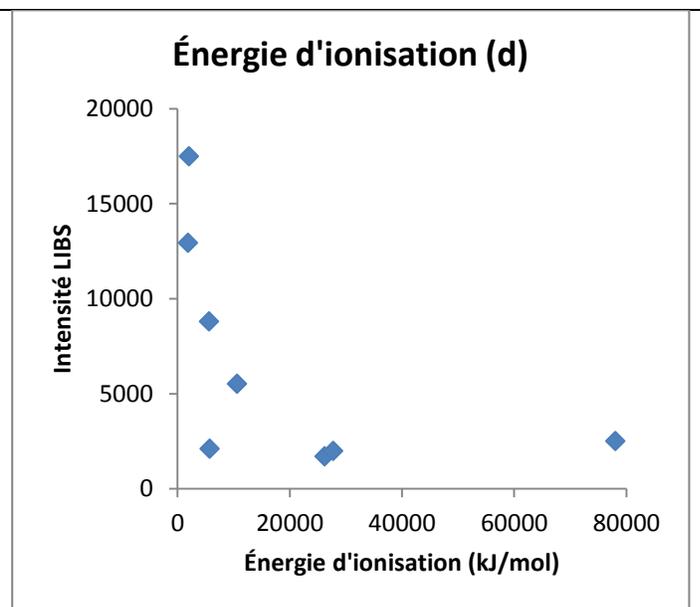
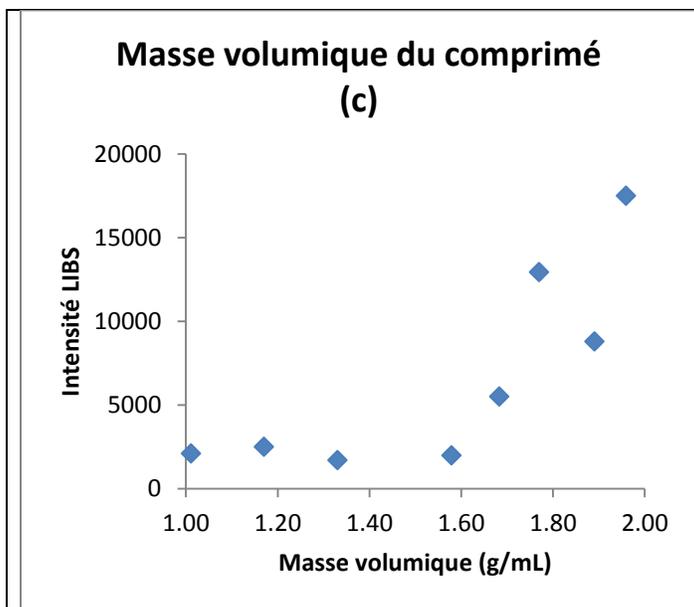
¹³ (Dayah, 1997)

Lorsque ces valeurs sont corrélées avec l'intensité LIBS observée pour un échantillon typique de 6,7 % de K (Tableau 7.4), les graphiques dans la Figure 7.2 sont obtenus.

Tableau 7.4: Intensités LIBS estimées par les courbes de calibration

Matrice	Intensité LIBS observée
Carbonate de magnésium	1470
Cellulose microcristalline	1707
Xylitol	1991
Pantothénate de calcium	2499
Formate de calcium	5515
Carbonate de calcium	8805
Oxyde de calcium	12942
Oxyde de magnésium	17455





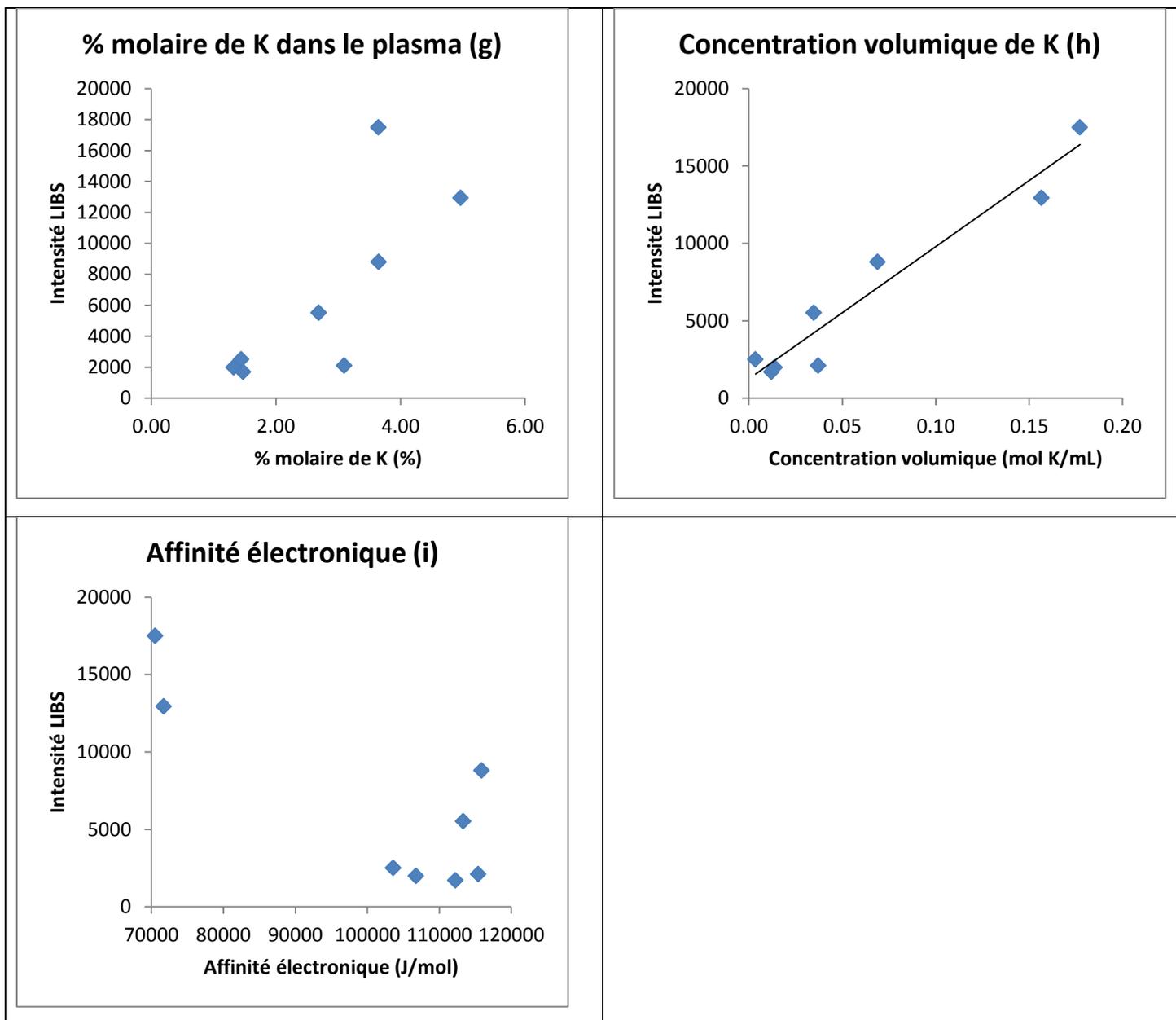


Figure 7.2: Graphiques de corrélations entre les propriétés choisies et l'intensité LIBS observée : a) chaleur spécifique du composé, b) conductivité thermique, c) masse volumique, d) énergie d'ionisation, e) chaleur spécifique atomique moyenne, f) masse moléculaire, g) pourcentage molaire de K dans le plasma, h) concentration volumique de K dans le comprimé et i) affinité électronique.

La chaleur spécifique et la conductivité thermique du composé pourraient influencer l'intensité LIBS puisque ces propriétés influenceront la transmission de l'énergie du laser ainsi que la température atteignable pour un niveau d'énergie défini. Par contre, ces données sont connues à des températures autour de 25 °C, mais elles varient énormément en fonction de la température. Ceci explique en partie pourquoi il ne semble pas y avoir de corrélation entre la chaleur spécifique (Figure 7.2a) et l'intensité LIBS puisque la température du plasma est dans l'ordre de

10 000 K. La chaleur spécifique des espèces atomiques a aussi été étudiée pour estimer la chaleur spécifique dans le plasma (Figure 7.2e). Les composés organiques ainsi que ceux contenant du Ca semblent produire une droite fortement linéaire, mais l'ajout des composés ayant du Mg ne respectent pas cette droite.

Ensuite, l'énergie d'ionisation et l'affinité électronique pourraient être liées à l'intensité observée en ayant une influence sur la quantité de moles d'atomes pouvant être ionisés avec une quantité d'énergie définie. En ce qui concerne l'énergie d'ionisation, sa réciproque semble être corrélée à l'intensité LIBS. En ce qui concerne l'affinité électronique, sa corrélation avec l'intensité LIBS est difficile à évaluer puisque la plage de valeurs n'est pas adéquatement comblée (valeurs extrêmes seulement).

En ce qui concerne l'hypothèse de dilution des ions émetteurs, les proportions molaires ont été calculées connaissant la proportion massique dans le mélange et en posant l'hypothèse que la masse ablatée est constante pour toutes ces matières particulaires similaires. En ajoutant, une correction pour la densité molaire, la corrélation augmente significativement à $R^2 = 0,94$. C'est donc l'indicateur le plus fortement lié à l'intensité LIBS observée. Puisque ce calcul est fondé sur le principe de dilution du plasma, cela implique que le nombre d'unités atomiques dans le plasma pourrait être une notion importante pour la compréhension des effets de matrice. En somme, le Tableau 7.5 montre les coefficients de détermination en ordre décroissant pour tous les paramètres étudiés.

Tableau 7.5: Coefficients de détermination des propriétés étudiées

Propriété	R ²
Concentration volumique de K	0,94
Conductivité thermique	0,87
Réciproque de l'énergie ionisation	0,83
Affinité électronique	0,67
Densité du comprimé	0,63
% molaire de K dans le plasma	0,61
Chaleur spécifique atomique moyenne	0,52
Poids moléculaire	0,27
Chaleur spécifique	0,11

Avec cette analyse univariée, il est difficile de conclure que seulement un de ces paramètres thermo-physique est responsable pour l'effet de matrice. Malgré le fait que le processus matriciel est fort probablement multivarié, des corrélations faibles, mais présentes sont observables dans ces graphiques. En effet, la concentration volumique (Figure 7.2h), la conductivité thermique (Figure 7.2b) et la masse volumique des comprimés (Figure 7.2c) semblent influencer l'intensité LIBS observée, augmentant de pairs.

7.4. Conclusion de chapitre

Dans les essais de quantification avec la technologie LIBS, les effets de matrices ont été tenus responsables de la faible performance des modèles. C'est pourquoi ce chapitre était orienté pour tenter de comprendre ces phénomènes d'interaction. Une liste de propriétés physiques, chimiques et thermiques a été déterminée pour évaluer la corrélation potentielle entre chacun des paramètres et l'intensité LIBS observée. Quoiqu'aucune corrélation ne semble directe, plusieurs propriétés ont des corrélations suffisamment élevées pour en conclure qu'elles doivent être considérées dans la planification d'expériences quantitatives avec LIBS telles que la concentration volumique de K, la conductivité thermique et l'énergie d'ionisation des molécules.

CHAPITRE 8 - CONCLUSION

8.1. Sommaire

Suite à une revue exhaustive de la littérature, deux technologies d'analyse élémentaire ont été évaluées pour leur potentiel de remplacement de la technologie ICP pour la quantification de minéraux dans des comprimés multivitaminés pharmaceutiques.

Premièrement, la technologie XRF a été évaluée préliminairement avec l'aide de plusieurs fournisseurs de ce type d'instrument. Les résultats obtenus par cette étude n'étaient pas suffisamment performants pour justifier une implantation immédiate de la technologie selon les standards de la Pharmacopeia des États-Unis, mais ils ont permis de démontrer le potentiel de la technologie justifiant ainsi des efforts supplémentaires en développement de méthode et en analyse des données.

Une méthode adaptée à la technologie XRF ainsi qu'au type de comprimés utilisés a été élaborée et ensuite, plusieurs acquisitions de données ont permis de développer des modèles quantitatifs. Les erreurs de prédictions varient largement en fonction de l'espèce atomique à quantifier rendant ainsi l'implantation de la technologie impossible pour l'application cible.

Deuxièmement, la technologie LIBS a été évaluée parallèlement. Cette technologie, étant plus innovatrice dans l'industrie, a nécessité un développement de méthode plus rigoureux. D'abord, une analyse des tailles d'échantillons a permis d'évaluer le volume échantillonné par tir. Cette valeur couplée à une simulation du procédé d'échantillonnage a permis d'estimer le nombre de tirs requis pour la quantification de chaque espèce atomique. Ensuite, des plans d'expérience ont été appliqués pour déterminer les paramètres d'acquisition optimaux pour chaque élément à quantifier. Ces tests préliminaires ont permis de proposer une méthode d'échantillonnage pour la préparation de modèles de prédiction de contenu élémentaire.

Les résultats des modèles quantitatifs étaient significativement inférieurs aux résultats de prédiction obtenus par XRF. Toutefois, la technologie LIBS possède plusieurs caractéristiques intéressantes tels que le potentiel de profilage 3D, la sensibilité et la résolution très élevées ainsi que le potentiel de précision des tirs d'échantillonnage. Suite l'analyse des résultats, il a été

conclu qu'une des principales sources d'erreur dans les méthodes quantitatives sont les effets de matrice dus aux échantillons micro-hétérogènes.

Sachant que les effets de matrices sont présents et nuisibles dans les tests LIBS quantitatifs, des études plus poussées ont été proposées pour tenter de comprendre les phénomènes en question. Il a été démontré que plusieurs propriétés sont corrélées avec l'intensité LIBS observée expérimentalement. Toutefois, des travaux futurs sont nécessaires pour modéliser ces effets de matrice afin d'optimiser les modèles quantitatifs.

8.2. Contributions et conclusions négatives

Dans cet effort de recherche, plusieurs points ont été adressés et explorés en lien avec les techniques d'analyse élémentaire XRF et LIBS. D'abord, l'applicabilité de ces méthodes en milieu pharmaceutique pour l'échantillonnage de comprimés à composition complexe a été évaluée. Les résultats ne sont pas suffisamment performants pour justifier une application directement, mais les travaux en question ont permis de déterminer les limites d'applicabilité en fonction des caractéristiques de chaque appareil et ses performances respectives.

Les applications dans le domaine spécifique ciblé sont plutôt rares, donc il existait peu de méthodes prédéveloppées pour le type d'échantillons en question. C'est pourquoi les méthodes proposées dans ce mémoire permettront d'avoir une base solide pour évaluer des applications futures.

Finalement, l'étude des effets de matrice avec la technologie LIBS n'est pas encore une branche très explorée dans la littérature scientifique, c'est pourquoi les conclusions tirées dans ces recherches permettront d'entamer l'exploration du sujet pour permettre l'amélioration des modèles quantitatifs avec cette technologie. Une compréhension approfondie des effets de matrice permettrait un potentiel d'exploitation de cette technologie innovatrice avec énormément de répercussions positives dans plusieurs domaines industriels.

8.3. Travaux futurs et améliorations possibles

Quant à la technologie XRF, les limites de performances ont été bien définies, donc dans les cas où l'erreur analytique déterminée dans cette étude peut être tolérée dans l'application en

question, XRF est un instrument pouvant permettre de quantifier plusieurs minéraux. Cette technologie permettrait de nombreux avantages par rapport à certaines techniques alternatives comme ICP.

En ce qui concerne la technologie LIBS, celle-ci ne semble pas applicable pour la quantification d'échantillons à composition complexe. Par contre, puisque ce sont les effets de matrice qui causent une augmentation drastique de l'erreur de prédiction, toute application avec des matrices simples peut considérer la technologie LIBS pour répondre au besoin et économiser des coûts et du temps. Ces applications potentielles incluent : l'analyse d'échantillons avec seulement quelques composants, l'analyse d'impuretés dans des matières premières, l'identification de minéraux présents dans des agglomérats ou dans des échantillons ayant des défaillances visibles.

Dans le but de pouvoir prochainement utiliser LIBS pour la quantification d'échantillons complexes, les travaux futurs devraient être orientés vers la compréhension de la phénoménologie des effets de matrice. Lorsque ceux-ci seront modélisables, les modèles quantitatifs pourront être optimisés et le potentiel maximal de la technologie pourrait enfin être exploité dans l'industrie.

ANNEXES

UNIVERSITÉ DE SHERBROOKE
Faculté de génie
Département de génie chimique et biotechnologique

RAPPORT FINAL

Projet de spécialité
GCH-705

Philip QUINN

Présenté à
Professeur Ryan Gosselin

Sherbrooke (Québec) Canada

3 janvier 2013

TABLE DES MATIÈRES

Annexes	128
Table des matières	129
Introduction générale	130
Section 1 : Volet théorique	131
Partie 1 – Caractéristiques de formation d'un plasma par laser	131
Partie 2 – Les spectrographes	137
Partie 3 – Les détecteurs de photons	141
Conclusion section 1	144
Section 2 : Volet pratique	145
Revue de la littérature	145
Présentation des résultats et méthodes	148
Conclusions du volet expérimental et travaux futurs	175
Conclusion générale	177

INTRODUCTION GÉNÉRALE

LIBS (Laser Induced Breakdown Spectroscopy) est une technologie émergente. Sa vitesse de lecture ainsi que son potentiel d'analyser des échantillons sans prétraitement lui confère des avantages par rapport à d'autres technologies analytiques sous certaines circonstances. C'est pour ces raisons qu'un projet de spécialisation sur cet appareil a été entamé dans le cadre du cours GCH-705. Ce projet a pour objectif premier de se familiariser avec le fonctionnement et les composantes d'une telle technologie en plus de s'initier au fonctionnement de l'appareil pour connaître ses capacités et limites spécifiques.

Le projet se produira en deux sections : une première section strictement théorique qui servira à faire une revue de la littérature sur le fonctionnement général de la technologie en plus d'apprendre la théorie sur la formation et l'évolution d'un plasma induit par laser tel que produit dans la technologie LIBS. La deuxième section sera principalement expérimentale et consistera à déterminer une méthode pour estimer l'épaisseur d'enrobage sur des comprimés pharmaceutiques multivitaminés. Le caractère destructif des ablations laser sera utilisé pour tenter d'estimer la profondeur d'enrobage. Une revue de littérature sera aussi nécessaire pour planifier les expériences adéquatement.

Les objectifs de la première section sont de se familiariser avec les composantes principales utilisées en spectroscopie LIBS ainsi que d'étudier les caractéristiques de formation d'un plasma. Dans la deuxième section, les objectifs sont de se familiariser avec le fonctionnement technique de l'appareil de déterminer si cette méthode peut possiblement être utilisée pour évaluer l'épaisseur d'un enrobage pharmaceutique.

SECTION 1 : VOLET THÉORIQUE

Même si les plasmas sont omniprésents dans l'environnement et dans l'espace, cet état de matière demeure celui qui est le moins bien connu à ce jour. Cela peut être expliqué par ses interactions interatomiques complexes dues au niveau d'ionisation élevé des atomes. La stabilité des plasmas est alors une notion à étudier pour comprendre comment les manipuler de façon sécuritaire. L'avenue du laser dans les années 50 a permis d'atteindre des températures locales suffisamment élevées pour générer un état de plasma artificiellement. C'est basé sur ce principe que la technologie LIBS (Laser Induced Breakdown Spectroscopy) est fondée. D'ailleurs, un laser à haute puissance est utilisé pour faire l'ablation d'une faible masse à la surface d'un échantillon. Une fraction de cette masse ablatée est excitée à l'état de plasma lui permettant ainsi d'émettre des photons d'énergies spécifiques à la composition atomique du plasma. Le principe de cette technologie est connu depuis plusieurs décennies, mais ce n'est que récemment que l'avancement technologique a permis de développer les composantes nécessaires pour mettre en œuvre un tel principe.

Le rapport est divisé en trois parties principales : une étude des caractéristiques de formation d'un plasma et l'influence de ceci sur la technologie LIBS, une revue des divers spectrographes disponibles pour faire la dispersion de la lumière provenant d'un appareil LIBS et finalement, une étude des multiples détecteurs disponibles applicables à la technologie d'intérêt.

Partie 1 – Caractéristiques de formation d'un plasma par laser

D'abord, dans la plupart des appareils LIBS, un laser à forte énergie est utilisé par impulsions d'une durée de l'ordre des picosecondes à des microsecondes [Sneddon, 1999]. Une puissance de l'ordre des mégawatts aux gigawatts est alors générée. Cela permet une transmission très rapide de quelques centaines de millijoules à un très faible volume de matière puisque le coefficient d'absorption de l'énergie lumineuse est élevé pour la plupart des échantillons solides pharmaceutiques. Cette énergie permet d'éjecter les électrons des atomes touchés par le laser. Certains agrégats de matière sont aussi éjectés à l'état solide dû à l'effet d'explosion de la surface ablatée. Cette étape est la croissance du plasma et elle sera expliquée en plus de détails dans la section suivante. Ensuite, le cycle de vie du plasma induit par laser sera complété en terminant par la condensation de celui-ci.

Étape 1: Vaporisation

La première étape de production d'un plasma est l'absorption de l'énergie lumineuse par les particules de surface de l'échantillon. Lors d'une collision d'un photon avec la matière, celle-ci peut être soit élastique ou inélastique. Lors des collisions inélastiques, il y a absorption d'une certaine proportion de l'énergie du photon initial par la particule heurtée. Ceci est particulièrement important dans l'étude des interactions laser-matière puisque c'est ce phénomène qui permet de chauffer la surface visée par le laser. Par contre, ce phénomène d'acquisition d'énergie thermique est complexe et varie en fonction de plusieurs paramètres tels que la longueur d'onde du laser, la nature de la matière, la qualité de la surface échantillonnée et la composition de l'espace entre l'origine du faisceau lumineux et l'échantillon [Miziolek *et al.*, 2006]. Les différents types

de matières se vaporiseront en fonction de leur coefficient d'absorption de la lumière incidente, la chaleur latente de vaporisation, la chaleur spécifique et la conductivité thermique [Miziolek *et al.*, 2006].

De plus, l'énergie est transférée dans l'échantillon par conduction permettant ainsi de chauffer un certain volume de matière. Différents lasers ont évidemment différents pouvoirs pénétrant dans les matières. En général, les applications LIBS utilisent des lasers de 1064 nm [Miziolek *et al.*, 2006]. Toutefois, dans les applications étudiées dans ce rapport, la profondeur de pénétration du faisceau lumineux est du même ordre de grandeur que la largeur de celui-ci [Miziolek *et al.*, 2006]. La matière contenue dans ce volume peut alors passer à l'état gazeux assez rapidement pour négliger la transition à la phase liquide [Boulmer-Leborgne *et al.*, 1993].

Deux notions particulièrement importantes lorsque le sujet des plasmas est abordé sont sa température et sa densité électronique. Premièrement, il est possible d'estimer l'augmentation de température en approximant que le profil de température évolue linéairement en fonction de la position [Hermann *et al.*, 1993a], ce qui s'avère être applicable lorsqu'une impulsion de très courte durée est appliquée tel est le cas avec la technologie LIBS. Les détails de l'application de cette formule sont disponibles dans l'article de Hermann *et al.* [Hermann *et al.*, 1993b].

La deuxième notion pertinente à aborder est le calcul de la densité électronique du plasma. Tel qu'il sera détaillé dans les paragraphes qui suivent, le principe d'éjection d'électrons dominant pour les lasers de plus de 1000 nm (laser Nd : YAG opère typiquement à 1064 nm) est le procédé thermionique [Boulmer-Leborgne *et al.*, 1993]. La densité électronique peut être calculée à l'aide de la relation de Saha [Radziemski et Cremers, 1989] qui met en relation la densité de particules neutres, la densité d'électrons, la température du plasma et le potentiel d'ionisation des particules neutres. Finalement, pour plus d'informations sur l'application de cette formule, un document de l'Université de Cambridge explique plus de détails [Bradt, 2009].

La densité électronique influence les caractéristiques physico-chimiques du plasma d'où son importance. De plus, cette valeur dépend de la température de surface de l'échantillon à la puissance 1.5 ce qui permet de comprendre pourquoi cette notion est pertinente. La densité d'électron représente aussi le degré d'ionisation puisque plus il y a d'électrons libres, plus il y aura d'ions libres dans le plasma permettant de lui conférer des caractéristiques particulières. Entre autres, les propriétés optiques des électrons dépendent fortement de la densité électronique [Boulmer-Leborgne *et al.*, 1993]. À l'atteinte d'un seuil critique, le plasma perd sa transparence par rapport au faisceau lumineux et il absorbe la quasi-totalité de l'énergie du laser masquant ainsi la surface de l'échantillon. C'est un phénomène qui sera abordé en détail dans la section Étape 3: Propagation du plasma puisque c'est un phénomène à éviter en spectroscopie LIBS.

Étape 2: Ionisation

Ce qui confère au plasma ses caractéristiques particulières est l'ionisation des particules faisant qu'il y a plusieurs particules chargées dans le fluide. Il est possible d'observer des caractéristiques de plasma avec un degré d'ionisation aussi faible que 1% [Wikipedia,

2012a], l'ionisation totale n'est donc pas nécessaire pour avoir un état de plasma. Il existe deux voies principales de production d'électrons : l'ionisation multiphotonique et l'ionisation thermionique qui a été abordée précédemment dans ce rapport.

D'abord, les deux procédés d'ionisation sont semblables. La voie multiphotonique consiste en l'absorption de plusieurs photons simultanément dont l'absorption totale d'énergie est égale ou supérieure à la fonction de travail de l'atome. Cette fonction de travail correspond à l'énergie nécessaire pour éjecter l'électron en question. L'électron peut alors se détacher de l'orbite de son atome avec une énergie cinétique décrite par :

$$E_k = N * h\nu - E$$

Équation 8.1 : Énergie cinétique d'un électron éjecté par l'effet multiphoton [Mainfray et Manus, 1991]

Où E_k est l'énergie cinétique de l'électron (eV), N est le nombre de photons absorbés (adimensionnel), $h\nu$ est l'énergie d'un des photons absorbés (eV) (dans ce cas, un faisceau monochromatique est utilisé, tel un laser) et E est l'énergie de liaison de l'électron (eV). Plus la longueur d'onde est élevée, plus le nombre de photons requis sera grand pour éjecter un électron. C'est pourquoi c'est moins probable d'observer ce processus avec des lasers de longueur d'onde supérieure à 1000 nm [Boulmer-Leborgne *et al.*, 1993].

D'autre part, la voie thermionique est dominante lorsque les photons ont une faible énergie. Cette méthode fonctionne par l'absorption d'énergie lumineuse par la matrice. Les photons sont graduellement absorbés et ceci excite les atomes petit à petit. L'énergie se transmet alors par conduction dans la matière. Ceci favorise l'augmentation de la température et donc par collisions multiples, les électrons peuvent acquérir assez d'énergie pour quitter leurs orbitales atomiques et générer des ions [Wikipedia, 2012b].

La cascade électronique

La cascade électronique est un phénomène qui doit se produire pour qu'il y ait formation de plasma (à toutes fins pratiques dans les applications LIBS). L'étape d'ionisation des atomes doit atteindre un certain seuil où la cascade d'électrons est déclenchée. Ce seuil est atteint lorsque l'augmentation d'énergie des électrons surpasse le taux de perte d'énergie des électrons :

$$\tau_+ > \tau_-$$

Équation 8.2 : Critère du déclenchement de l'avalanche d'électrons [Boulmer-Leborgne *et al.*, 1993]

Où τ_+ est le taux d'augmentation d'énergie (MW/cm²) et τ_- (MW/cm²) est le taux de diminution d'énergie des électrons.

Puisque l'apport principal d'énergie est le laser, seulement celui-ci se retrouve dans le terme τ_+ . D'autre part, le terme de perte provient des collisions élastiques et inélastiques avec les particules neutres dans le fluide. Le terme de droite a été estimé à :

$$\tau_- = 2 * 10^3 * \frac{\Delta}{\lambda^2 * M}$$

Équation 8.3 : Estimation du taux de perte d'énergie des électrons [Boulmer-Leborgne *et al.*, 1993]

Où Δ est le potentiel d'ionisation des particules neutres (eV) aussi connu sous le nom d'énergie d'ionisation et λ est la longueur d'onde (μm). La valeur du potentiel d'ionisation est souvent dans l'ordre de 13.6 eV, puisqu'elle correspond au potentiel d'ionisation de l'hydrogène [Down, 2007]. Aussi, M est la masse atomique (amu).

Le critère pour déclencher une avalanche électronique est donc [Boulmer-Leborgne *et al.*, 1993]:

$$I > 2 * 10^3 * \frac{\Delta}{\lambda^2 * M}$$

Équation 8.4: Critère pour le déclenchement d'une avalanche électronique

Où I est la densité de puissance lumineuse du laser (MW/cm^2). Connaissant cette relation, c'est facile d'affirmer qu'un laser à plus grande longueur d'onde nécessitera une plus faible puissance pour initier l'avalanche d'ionisation. Par contre, il faut noter qu'une plus faible quantité de matière sera ablatée avec moins d'énergie.

Étape 3: Propagation du plasma

Ensuite, lorsque la cascade d'ionisation est débutée, il existe divers types de modes de propagation du plasma en fonction de l'intensité lumineuse fournie par le laser. Voici les trois types d'ondes de propagation qui sont principalement rencontrés :

- Onde *laser supported combustion* (LSC) : Se produit à faible puissance de laser (10^4 - 10^7 W/cm^2);
- Onde *laser supported detonation* (LSD) : Se produit à moyenne puissance de laser (10^7 - 10^9 W/cm^2);
- Onde *laser supported radiation* (LSR) : Se produit à haute puissance de laser (10^9 W/cm^2 et plus).

Voici une figure résumant les différences de propriétés thermodynamiques de chaque type de front de propagation :

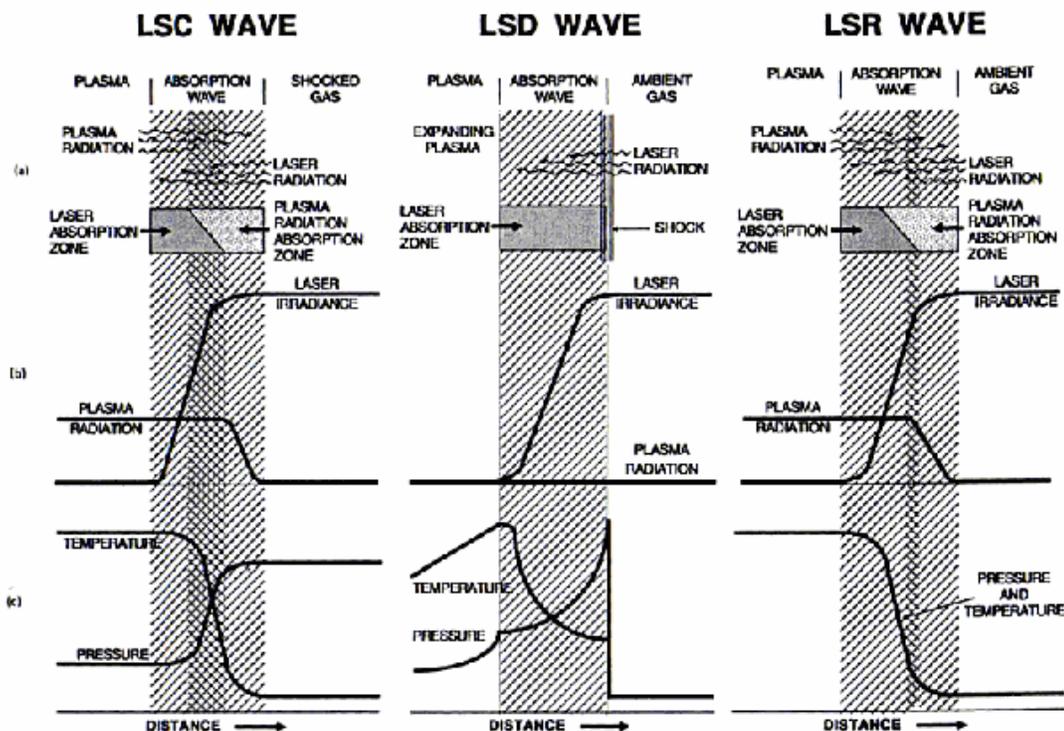


Figure 8.1 : Comparaison des trois types de front de propagation d'un plasma induit par laser [Radziemski et Cremers, 1989]

Les trois types d'ondes de propagation diffèrent par leurs propriétés physico-chimiques et optiques comme l'absorbance du front de l'onde, la température, la pression, la vitesse et la direction d'expansion.

Plus le degré d'ionisation du plasma est élevé, plus son niveau d'absorbance de l'énergie du laser augmente. À un certain point, le laser ne pénètre plus le front du plasma et celui-ci subit une expansion en direction du faisceau lumineux et ce, jusqu'à ce que l'irradiation cesse ou sinon, lorsque la puissance du laser diminue assez pour ne plus pouvoir supporter l'ionisation du plasma.

Dans l'onde LSC, le principal mécanisme de propagation est la conduction thermique puisque le niveau d'énergie du laser est plus faible. Cela crée une expansion plus lente et l'onde de propagation devance le plasma et elle se fait chauffer par radiation due à la photorecombinaison des électrons et des ions du plasma [Sneddon, 1999].

Lorsque l'apport en énergie augmente, la propagation se fait plutôt par une onde LSD. Puisque l'absorption d'énergie lumineuse est plus grande, l'ionisation se fait simultanément avec la vaporisation, donc le plasma débute l'absorption du laser quasi instantanément, générant ainsi une onde d'expansion suivie directement par le plasma [Sneddon, 1999].

Avec un laser encore plus puissant, il y a ionisation partielle du gaz avant l'étape de vaporisation de l'échantillon, donc il y a un devancement du plasma par rapport à l'onde

de propagation générée par l'augmentation drastique de pression à la surface de l'échantillon : c'est l'onde LSR. Ceci fait en sorte que la température et la pression du plasma augmentent plus lentement que dans les deux autres mécanismes de propagation [Radziemski et Cremers, 1989; Sneddon, 1999].

Étape 4: Refroidissement et condensation

La dernière étape consiste à la diminution du niveau d'énergie acquis jusqu'à l'état d'équilibre soit un retour à l'état solide. Pour ce faire, le plasma chaud échange avec son environnement et perd de l'énergie par conduction dans l'échantillon et dans l'air environnant ainsi que par recombinaison radiative, aussi connue sous le nom de photorecombinaison. La recombinaison radiative se produit lorsque les électrons se recombinent aux noyaux atomiques et pour compenser la diminution du niveau énergétique, ils émettent un photon du même niveau d'énergie que cette diminution. Ceci génère les photons qui constituent la lumière blanche initiale du plasma. Cette lumière blanche ne contient pas beaucoup d'information utile pour l'identification ou la quantification des éléments présents, car il y a très peu de variation d'intensité par rapport à la longueur d'onde. Ce phénomène est aussi dû à l'émission Bremsstrahlung. Ce phénomène se produit lorsqu'un électron est décéléré de façon très rapide, par exemple, lorsqu'il y a collision avec un noyau atomique. Cela cause l'émission d'un photon d'énergie équivalente à l'énergie cinétique perdue. Dans le mélange d'ions et d'électrons, les électrons suivent une distribution de vitesses, donc l'émission Bremsstrahlung et la photorecombinaison font en sorte que la lumière initiale du plasma induit par impulsion laser ne permet pas de déterminer la composition [Miziolek *et al.*, 2006].

Par la suite, lorsque la plupart des électrons libres sont retournés en orbite dans les atomes, ceux-ci demeurent à l'état excité et continuent à diminuer leur niveau d'énergie. Les électrons sautent alors d'un état d'excitation à un autre plus faible et émettent alors les photons qui sont intéressants pour l'analyse LIBS [AppliedSpectra, 2012]. Après une attente de l'ordre des microsecondes, ces lignes spectrales perdent la majorité de leur intensité et les éléments traces deviennent impossibles à discerner. Il faut alors débiter l'acquisition avant cette disparition [Hübert et Ankerhold, 2011]. Ce compromis varie d'un type d'échantillon à l'autre encore une fois, c'est pourquoi il faut adapter la méthodologie [Hübert et Ankerhold, 2011].

Dans un premier temps, comme il vient d'être expliqué, les photons émis par le plasma ne permettent pas toujours de déterminer la composition de celui-ci, car il y a émission d'un continuum lumineux. La lecture doit idéalement être prise suite à l'émission de ce continuum. Dans une étude portée sur les interprétations erronées LIBS, ce phénomène a été démontré [Hübert et Ankerhold, 2011]. Celui-ci est communément appelé l'effet Stark. Cet effet cause des translations et des élargissements des pics spectraux et il doit donc être limité pour améliorer la qualité de la prise des résultats. Finalement, pour une lecture d'un échantillon d'aluminium, un délai de lecture d'environ 1000 ns suffit pour éliminer la translation presque totalement (à une échelle de 0.1 nm de précision) [Hübert et Ankerhold, 2011]. Toutefois cette valeur pourrait changer en fonction de la composition de l'échantillon, par contre, un producteur de sonde LIBS généralise cette valeur en affirmant que le délai est normalement autour de 1000 ns et plus [AppliedSpectra, 2012].

Il est aussi important d'optimiser le temps d'acquisition pour limiter la perte de la signature spectrale des éléments traces et limiter la translation du spectre. Ce paramètre va de pair avec le délai de lecture, car l'évolution du plasma est indépendante de l'initiation de l'acquisition. Il faut donc faire l'optimisation de façon expérimentale pour être adapté à l'échantillon qui doit être étudié.

En somme, voici une ligne du temps permettant de visualiser les informations présentées dans les quatre étapes précédentes sous forme temporelle:

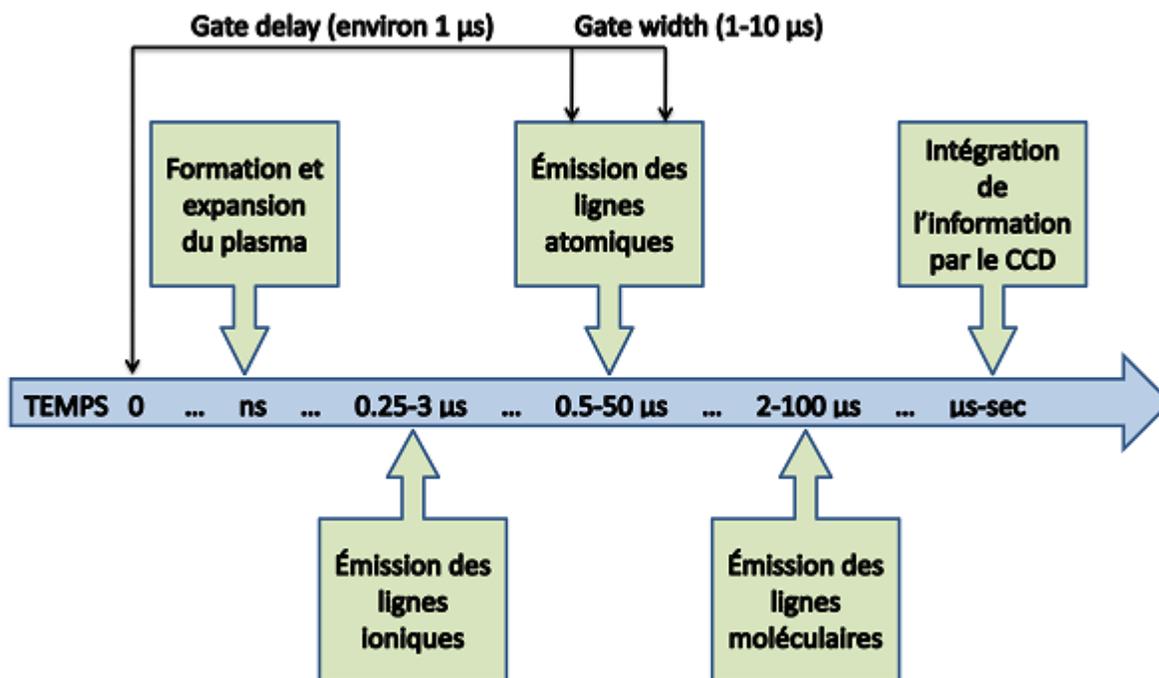


Figure 8.2: Ligne du temps pour le fonctionnement d'une lecture LIBS

Partie 2 – Les spectrographes

Suite à l'émission de photons par le plasma induit par laser, le faisceau doit être séparé en fonction des différentes longueurs d'onde présentes pour pouvoir en analyser le contenu avec précision. Plusieurs technologies existantes permettent de faire cette séparation avant l'étape de la détection. Cette partie du rapport fera un survol de ces technologies, leur fonctionnement et leurs applications.

Monochromateur

Le monochromateur est probablement la technologie la plus simple pour séparer les différentes longueurs d'onde d'un faisceau lumineux. Toutefois, tel que son nom l'indique, seulement une faible étendue de longueurs d'onde est analysée à la fois. Normalement, cette étendue est adaptée en fonction de la largeur du pic d'intérêt à analyser. En ajoutant des pièces mobiles, il est possible de balayer une région de

longueurs d'onde d'intérêt. Le monochromateur le plus commun est le type Czerny-Turner [LOT, 2012]. Voici un schéma de ce type d'appareil :

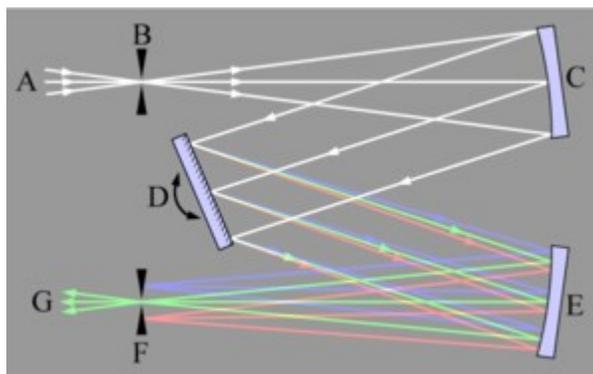


Figure 8.3 : Schéma d'un monochromateur Czerny-Turner

L'appareil de la Figure 2.3 : Schéma d'un monochromateur Czerny-Turner fonctionne comme suit : un faisceau lumineux (A) est passé dans une fente (B) d'une largeur spécifique pour le miroir collimateur (C) pour orienter les photons, ensuite, un réseau (D) est utilisé pour faire la séparation des photons par longueur d'onde. Ceux-ci sont alors acheminés à un miroir concentrateur (E) où les longueurs d'onde semblables seront concentrées ensemble et la longueur d'onde à analyser sera centrée et elle sera la seule à pouvoir passer dans la seconde fente (F). La largeur de cette fente détermine l'étendue de longueurs d'onde à la sortie.

En modifiant l'angle des composantes, il est possible d'étudier plusieurs longueurs d'onde [Mohsenin, 1984]. Dans le cas de la technologie LIBS, ceci n'est pas très favorable puisque les tests ne sont pas reproductibles et la durée de vie du plasma est très restreinte, donc il n'y aurait pas suffisamment de temps pour prendre plusieurs mesures en changeant la configuration des composantes optiques pendant la durée de vie d'un même plasma induit par laser. Cette technologie serait donc principalement applicable dans le cas où un seul élément doit être suivi.

C'est en effet possible d'utiliser cette technologie pour analyser de plus grandes plages de longueurs d'onde, mais la résolution n'est pas aussi bonne que pour d'autres technologies tel le spectrographe échelle [Unnikrishnan *et al.*, 2010].

Le principal avantage de cette technologie est le faible coût. De plus, le produit est beaucoup plus compact et léger qu'un spectrographe échelle par exemple [Mohsenin, 1984].

AOTF

L'AOTF (acousto-optic tunable filter) est une autre technologie permettant d'acquérir de l'information univariée comme les monochromateurs. Toutefois, le principe de fonctionnement n'est pas le même. Voici un schéma du fonctionnement d'un AOTF :

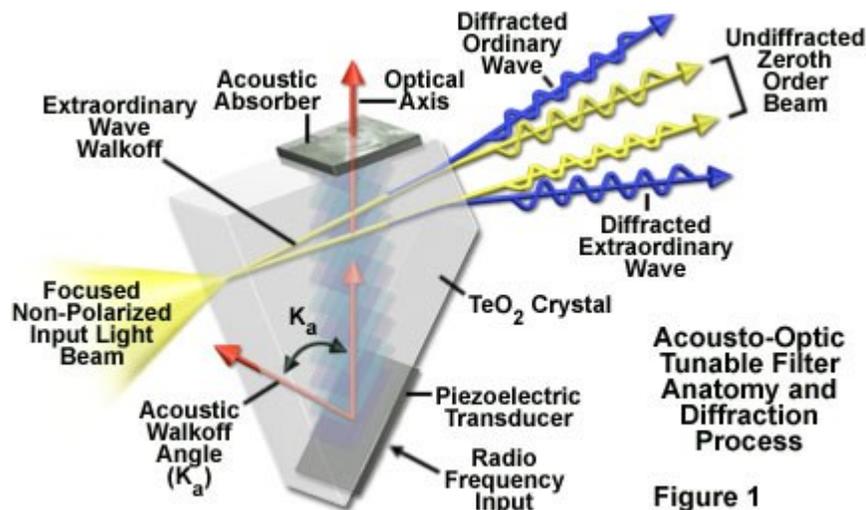


Figure 8.4 : Fonctionnement d'un ATOF [Spring, 2006]

Un cristal d'oxyde de tellure (TeO_2) est utilisé comme matériel à diffracter dans cet appareil de séparation de photons (Figure 8.4 : Fonctionnement d'un ATOF). Lorsqu'une onde est passée dans le cristal par un transducteur acoustique, l'indice de réfraction du matériau varie de façon sinusoïdale lui permettant ainsi d'écarter seulement une longueur d'onde spécifique [Miziolek *et al.*, 2006]. Le principe est basé sur l'effet acousto-optique qui consiste à la diffraction d'un faisceau lumineux lorsqu'il rencontre une onde acoustique [ENS-Cachan, 2001]. L'importance de la diffraction varie en fonction de l'élasticité du milieu. L'onde acoustique est une onde qui se propage par compression et décompression adiabatique. C'est ceci qui génère la variation de densité du matériau. La longueur d'onde diffractée peut être variée en modifiant la fréquence de l'onde acoustique. Il est donc possible d'étudier plusieurs longueurs d'onde avec le même appareil, toutefois, pour les mêmes raisons que les monochromateurs Czerny-Turner, ceci n'est pas très favorable dans le cas d'une application LIBS où plusieurs éléments doivent être suivis.

Les avantages sont aussi le prix et le format compact d'une telle technologie d'analyse optique.

Spectrographe Échelle

Le spectrographe échelle, à ne pas confondre avec le réseau échelle, est communément utilisé pour les applications LIBS puisqu'il offre une meilleure résolution sur une plus grande plage d'ondes électromagnétiques soit environ 0.05nm de résolution [Unnikrishnan *et al.*, 2010] entre 190 et 800 nm où se trouvent la majorité des principaux pics d'émission atomiques [Miziolek *et al.*, 2006]. Voici un schéma de son fonctionnement :

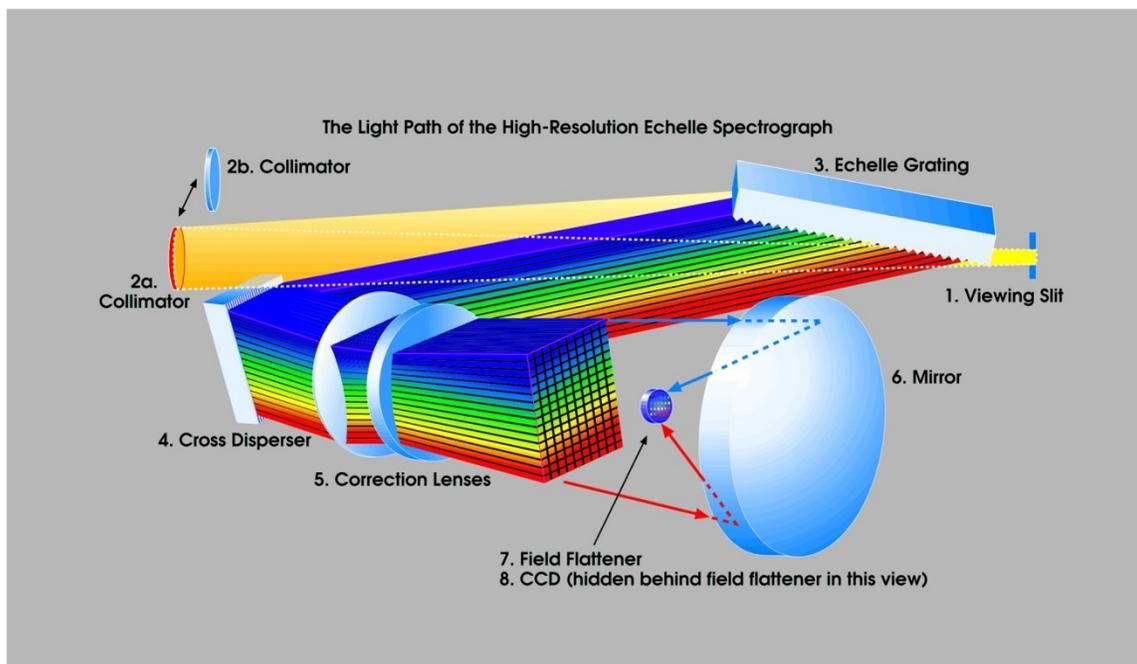


Figure 8.5 : Fonctionnement d'un spectrographe échelle [Vogt, 2012]

En passant par deux réseaux orthogonaux, la lumière prend une forme en deux dimensions, contrairement à l'utilisation d'une seule composante de diffraction. Dans la Figure 2.4 : Fonctionnement d'un spectrographe échelle [Vogt, 2012], le premier réseau (3) fait une première séparation du faisceau en fonction du niveau d'énergie des photons. Ensuite, une deuxième composante de diffraction, soit un prisme ou un réseau (4) sert à disperser le faisceau sur un axe orthogonal au premier afin d'obtenir une séparation sur un plan plutôt que strictement linéaire. Ensuite, un système de lentilles permet d'acheminer le faisceau séparé au détecteur. Il sera exploré dans la section sur les méthodes de détection de photons comment ceci peut être avantageux. Cette séparation en deux dimensions permet d'accentuer la résolution pour une même taille de spectrographe.

L'utilisation de cette technologie peut significativement améliorer les limites de détection d'un appareil LIBS et ceci augmentant la résolution de l'appareil spectroscopique [Bauer *et al.*, 1998].

Pour choisir quelle technologie est la plus applicable à un certain besoin, il suffit de regarder quelques critères : la complexité de l'échantillon à analyser, le nombre d'éléments à suivre, la position des lignes d'émission des éléments à suivre et leur intensité relative et le besoin d'analyser plusieurs éléments simultanément ou séquentiellement [Miziolek *et al.*, 2006].

Dans le cas de l'analyse de comprimés multivitaminés, le spectrographe échelle serait la meilleure option puisque plusieurs éléments doivent être quantifiés de façon simultanée et puisqu'il y a plusieurs éléments dans la composition (plus de 20) du comprimé, il y aura plusieurs pics d'émission rapprochés. Les banques de données NIST ont été

consultées pour ressortir les principaux pics dans la plage de 200 à 1000nm pour chacun des éléments d'intérêt [NIST, 2010]. Ces données sont disponibles en annexe.

Partie 3 – Les détecteurs de photons

La dernière composante majeure d'un équipement LIBS est le compteur de photons ou aussi appelé, le détecteur. Il existe divers types de détecteurs pour différentes applications. En général, un détecteur sera adapté à un type de spectrographe [Miziolek *et al.*, 2006].

Les détecteurs univariés

Premièrement, il existe des détecteurs généraux qui font simplement le décompte des photons qui arrivent sur la surface du pixel. Ce sont les détecteurs les plus simples sur le marché et parmi ceux-ci les PMT (photo multiplier tubes) et les PD (photodiodes) s'y retrouvent. Il a été démontré que couplés avec un spectrographe adéquat tels les monochromateurs Czerny-Turner ou les AOTF [Miziolek *et al.*, 2006], ces technologies peuvent détecter efficacement la plupart des éléments dans des concentrations variant de six ordres de grandeur, soit de 100% à 0.001% [Sweedler *et al.*, 1989]. Par contre, le désavantage est que ceux-ci font un décompte ponctuel plutôt que sur un continuum, donc il y a évidemment la possibilité de mettre plusieurs fentes dans un spectrographe Czerny-Turner aux endroits d'intérêt, couplé avec un détecteur PMT ou PD à chaque extrémité. Il y a toutefois des limites quant au nombre de pics qui peuvent être suivis avec cette méthode, c'est pourquoi ces détecteurs ne sont pas recommandés pour des analyses multiélémentaires. Voici une figure qui résume le fonctionnement d'un PMT:

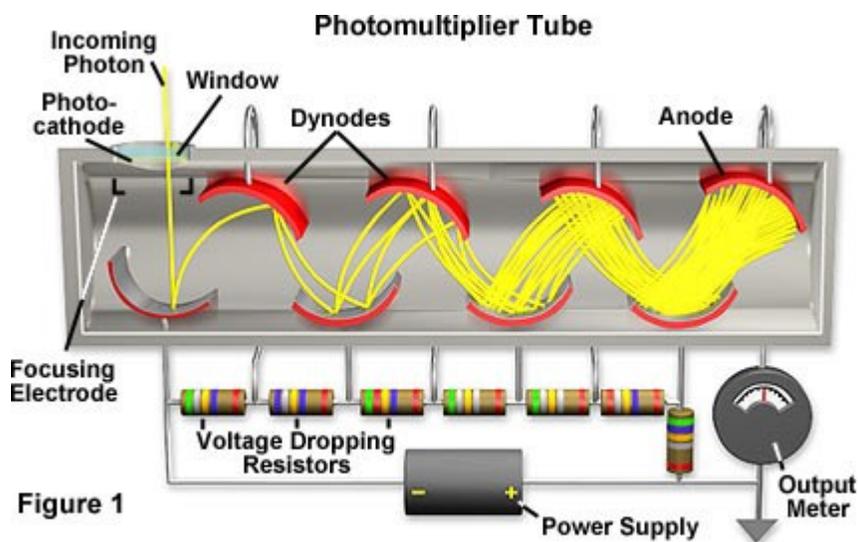


Figure 8.6 : Schéma d'un PMT [Davidson, 2004]

Dans la Figure 2.5 : Schéma d'un PMT, le photon entre par la plaque de quartz et entre en collision avec une photocathode d'une épaisseur parfaitement optimisée : si elle est trop mince, la plupart des photons ne seront pas absorbés et si elle est trop épaisse, les électrons éjectés ne pourront pas se rendre à la première dynode avant la prochaine collision [Davidson, 2004]. L'électron est éjecté par l'effet photoélectrique et il est

acheminé à la dynode (pièce rouge) qui est chargée positivement. D'une dynode à l'autre, la charge positive augmente de plus en plus, donc les électrons voyagent d'une plaque à l'autre en se multipliant par le principe d'émission secondaire. Celui-ci consiste à éjecter un second électron suite à la collision du premier électron accéléré par le champ électrique de la dynode. Enfin, le voltage peut être mesuré et celui-ci est proportionnel à la quantité de photons incidents.

Similairement, la photodiode fonctionne de la même façon que le PMT, mais sans le phénomène d'amplification du signal. C'est-à-dire qu'une différence de potentiel est générée par l'effet photoélectrique pour compter le nombre de photons incidents.

Les détecteurs multivariés

Ensuite, lorsqu'un continuum de lumière doit être analysé, il existe plusieurs technologies disponibles pour obtenir plusieurs pixels d'information simultanément. D'abord, la méthode la plus simple consiste à juxtaposer des photodiodes de façon linéaire pour obtenir un PDA (photodiode array). La résolution de cette technologie est proportionnelle à son nombre de pixels (nombre de photodiodes) et donc à sa longueur. Il existe des détecteurs encore plus évolués soit les CCD (Charge coupled device) et les CID (Charge injection device). Cette famille de détecteurs fonctionne en accumulant la charge pendant un certain nombre de temps pour ensuite faire la lecture. D'autre part, les PMT et les PD donnent une lecture en continu. Pour une application LIBS, la lecture continue n'est pas nécessaire si l'échantillon est assez bien connu ce qui permet d'optimiser le Gate delay qui correspond au temps attendu avant le début de l'acquisition du détecteur. Voici un schéma faisant une analogie avec un CCD:

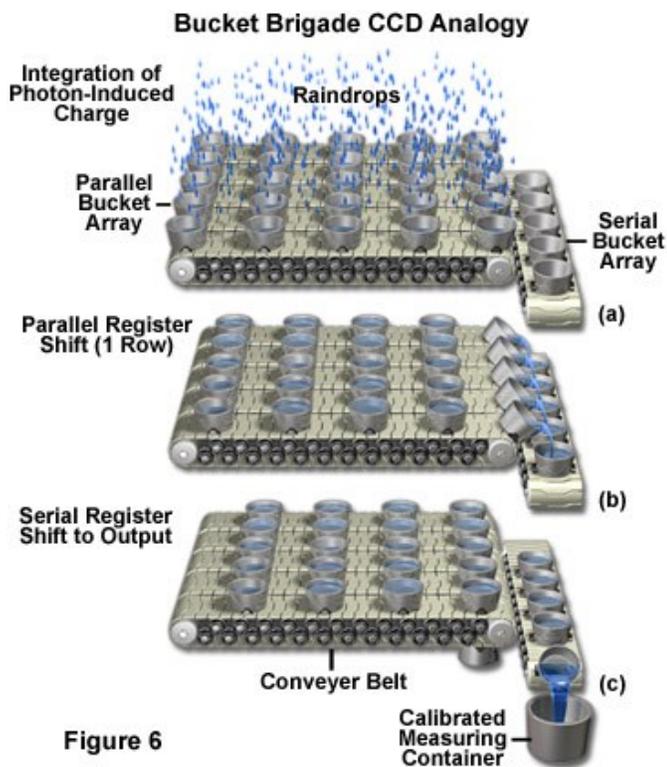


Figure 8.7 : Analogie entre un CCD et de l'eau de pluie transférée dans des seaux [Davidson, 2004; Hazelwood, 2012]

Dans la Figure 2.6 : Analogie entre un CCD et de l'eau de pluie transférée dans des seaux, l'eau de pluie correspond aux photons. Tel le fonctionnement des photodiodes, une charge s'accumule sur chaque condensateur. La lecture de la charge accumulée se fait alors une cuve à la fois expliquant pourquoi le CCD ne peut pas donner de lecture en continu. Par contre, il faut noter que le temps d'intégration est dans l'ordre des microsecondes [Miziolek *et al.*, 2006]. Les charges peuvent être transférées d'une rangée à l'autre en appliquant des charges négatives sur des pièces adjacentes éloignant ainsi les électrons accumulés permettant de mesurer la charge que chaque condensateur portait au moment de la lecture. Les CCD sont les détecteurs les plus fréquemment utilisés en spectroscopie à ce jour [Florek *et al.*, 2001].

Pour faire un lien avec la section précédente, le spectromètre échelle est une technique qui profite du caractère à deux dimensions des CCD (charge coupled device), car elle génère un plan lumineux séparé par deux réseaux orthogonaux. Cela permet d'obtenir des résolutions équivalentes à des photodiodes (PDA) d'envergures inimaginables. Soit un CCD carré de 1024 pixels, la PDA équivalente aurait une longueur de 1024 pixels alors que les dimensions du CCD sont seulement de 32x32 pixels, donc la dimension maximale est 32 fois moins élevée avec un spectrographe échelle due à sa conception. Cela équivaut à une résolution 32 fois plus grande pour un détecteur CCD de la même dimension maximale qu'un monochromateur Czerny-Turner. Ceci a été observé par des expériences qui ont comparé la résolution de ces deux types de détecteurs. Le

spectromètre échelle offrait une résolution environ 20 fois plus élevée que celui de type Czerny-Turner [Unnikrishnan *et al.*, 2010].

Finalement, les CID fonctionnent de façon similaire aux CCD, mais la lecture du voltage peut se faire directement sur chacun des pixels, ce qui rend cette technologie non-destructive quant aux charges sur chacun des pixels. Cette propriété lui permet d'éviter certains problèmes optiques tels que le blooming, qui consiste à un transfert de la charge d'un pixel saturé électriquement à son pixel voisin [Bhaskaran *et al.*, 2008]. Ceci diminue la qualité de l'image et dans le cas de LIBS, ça pourrait nuire aux résultats si le détecteur est surchargé ou s'il y a trop d'écart entre les émissions des pics à suivre.

Un autre avantage du détecteur CID est sa sensibilité accrue dans la plage des rayons UV [Bhaskaran *et al.*, 2008]. La majorité des éléments émettent leurs principaux pics dans les longueurs d'ondes des faibles UV et plus, donc cette caractéristique pourrait s'avérer utile puisque sous 300nm, l'efficacité quantique des CCD diminue considérablement [Spring, 2012].

Conclusion section 1

Finalement, le présent rapport a fait le survol des diverses technologies applicables en tant que spectrographe et détecteur pour un appareil LIBS. En somme, les détecteurs permettant des lectures multivariées telles que les CCD et les CID semblent être les plus avantageux pour l'application désirée, soit l'analyse d'un plasma induit par laser. Celles-ci offrent des meilleures résolutions à plusieurs longueurs d'onde simultanément, ce qui peut s'avérer particulièrement utile lors d'analyses d'échantillons complexes. De plus, les divers types de détecteurs fonctionnent idéalement avec leur spectrographe approprié. Dans le cas d'un CCD ou un CID, le spectrographe échelle est une technologie largement utilisée pour des applications spectroscopiques puisqu'il permet la séparation du faisceau en deux dimensions pour profiter du caractère bidimensionnel des détecteurs correspondants.

SECTION 2 : VOLET PRATIQUE

Revue de la littérature

Introduction de la technologie

La mesure de l'épaisseur de l'enrobage a déjà été mesurée par diverses techniques d'ablation telles que *Secondary Ion Mass Spectrometry* (SIMS) [Konarski *et al.*, 2008], *Glow Discharge Mass Spectrometry* (GDMS) [Konarski *et al.*, 2008], *Laser-Ablation Inductively Coupled Plasma* (LA-ICP) [Mateo *et al.*, 2006], X-Ray Photoelectron Spectroscopy (XPS) [Sakai *et al.*, 2010] et *Auger Electron Spectrometry* (AES) [Mateo *et al.*, 2006; Zalar, 2000]. Certaines de ces techniques ont des restrictions telles que le format de l'échantillon, les conditions expérimentales requises, le temps d'analyse et la résolution latérale ou en profondeur [Ardakani et Tavassoli, 2010]. Voici un tableau résumant les inconvénients de certaines techniques :

Technologie	Inconvénient/restriction
SIMS	Profondeur d'échantillonnage très faible
GDMS	Prix = 500 000\$ et plus
LA-ICP	Requiert un environnement contrôlé (hotte) et des consommables
XPS	Profondeur d'échantillonnage très faible (1 μm et moins)
AES	Profondeur d'échantillonnage très faible (3 nm)

Tableau 8.1: Inconvénients des technologies alternatives utilisées pour la mesure d'épaisseurs de films

C'est pour ces diverses raisons que la technologie LIBS est intéressante puisqu'elle permet la prise de mesure en très peu de temps sur des échantillons de format variable tout en permettant l'analyse à pression atmosphérique dans une atmosphère d'air.

L'industrie pharmaceutique s'intéresse aux techniques d'analyse d'épaisseur de film pour contrôler l'application des couches d'enrobage sur les comprimés. Ces couches d'enrobage servent à plusieurs fonctions telles que le contrôle de la dégradation du comprimé, la protection contre les ingrédients actifs sensibles à la lumière, l'ajout d'un ingrédient actif ou simplement pour le caractère esthétique du produit.

Exploration des paramètres expérimentaux

La technologie LIBS a déjà été appliquée pour déterminer l'épaisseur d'enrobages pharmaceutiques en faisant un suivi d'éléments spécifiques à l'enrobage ou au cœur. Dans l'article de Dubey *et al.*, le titane était utilisé comme traceur pour suivre la signature spectrale de l'enrobage puisque c'était un élément absent dans les cœurs des comprimés. Le signal de titane n'atteignait jamais une valeur nulle puisqu'il se produit un effet de parois lors de l'analyse en profondeur avec plusieurs tirs de laser consécutifs.

Lorsque l'intensité des pics de titane atteignait un plateau, la couche d'enrobage était considérée comme terminée [Dubey *et al.*, 2011]. Il a toutefois été remarqué que la jonction entre le cœur du comprimé et la couche d'enrobage n'est pas toujours franche puisque la solution d'enrobage est absorbée dans les pores du comprimé [Dubey *et al.*, 2011].

En ce qui concerne les paramètres d'acquisition, il est important de considérer la fréquence d'acquisition, le *gate width* (temps d'intégration du détecteur), le *gate delay* (temps d'attente avant le début de l'intégration du détecteur) et la puissance du laser. La puissance utilisée pour le laser joue un rôle primordial quant à la quantité de matière ablatée et au signal obtenu. Les autres paramètres d'acquisition sont souvent optimisés en fonction de ce paramètre. Il est fréquent d'utiliser une puissance avoisinant 50 à 100 mJ par impulsion [Dubey *et al.*, 2011; Madamba *et al.*, 2007]. Les études de Mowery et al. ont montré qu'en utilisant un laser 1064 nm, le pouvoir pénétrant des ablations dans un échantillon pharmaceutique était indépendant de la puissance utilisée dans l'étendu de 50 à 150 mJ. Par contre, à 50 mJ, le signal était difficilement détectable alors qu'à 150 mJ le CCD était sur le point d'être saturé. Pour ces raisons, un juste milieu a été utilisé à 100 mJ. Il faut noter que le signal est fonction d'autres variables telles que la matrice et la concentration de l'élément d'où pourquoi il est important de vérifier l'applicabilité de ces valeurs pour l'expérimentation. De plus, des énergies plus faibles, 200 uJ, ont été utilisées dans certaines études où des films très minces devaient être analysés, soit d'environ 200 nm [Galmed *et al.*, 2011]. Par contre, des soins particuliers doivent être pris pour optimiser le signal reçu pour permettre l'analyse des résultats. De plus, pour éviter que les particules dans l'air absorbent trop d'énergie de l'impulsion du laser, celui-ci est généralement concentré à 5 mm sous la surface de l'échantillon [Ardakani et Tavassoli, 2010; Mateo *et al.*, 2006; Mouget *et al.*, 2001].

La fréquence d'acquisition utilisée dans la littérature varie entre 2 et 10 Hz [Ardakani et Tavassoli, 2010; Dubey *et al.*, 2011; Madamba *et al.*, 2007; Mateo *et al.*, 2006]. Toutefois, il a été démontré qu'il n'y a pas de différence significative entre les résultats de 2 à 5 Hz [Dubey *et al.*, 2011]. Dans les travaux de Mateo et al., l'article tentait de quantifier des couches dans les ordres de grandeur des dizaines aux centaines de micromètres. La fréquence de choix était 10 Hz [Mateo *et al.*, 2006; Mateo *et al.*, 2006].

Ensuite, les paramètres du CCD sont fréquemment optimisés en fonction du produit ablaté et du ratio signal bruit obtenu dans les spectres [Galmed et Harith, 2008; Galmed *et al.*, 2011]. En somme, les valeurs pour le *gate delay* sont généralement près de 1000 ns [Madamba *et al.*, 2007], par contre, dans le cas de l'étude menée par Galmed et al., la valeur choisie pour ce paramètre était beaucoup plus faible soit de 40 ns [Galmed *et al.*, 2011]. Ceci peut s'expliquer par le fait que la puissance de laser utilisé était près de 1000 fois plus faible que dans les travaux de Mowery et Madamba, donc il y aurait moins d'émission de lumière blanche à l'état initial du plasma.

Un autre paramètre important est la durée d'acquisition du CCD ou *gate width*. Cette valeur est plutôt variable dans la littérature puisqu'elle doit aussi être optimisée pour diminuer le ratio signal/bruit [Galmed *et al.*, 2011]. Dans certaines études, des durées d'acquisition aussi faibles que 5-7 ns ont été utilisées [Ardakani et Tavassoli, 2010;

Mouget *et al.*, 2001]. D'autre part, d'autres études ont utilisé des durées plus élevées soit jusqu'à 2500 ns [Galmed *et al.*, 2011; Madamba *et al.*, 2007]. Ces différences peuvent encore une fois s'expliquer par la puissance de laser utilisée dans l'étude qui était plus faible donc pour s'assurer d'avoir une bonne lecture des signaux plus faibles, le temps d'acquisition doit être augmenté. Même si les études reliées à l'industrie pharmaceutique sont comparées, des différences d'un facteur 100 sont observées pour la durée d'acquisition [Madamba *et al.*, 2007; Mouget *et al.*, 2001].

Méthodes d'analyse des résultats

Ensuite, diverses méthodes ont été établies pour quantifier l'épaisseur d'enrobage sur un comprimé. La plupart des situations s'appliquent pour éliminer des problèmes spécifiques tels que l'effet de parois.

Par exemple, l'étude menée par Dubey *et al.* a été faite en attribuant un score d'épaisseur qui était déterminé en calculant le nombre de tirs de laser requis pour obtenir une diminution de moitié de l'intensité du pic de titane à 521 nm [Dubey *et al.*, 2011]. Ce score était alors corrélé à la prise de masse de l'échantillon suite à l'enrobage. Une courbe de calibration de forte corrélation a été obtenue, soit un R^2 de plus de 0,94. Par contre, cette courbe a une ordonnée à l'origine de 4,55 tirs. Il faut noter que les comprimés utilisés variaient entre 2,5 et 7,5% d'enrobage. Ces concentrations sont relativement élevées pour l'application d'enrobage pharmaceutique, donc il serait intéressant d'investiguer l'allure de la courbe à plus faibles quantités d'enrobage. Par contre, il faut noter qu'une conclusion importante pour la détermination de l'épaisseur d'enrobage d'un comprimé a été tirée de cette étude : la variabilité entre les différents sites sur un comprimé est principalement due à la géométrie du comprimé puisque le laser creuse en diagonale pour atteindre le cœur [Dubey *et al.*, 2011].

L'article précédent permettait de construire des modèles de prédiction par rapport à la quantité d'enrobage qui était utilisée pour faire le mélange. Toutefois, aucune information sur l'épaisseur réelle d'enrobage n'était obtenue. Cette information peut s'avérer très importante dans les cas où un ingrédient de l'enrobage doit être contrôlé. Pour ce faire, la profondeur des tirs de LIBS doit être calibrée à l'aide d'un autre appareil. Selon la littérature, la microscopie électronique [Madamba *et al.*, 2007] et la profilométrie peuvent être utilisées. Dans d'autres domaines tels que l'analyse de produits alimentaires, la microtomographie par rayons X a déjà été utilisée pour évaluer des épaisseurs de bulles d'air dans du chocolat [Frisullo *et al.*, 2010].

Le principal problème relié à la calibration de l'épaisseur ablatée par impulsion laser est la non-linéarité due à l'effet de parois : plus le trou est profond, moins l'ablation sera importante dû à l'interaction de la paroi dans le parcours du faisceau laser [Ardakani et Tavassoli, 2010];[Madamba *et al.*, 2007]. Les travaux d'Ardakani *et al.* ont montré que pour un trou de 50 microns de profondeur, le taux de pénétration était de 7 tirs/micron alors que pour un trou de 20 microns, le taux était de 2,5 tirs/micron. Ce genre de conclusion n'est toutefois pas unanime, car les travaux de Mowery *et al.* montrent que le nombre de tirs requis pour pénétrer la couche d'enrobage augmente linéairement par rapport à la quantité d'enrobage utilisée pour les comprimés.

Ensuite, certaines méthodes permettent de diminuer l'effet de diminution de signal par l'effet de parois. Des techniques de référence internes peuvent être utilisées [Mouget *et al.*, 2003]. Il s'agit d'utiliser des pics connus d'un élément constant dans le comprimé standardiser la hauteur des pics d'intérêt pour l'analyse. Par contre, cette méthode ne peut pas compenser pour la diminution de la profondeur d'ablation due à l'effet de parois. Il est aussi possible d'utiliser une méthode par comparaison de spectres pour éliminer les variations d'intensité dues à l'effet de parois [Mateo *et al.*, 2006]. Un spectre de référence est utilisé et les autres spectres subséquents sont comparés par coefficient de corrélation linéaire. Dans ce cas, l'intensité absolue n'est plus importante et c'est seulement l'intensité relative qui prend de l'importance. Il faut toutefois faire un choix judicieux quant au spectre de référence puisqu'il faut que l'échantillon soit strictement de l'enrobage dans le cadre des études de ce travail, donc il ne faut pas qu'il soit pris trop tard dans la prise des échantillons. De plus, si c'est un tir de surface qui est utilisé, la possibilité de contaminations de surfaces est très élevée.

Une autre technique intéressante est utilisée pour estimer la quantité d'enrobage sur un comprimé. Celle-ci permet de tenir en compte l'effet de ruissellement à travers les pores du comprimé. Il s'agit de calculer l'aire sous la courbe du graphique de l'intensité du pic d'enrobage vs le nombre de tirs [Madamba *et al.*, 2007]. Lorsque l'aire sous la courbe est corrélée à une quantité d'enrobage réelle, il est possible de développer des modèles de prédiction qui tiennent compte de toute la masse d'enrobage, même si elle est légèrement infiltrée entre les particules du comprimé.

Présentation des résultats et méthodes

Les méthodes utilisées seront présentées en parallèle avec les résultats puisque ceci permettra de suivre le développement logique des essais.

Optimisation des paramètres d'acquisition

Gate delay, gate width et gain du spectrographe

Plusieurs plans d'expériences ont été proposés pour déterminer les valeurs permettant d'optimiser les ratios signal/bruit (SNR) des spectres résultants. Malheureusement, les plans d'expériences n'ont pas pu être complétés puisque c'était difficile de cibler les modalités idéales, car le procédé n'était pas bien connu à l'avance. De plus, en se basant sur des observations de la littérature, plusieurs résultats obtenus étaient des '0', donc ces valeurs faussaient les variables de réponse (la variable de réponse était trop sensible à la méthode de calcul). En somme, il a été jugé idéal d'utiliser les valeurs recommandées par le fournisseur de l'appareil afin de limiter l'effort fourni pour cette infime partie du projet. Les valeurs utilisées sont les suivantes :

- Gate delay = 2 μ s;
- Gate width = 10 μ s;
- Gain = 500.

Puissance du laser et focus

L'appareil utilisé pour la validation de la profondeur des trous est un profilomètre de marque Altisurf500. Puisque cet appareil n'était que disponible à Montréal et que le LIBS

était à Sherbrooke, il a fallu estimer les paramètres optimaux visuellement pour la première étape. L'objectif était de minimiser la taille des trous afin d'augmenter la résolution de profondeur, tout en permettant de perforer la couche d'enrobage avec un nombre de tirs raisonnable. Ce nombre de tirs n'est pas défini, mais, pratiquement, ce n'est pas nécessaire, car il a été observé que toutes combinaisons de paramètres permettant d'obtenir une lecture au profilomètre permettront de traverser la couche d'enrobage avec moins de 100 tirs. Ceci sera élaboré davantage dans les paragraphes qui suivent.

La première tentative a été faite avec les paramètres suivants :

- Focus = 50 μm ;
- Puissance = 50 %.

Voici les images obtenues par profilométrie :

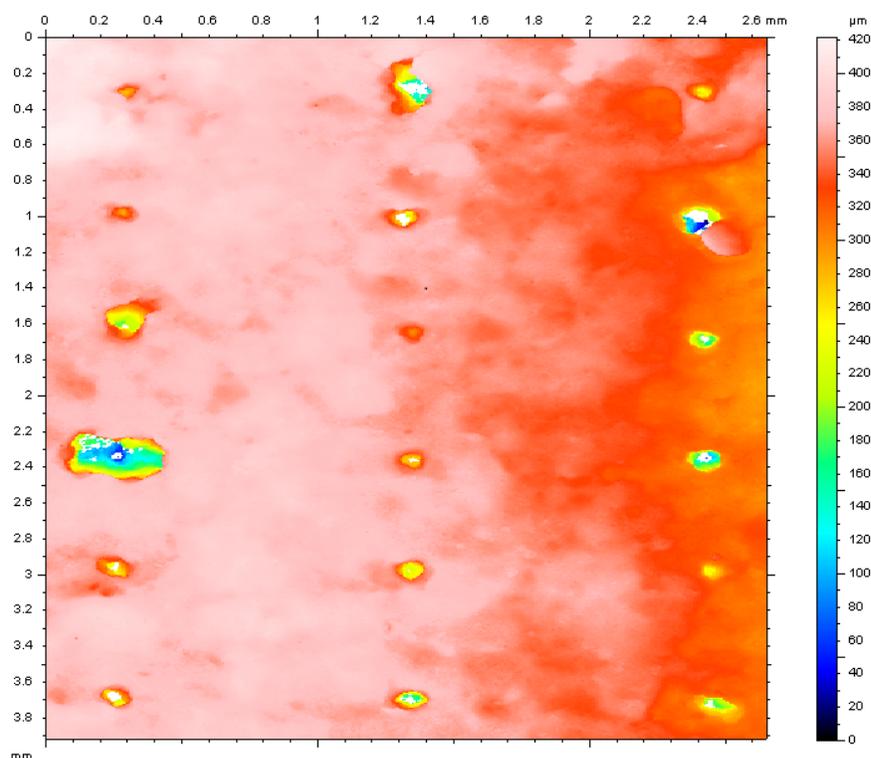


Figure 8.8: Résultats de profilométrie Altisurf

Les paramètres d'acquisition du profilomètre étaient les suivants :

- Résolution en X = 7 μm
- Résolution en Y = 7 μm
- Vitesse de déplacement de la source lumineuse = 500 $\mu\text{m/s}$
- Focus ajusté manuellement dans la zone optimale recommandée par le logiciel

Les points blancs sont des points non-mesurés. Ceci est souvent causé par une pente trop élevée ou un trou trop étroit pour permettre le retour du signal au profilomètre. Le

centre de la plupart des puits s'avère non-mesuré, ce qui rend donc ces résultats inutiles, car logiquement, ce serait dans le fond du puits que la profondeur serait maximale et c'est cette information qui est recherchée. Voici un exemple d'un puits en gros plan avec plusieurs points non-mesurés (blanc) :

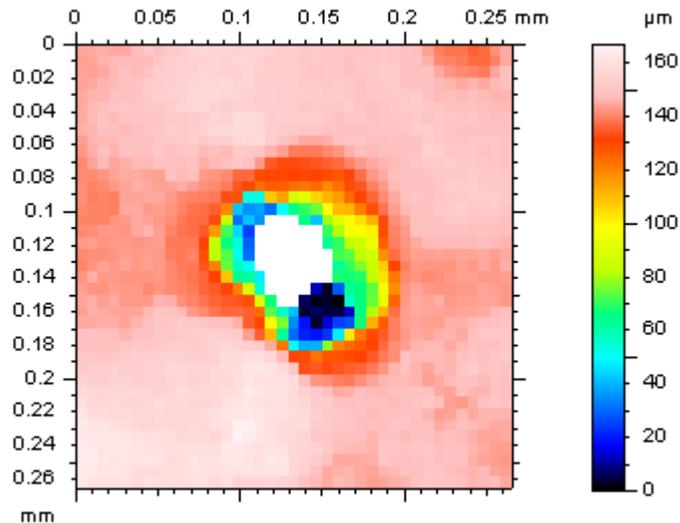


Figure 8.9: Exemple d'un cratère avec mesures manquantes

Ensuite, il a fallu déterminer des paramètres qui permettraient d'augmenter le diamètre des trous sans toutefois creuser trop rapidement, ce qui diminuerait la résolution de la profondeur. Plusieurs essais ont été essayés et une analyse visuelle a permis de minimiser le diamètre des trous tout en obtenant un bon signal. Voici les résultats obtenus par cette expérience qualitative préliminaire (les résultats sont obtenus par une analyse qualitative visuelle des trous : 1= trous trop petits pour l'analyse au profilomètre, 2=trous qui semblent être d'une grosseur adéquate pour une analyse au profilomètre, 3=trous qui semblent être trop gros pour permettre une bonne résolution de profondeur) :

			1= trop petit; 2=bon; 3=trop gros (pour l'analyse au profilomètre)
Essai	Puissance (%)	Focus (µm)	Dimension de trous (1 à 3)
1	50	100	1
2	25	100	1
3	100	50	1
4	100	100	3
5	75	100	2
6	100	100	2

Tableau 8.2: Plan d'expérience pour optimisation des paramètres d'acquisition

Selon ces résultats, les paramètres d'acquisition des essais 5 et 6 ont été sélectionnés pour faire une analyse plus poussée.

Des matrices de puits ont été creusées au LIBS sur deux comprimés différents :

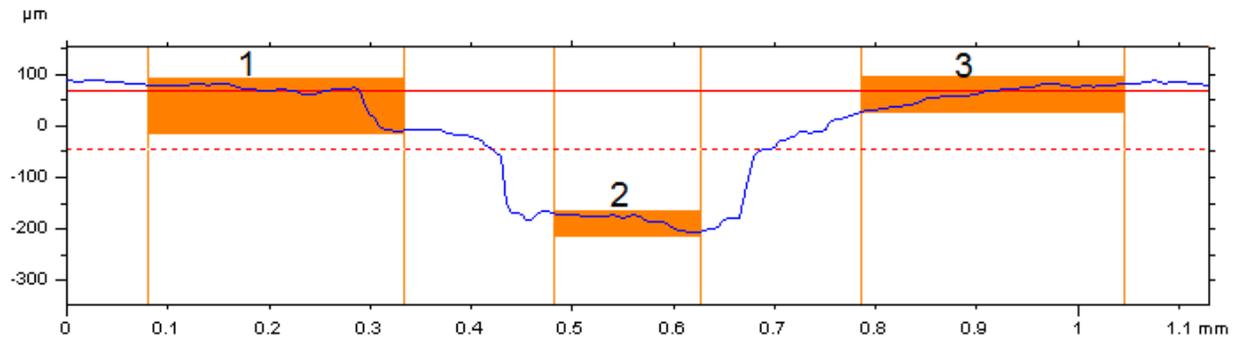
		Comprimé 1 (Nb. Passes de 3 tirs)		
		75% laser, 100um focus		
Position	Réplica 1	Réplica 2	Réplica 3	
1	5	5	5	
2	10	10	10	
3	15	15	15	
4	20	20	20	
5	25	25	25	
6	30	30	30	

Tableau 8.3: Plan d'expérience pour calibration de profondeur comprimé 1

		Comprimé 2 (Nb. Passes de 3 tirs)		
		Réplica 1	Réplica 2	Réplica 3
Position	100% laser, 100um focus			
1	5	5	5	
2	10	10	10	
3	15	15	15	
4	20	20	20	

Tableau 8.4: Plan d'expérience pour calibration de profondeur comprimé 2

Moins de tests ont pu être effectués sur le comprimé 2 dû à des contraintes de temps. Voici une figure illustrant la différence entre la profondeur maximale et la profondeur moyenne :



Maximum depth 271 µm
 Mean depth 247 µm
 Width 0.145 mm

Figure 8.10: Profondeur moyenne vs profondeur maximale

La profondeur moyenne est calculée en faisant la différence entre la moyenne de la zone 1 et 3 et la moyenne de la zone 2. D'autre part la profondeur maximale correspond à la différence entre la moyenne de la zone 1 et 3 et la plus petite valeur de la zone 2.

Voici les résultats obtenus pour les profondeurs maximales par profilométrie :

Résultats profondeur maximale (µm)			
Comprimé 1			
75% laser, 100um focus			
Position	Réplica 1	Réplica 2	Réplica 3
1	101	70.4	88.7
2	116	101	166
3	123	230	244
4	198	269	272
5	456	270	299
6	347	485	409

Tableau 8.5: Résultats profondeur maximale comprimé 1

Résultats profondeur maximale (µm)			
Comprimé 2			
100% laser, 100um focus			
Position	Réplica 1	Réplica 2	Réplica 3
1	97.4	84.8	82.8
2	206	206	203
3	350	265	271
4	399	364	329

Tableau 8.6: Résultats profondeur maximale comprimé 2

Voici les résultats obtenus pour les profondeurs moyennes par profilométrie :

Résultats profondeur moyenne (μm)			
Comprimé 1			
75% laser, 100um focus			
Position	Réplica 1	Réplica 2	Réplica 3
1	94.6	65.1	80.6
2	112	95.3	149
3	105	199	210
4	164	254	258
5	412	221	285
6	317	456	341

Tableau 8.7: Résultats profondeur moyenne comprimé 1

Résultats profondeur moyenne (μm)			
Comprimé 2			
100% laser, 100um focus			
Position	Réplica 1	Réplica 2	Réplica 3
1	94.4	73.5	76.7
2	171	174	175
3	289	234	251
4	334	294	279

Tableau 8.8: Résultats profondeur moyenne comprimé 2

Puisque ces deux combinaisons permettent d'obtenir des résultats par profilométrie, c'est possible d'utiliser une ou l'autre.

Finalement, en ce qui concerne le choix des paramètres d'acquisition. Les deux combinaisons permettent d'obtenir des résultats au profilomètre, donc le choix est basé sur une observation qualitative : soit les trous les plus fins. Puisqu'il est désiré d'optimiser la résolution de profondeur (maximiser le nombre de tirs requis pour traverser la couche d'enrobage), la combinaison de plus faible énergie est celle qui est choisie : une puissance de 75% et un focus de 100 μm .

En somme, voici tous les paramètres d'acquisition choisis :

- Puissance = 75%;
- Focus = 100 μm ;
- Gate delay = 2 μs ;
- Gate width = 10 μs ;
- Gain = 500.

Calibration de la profondeur vs nombre de tirs

Les résultats ont déjà été présentés dans la section précédente, donc ils ne seront pas remontrés.

Avant de choisir quelle distribution de données sera utilisée pour l'analyse, les profondeurs maximales ainsi que les profondeurs moyennes seront corrélées au nombre de tirs effectués et le critère de sélection sera le meilleur coefficient de corrélation linéaire.

Voici les courbes de calibration obtenues en comparant le nombre de tirs laser avec la profondeur maximale creusée (moyenne des 3 répliques) :

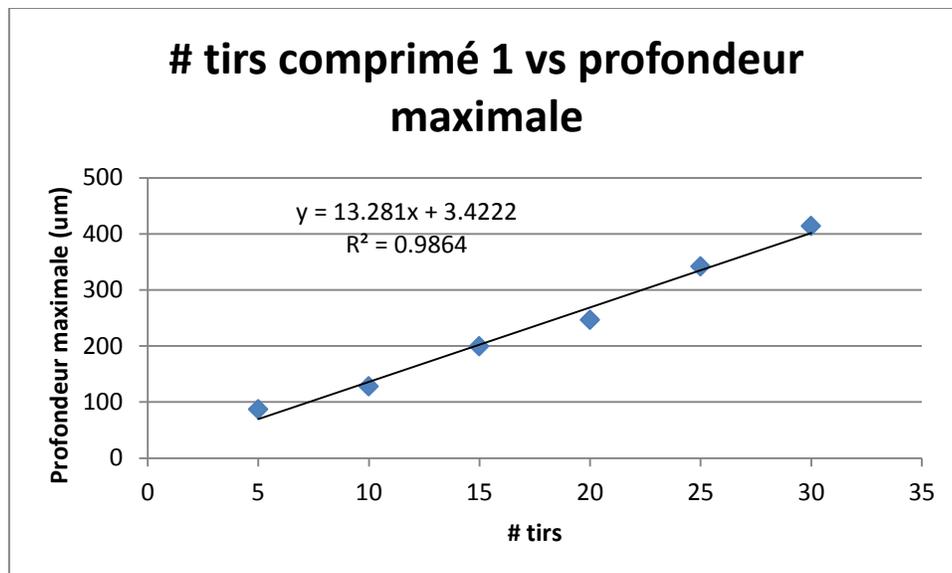


Figure 8.11: Calibration de la profondeur maximale creusée en fonction du nombre de tirs

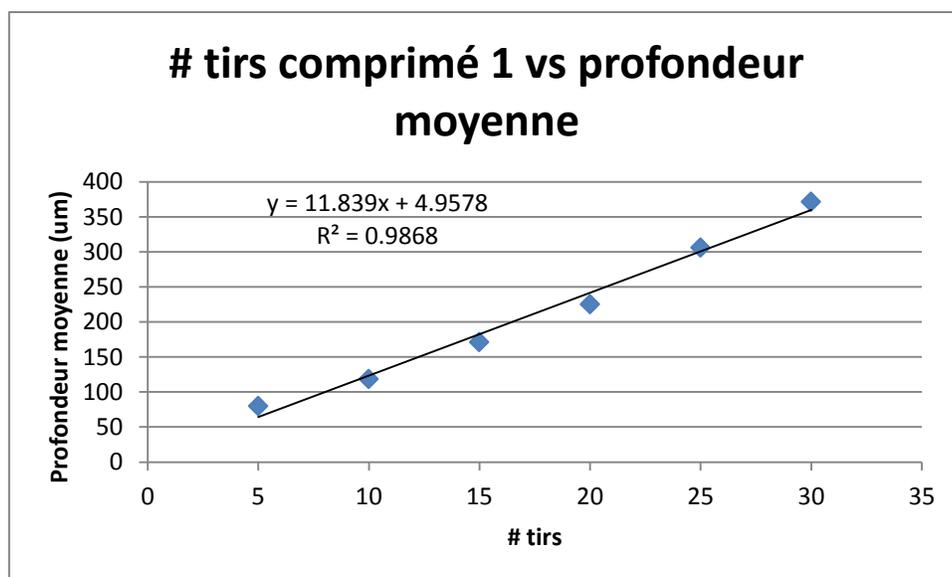


Figure 8.12: Calibration de la profondeur moyenne creusée en fonction du nombre de tirs

Ces résultats montrent clairement qu'il n'y a pas d'avantage à utiliser une des deux méthodes, donc la méthode des profondeurs moyennes est choisie pour poursuivre les analyses. Voici l'équation de prédiction de la profondeur :

$$P = 11.8T + 4.96$$

Équation 8.5: Calibration de la profondeur en fonction du nombre de tirs

Où P est la profondeur creusée en micromètres et T est le nombre de tirs effectués pour atteindre cette profondeur.

Cette calibration est valide entre 15 et 90 tirs puisque dans cette expérience, des passes de 3 tirs ont été utilisées, car le temps pour compléter les tests était limité.

Méthode de référence pour la prédiction de l'épaisseur

Ensuite, avant de faire des prédictions d'épaisseur d'enrobage par LIBS, il a fallu trouver une méthode de référence avec laquelle ce serait possible de comparer les résultats obtenus.

Méthode par microscopie optique

La première méthode de référence envisagée était la microscopie optique. Les comprimés ont été refroidis à l'azote liquide pendant approximativement 10 secondes. Ensuite, ils ont été cassés pour analyser une coupe transversale. Voici deux images prises par microscopie optique à 100X:

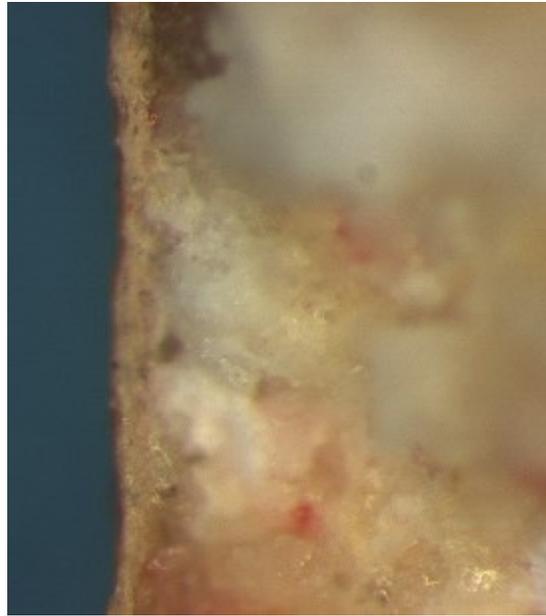


Figure 8.13: Une des images parmi les mieux réussies au microscope optique

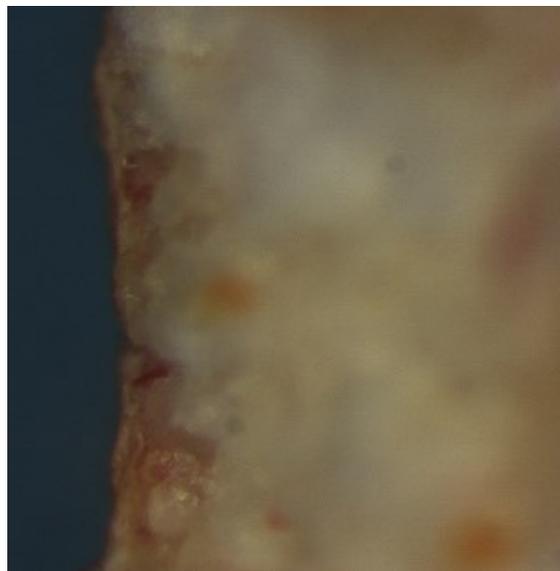


Figure 8.14: Image de faible qualité au microscope optique

Les deux images montrent des scénarios où l'interface cœur-enrobage était soit claire ou floue.

L'épaisseur de l'enrobage a été estimée en prenant une photographie d'une règle micrométrique et en comparant cette image à l'image obtenue du comprimé. Même dans le cas de la Figure 8.13: qui est une des mieux réussies, la mesure avec la règle micrométrique est difficile et ajoute un élément de subjectivité dans l'analyse. Trois points ont été mesurés sur chaque photographie pour estimer la variabilité. Voici les données de mesure :

Quantité théorique d'enrobage (mg/comprimé)	Épaisseur microscope (um)			
	mesure 1	mesure 2	mesure 3	Moyenne
20	30	30	30	30.0
25	50	50	50	50.0
28	35	40	40	38.3
30	20	30	35	28.3
32	55	45	30	43.3
35.84	25	25	20	23.3

Tableau 8.9: Résultats microscope optique

Et voici le graphique respectif :

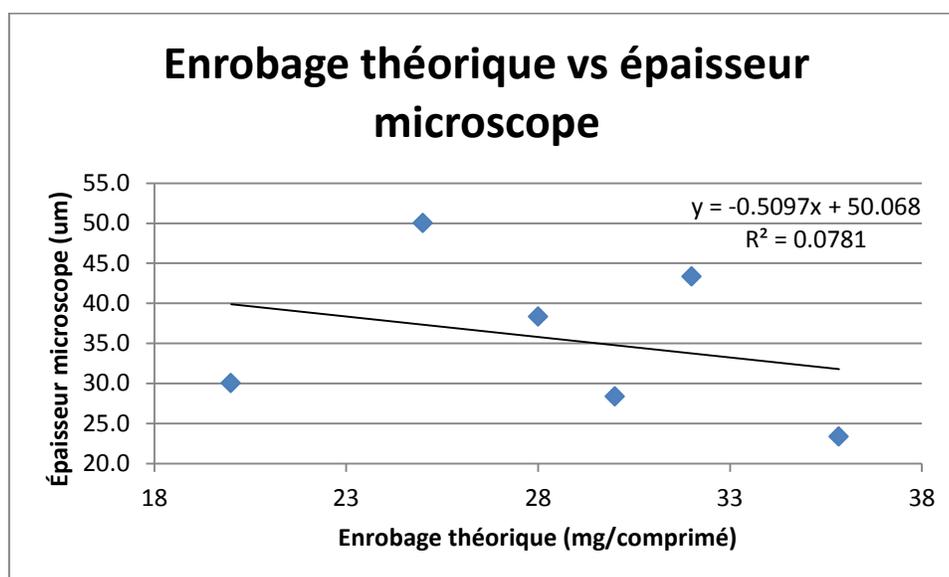


Figure 8.15: Graphique de l'enrobage théorique vs épaisseur obtenue au microscope

Ces données ne correspondent aucunement à ce qui serait normalement attendu. Ces observations sont probablement dues au fait que l'interface entre le cœur et l'enrobage est difficile à discerner dans certains cas (comme dans la Figure 8.14: Image de faible qualité au microscope optique) et le jugement de l'analyste peut facilement biaiser ou rendre les résultats subjectifs. De plus, il y a beaucoup de variabilité d'un endroit sur le comprimé à l'autre donc le nombre de mesures était probablement beaucoup trop petit pour avoir des données significatives. Puisque les données ne sont pas assez prometteuses, une autre méthode sera recherchée plutôt que d'investir davantage d'efforts dans celle-ci.

Méthode par microscopie électronique à balayage

La même approche a été tentée, mais par microscopie électronique à balayage afin d'augmenter la résolution des mesures. Par contre, l'interface entre le cœur du

comprimé et l'enrobage était impossible à identifier avec cette technologie. Voici quelques images qui permettent d'appuyer ces propos :

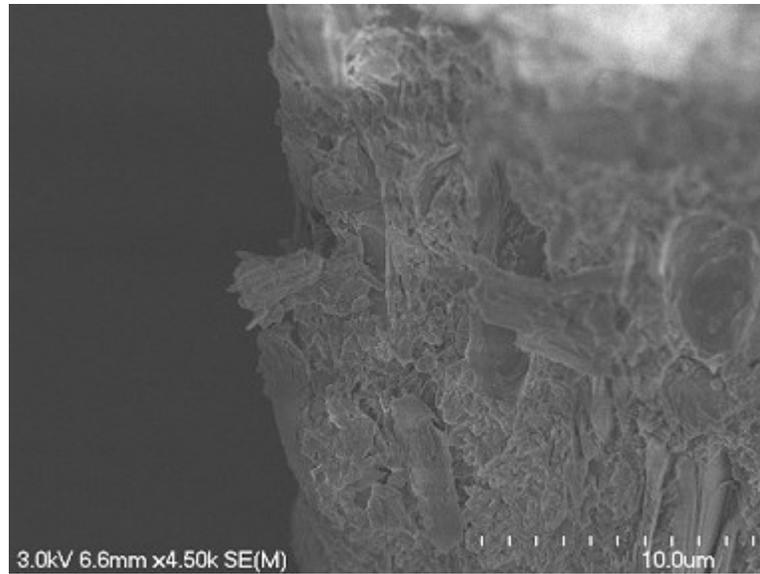


Figure 8.16: Image au MEB à grossissement élevé

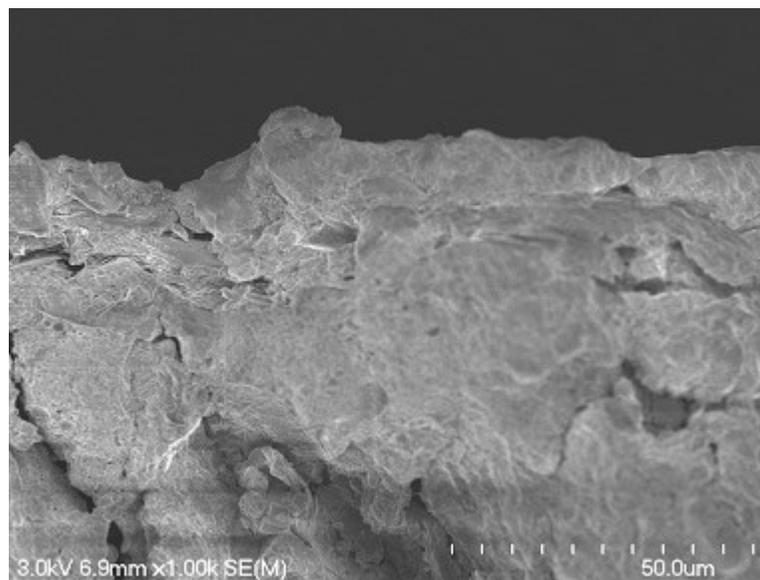


Figure 8.17: Image au MEB à grossissement moyen

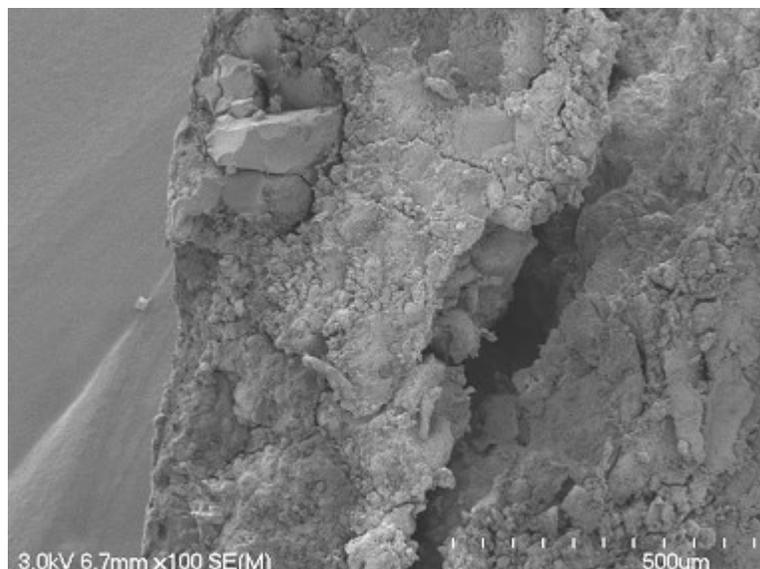


Figure 8.18: Image au MEB à grossissement faible

Plusieurs différents grossissements ont été essayés afin de tenter d'identifier l'interface entre l'enrobage et le cœur du comprimé. Aucune de celles-ci n'a permis d'observer efficacement cette interface. Cette méthode n'est donc pas adéquate pour estimer l'épaisseur d'enrobages pharmaceutiques.

Méthode par microtomographie à rayons X

Le professeur Ryan Gosselin a tenté d'estimer le volume d'enrobage par des méthodes numériques de traitement des données brutes de microtomographie à rayons X. Cette méthode ne semble pas adéquate pour distinguer l'interface enrobage-comprimé. Ceci est probablement dû au fait que la densité de l'enrobage est trop similaire à celle d'un produit présent en grande proportion dans le comprimé. C'est difficile de valider cette hypothèse puisque la masse volumique de l'enrobage est difficile à déterminer une fois appliquée et séchée sur un comprimé.

Méthode théorique

Finalement, en ce qui concerne la méthode de référence de mesure de l'épaisseur de l'enrobage, plusieurs technologies et méthodes ont été explorées : microscopie optique, microscopie électronique à balayage et microtomographie à rayons X. Aucune de celles-ci ne semble adéquate pour être utilisée comme méthode de référence. Pour cette raison, la suite de l'analyse sera faite en utilisant les concentrations théoriques d'enrobage comme référence. Cette concentration est obtenue en déterminant le temps exact où l'échantillonnage a eu lieu lors du procédé d'enrobage. En posant l'hypothèse que le débit d'injection de l'enrobage est constant, c'est possible d'estimer la quantité théorique d'enrobage puisque la quantité totale d'enrobage est connue. La principale source d'erreur restante dans cette estimation est la proportion d'enrobage qui est perdue dans le tuyau d'échappement. En posant l'hypothèse que celle-ci est probablement proportionnelle à la quantité d'enrobage injecté, c'est possible de poursuivre l'analyse sans trop d'inconvénients.

Méthode d'estimation de l'épaisseur par LIBS**Méthode par suivi d'un pic de titane**

Ensuite, il a été tenté de suivre l'intensité de la ligne spectrale de titane à 395,8 nm. Tel que décrit en théorie, l'enrobage contient de l'oxyde de titane alors que le cœur ne contient aucun titane. L'intensité du pic de titane devrait alors diminuer en fonction du nombre de tirs. Pour débiter, puisque l'intensité du pic de titane n'atteint jamais exactement zéro due aux interactions avec les parois, le critère utilisé pour l'atteinte du cœur est une intensité correspondant à environ 10% de l'intensité maximale observée. Les données ont été estimées visuellement d'abord pour simplifier l'analyse des données, car cette courte analyse impliquait des centaines de spectres à interpréter. Dans le cas où les résultats préliminaires (ligne basale estimée à l'œil) seraient prometteurs, une analyse plus robuste serait effectuée en appliquant des algorithmes de calculs pour standardiser l'analyse. Voici les résultats préliminaires :

Quantité théorique d'enrobage (mg/comprimé)	# tirs			
	Rep1	Rep2	Rep3	Moyenne
20	17	16	22	18.3
25	17	15	22	18.0
28	14	14	18	15.3
30	23	20	29	24.0
32	33	26	19	26.0
35.84	15	20	22	19.0

Table 1: Résultats du nombre de tirs laser avant d'atteindre approximativement 10% de l'intensité maximale du pic de Ti

Voici le graphique correspondant à ces données :

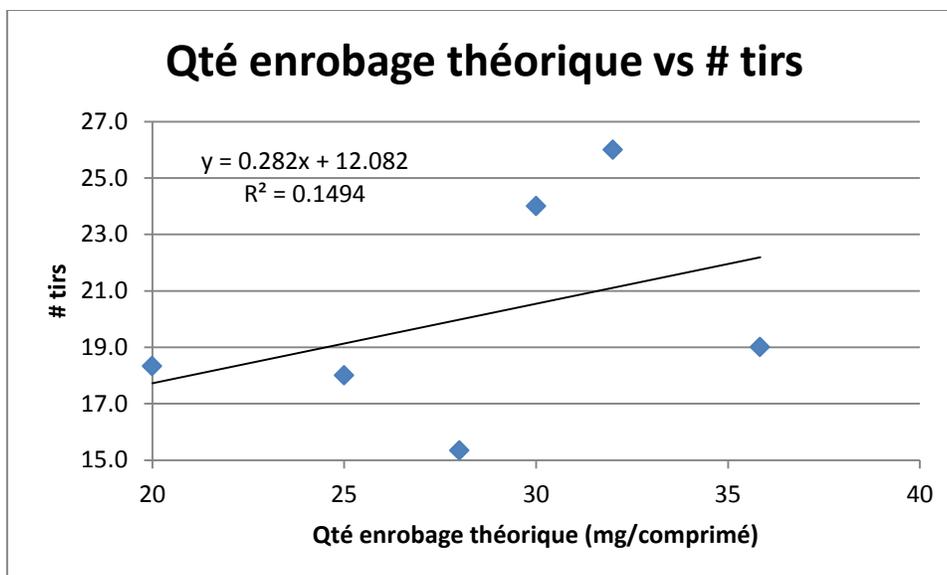


Figure 8.19: Graphique de la quantité d'enrobage théorique vs le nombre de tirs laser effectués

La corrélation de ces données est très faible et donc cette méthode ne semble pas très prometteuse. Cela signifie que l'investissement supplémentaire de temps pour améliorer la robustesse de la méthode n'en vaut probablement pas la peine. D'autres méthodes alternatives seront investiguées.

De plus, voici un graphique corrélant le nombre de tirs lasers avec l'épaisseur au microscope optique :

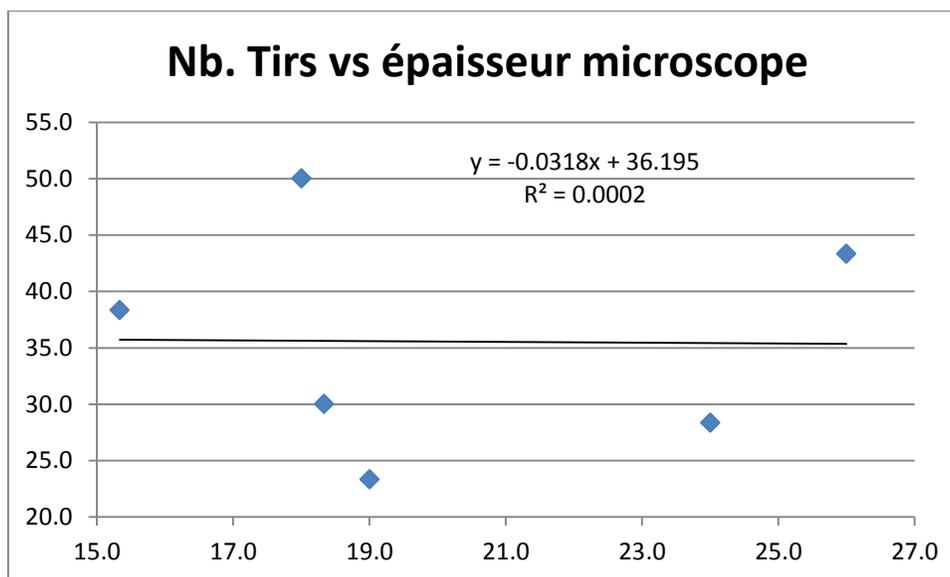


Figure 8.20: Nombre de tirs vs épaisseur calculée au microscope optique

Ces résultats ne peuvent pas invalider la justesse de l'épaisseur théorique puisque la corrélation est complètement absente.

Méthode par techniques d'analyse multivariées

Introduction à l'analyse de données multivariées

Dans le cas d'un appareil LIBS qui utilise un spectrographe échelle et un CCD à haute résolution, quelques dizaines de milliers de longueurs d'onde peuvent être analysées simultanément. Cela crée un système à très haute dimensionnalité qui est difficilement exploitable par des méthodes d'analyse traditionnelles univariées. C'est pourquoi les techniques d'analyse de systèmes à variables multiples sont d'un intérêt particulièrement important pour ce projet de recherche [Gosselin, 2012a]. Dans le cadre de ce projet, l'utilisation de techniques de prétraitement de données et d'analyse des composantes principales seront utilisées.

Prétraitement des données

L'information doit souvent subir quelques manipulations mathématiques avant de permettre une interprétation adéquate. Ces manipulations permettent d'éliminer des informations nuisibles aux modèles. Voici quelques manipulations typiques qui seront couramment utilisées dans le cadre de ce projet :

- Centrage : La moyenne de chaque variable est soustraite de chaque donnée pour éliminer l'effet de l'intensité de la valeur sur l'analyse et conserver seulement la variabilité par rapport à la moyenne;
- Lissage : Il existe divers types de lissages qui permettent de limiter l'influence du bruit de fond sur le spectre traité. Une technique commune est le lissage Savitzky-Golay qui passe un polynôme d'un ordre variable parmi un nombre de points variable pour ensuite utiliser ce polynôme pour estimer la valeur du point central du bloc;
- Normalisation : Il existe diverses méthodes de normalisation. Par exemple, la normalisation SNV consiste à soustraire à chacune des observations par le spectre moyen et à diviser chacune des observations par l'écart type moyen [Jørgensen, 2000];
- Dérivées : Les dérivées de spectres sont utiles pour quelques applications. D'abord, elles permettent d'accentuer l'intensité d'un signal. Par contre, plus le degré de la dérivée est élevé, plus le bruit de mesure sera intensifié en parallèle. De plus, cette opération mathématique est utile pour éliminer l'effet de la ligne basale. En d'autres mots, puisque c'est seulement la variation de la pente du spectre qui est analysé, la variation du *baseline* n'influence plus l'analyse des données [Gosselin, 2012a];

Voici un exemple de spectres NIR non-traités suivis d'un prétraitement par une dérivée première et par une dérivée seconde :

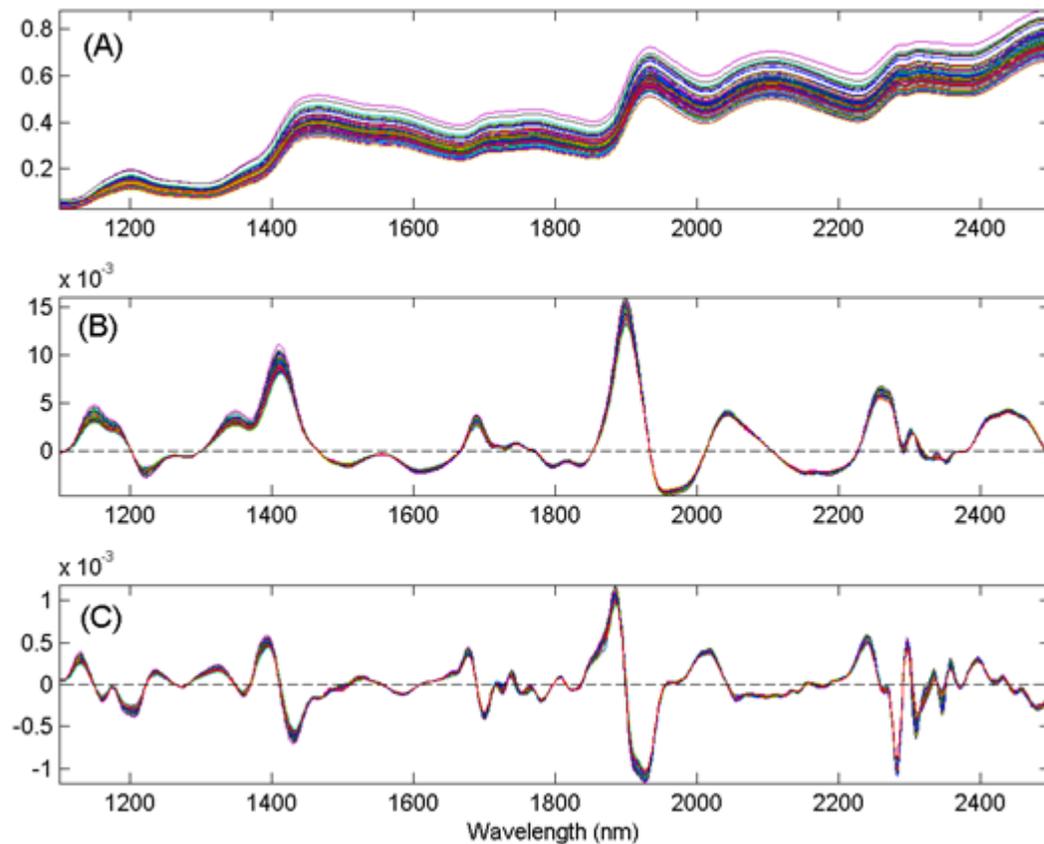


Figure 8.21: A) Spectres NIR non-traités, B) Spectres ayant subi une dérivée première, C) Spectres ayant subi une dérivée seconde [Eigenvector, 2011]

Ces spectres (Figure 2.7 : A) Spectres NIR non-traités, B) Spectres ayant subi une dérivée première, C) Spectres ayant subi une dérivée seconde) sont des exemples visuels de l'effet possible d'une opération de prétraitement sur un spectre. Il existe plusieurs autres techniques qui ne sont pas abordées dans ce cadre de référence.

Analyse par composantes principales (PCA)

Suite au prétraitement des spectres, ceux-ci doivent subir une réduction dimensionnelle pour en retirer le maximum d'information avec un minimum de variables/composantes. De plus, si l'information est analysée par régression simple, la corrélation entre les variables induira des problèmes importants dans les prédictions. C'est pourquoi la première étape consiste à transformer le système de référence des données : il faut trouver un nouveau système d'axes permettant d'expliquer le plus d'information possible du système avec le moins de composantes possible. Visuellement, on obtient :

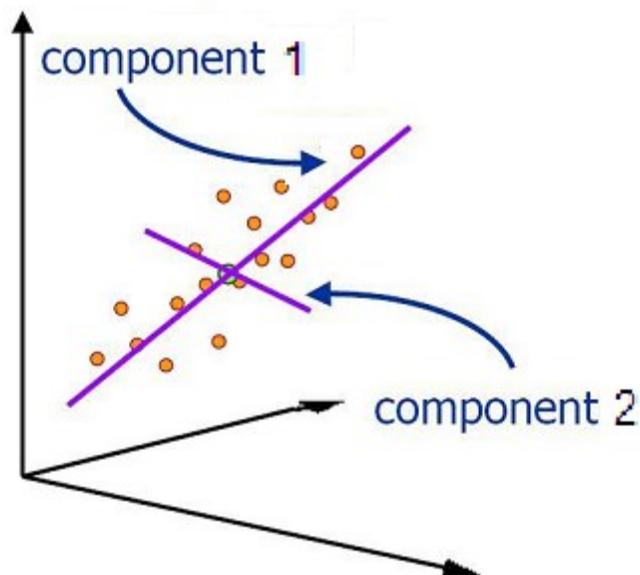


Figure 8.22: Figure illustrant les deux composantes principales d'un nuage de points en trois dimensions, inspiré de [Gosselin, 2012b]

Dans cet exemple, les trois axes principaux noirs représentent le système de coordonnées original alors que les axes mauves représentent les deux composantes principales. La première permet d'exprimer la majorité de la variance dans la série de données, le deuxième axe mauve, aussi connu sous le nom de composante principale, explique la deuxième plus grande partie de la variance tout en étant orthogonal au premier axe et ainsi de suite jusqu'à ce qu'il y ait autant de composantes principales que d'axes noirs.

Dans le cas de la Figure 2.8 : Figure illustrant les deux composantes principales d'un nuage de points en trois dimensions, inspiré de [Gosselin, 2012b], cette méthode a permis d'expliquer la majeure partie de l'information avec seulement deux axes plutôt que les trois qui étaient présentes initialement. De plus, ces axes sont toujours orthogonaux, ce qui élimine les corrélations qui sont nuisibles lors de la régression.

Les coordonnées de chaque observation dans ce nouveau système sont appelées les Scores (matrice T). De plus, les Loadings correspondent aux vecteurs des composantes principales. En juxtaposant chaque vecteur colonne des loadings, la matrice P est obtenue. Enfin, l'équation suivante est obtenue :

$$X = TP^T$$

Équation 8.6: Décomposition de la matrice des observations originales en matrices de Scores et Loadings

Si seulement les principaux PC doivent être utilisés, l'équation peut être écrite de la façon suivante :

$$X = t_1 p_1^T + t_2 p_2^T + \dots + t_n p_n^T + E$$

Équation 8.7: Décomposition de la matrice des observations originales en sommation de vecteurs de Scores et Loadings avec une matrice d'erreur

Où les t sont les vecteurs des scores de chaque observation, les p sont les vecteurs des loadings représentant chacun des PC et E est la matrice résiduelle d'erreur. Si le nombre de PC à utiliser est choisi adéquatement, cette matrice correspond principalement au bruit de mesure.

Analyse des résultats par PCA

La deuxième technique employée pour estimer la profondeur de l'enrobage utilisait une analyse PCA. L'avantage de cette méthode est de pouvoir utiliser l'information contenue dans plusieurs variables plutôt que de faire une analyse univariée comme dans le cas précédent. La première tentative était la suivante :

- Prendre 30 observations typiques de la surface (30 tirs à des endroits différents)
- Créer un espace PCA avec ces observations
- Prendre des mesures de *carottes* (séquence de tirs à un même endroit) et projeter tous les spectres de cette carotte dans l'espace PCA créé à l'étape précédente
- Étudier l'évolution des Q (résidus) et des T^2 (Hotelling's)

L'hypothèse est qu'au début de la carotte, les observations auront des valeurs faibles de Q et T^2 . Plus le nombre de tirs augmentera, plus les observations seront loin du plan PCA créé par les observations typiques de l'enrobage.

Voici les résultats sous forme graphique avec un prétraitement des données par autoscale :

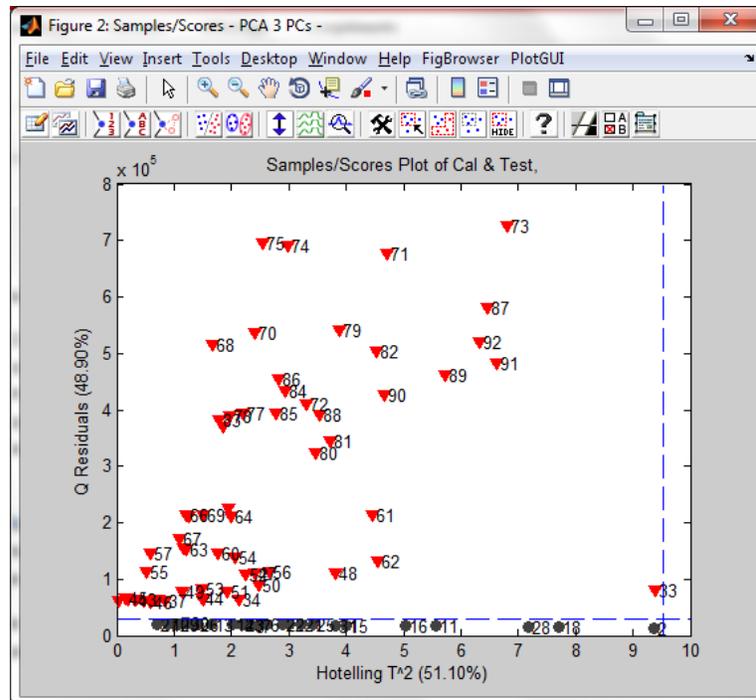
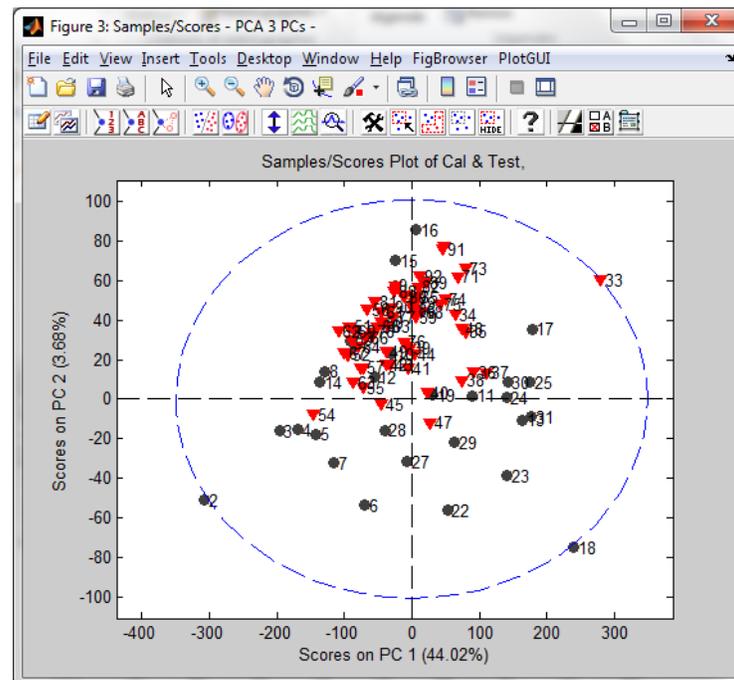
Figure 8.23: Graphique des Q vs T²

Figure 8.24: Score plot PC1 vs PC2

L'analyse des observations montre que les points rouges correspondent aux points projetés dans l'espace PCA généré à partir des points noirs. Ce graphique signifie qu'il y a probablement un phénomène inconnu qui se produit pendant les tirs consécutifs et qui éloigne ces observations du modèle dans l'espace PCA. Par contre, en fonction des deux

premiers PC, tous ces points sont semblables. Si le modèle était construit à partir des caractéristiques spectrales liées à la composition (titane ou autres éléments), il y aurait probablement une migration des points de validation (rouges) vers des valeurs de résidus ou de Hotelling's élevées.

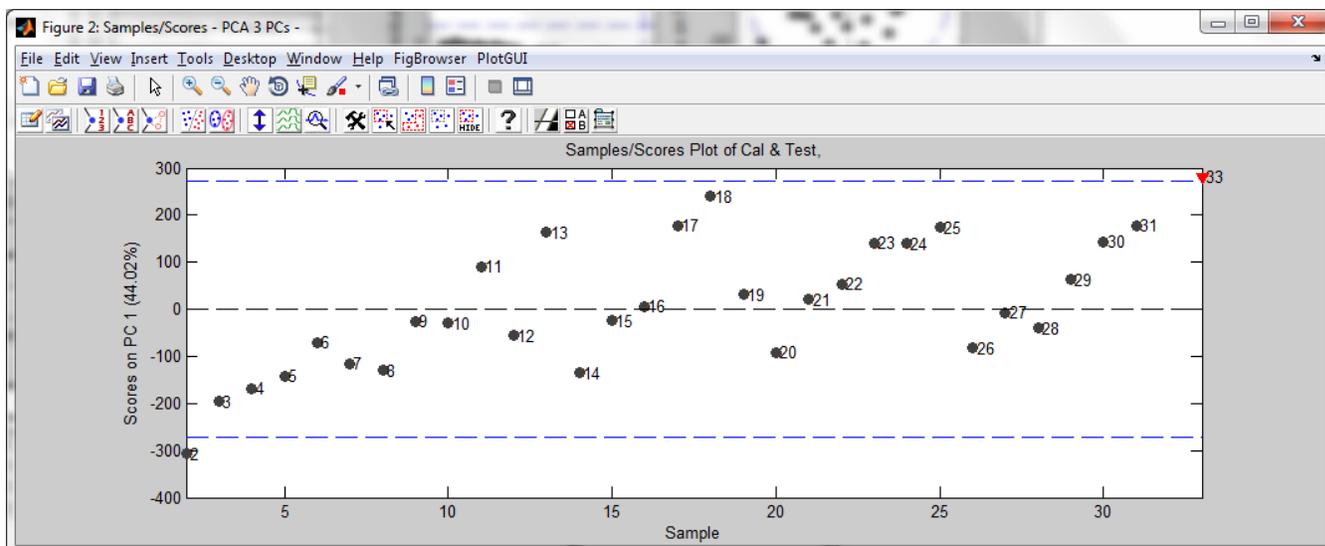


Figure 8.25: Scores des observations de calibration sur le PC1

En observant ces données, il est possible de remarquer une structure cyclique dans les données sur le PC1 qui explique 44% de la variance. Ceci semble être un phénomène dû à la position sur l'échantillon, car une matrice de 5x6 points a été échantillonnée pour obtenir ces points et la tendance suit un cycle d'environ 5 à 6 points. Par contre, il faut noter que tous ces échantillons sont très semblables entre eux puisque ce sont toutes des compositions et conditions très semblables. Cela fait en sorte que la variance est principalement due à des effets mineurs autres que les pics d'intérêt.

Pour remédier à ce problème, la même méthode a été employée, mais en ajoutant des points typiques du cœur du comprimé dans les observations de calibration. Les loadings qui seront calculés en fonction de la variation maximale représenteront prioritairement les différences de composition, car l'hypothèse est que ceci est la principale différence entre les observations.

En somme, la deuxième méthode était la suivante :

- Prendre 30 observations typiques de la surface (30 tirs à des endroits différents)
- Prendre 30 observations typiques du cœur (casser le comprimé et échantillonner une matrice de 5 par 6 au centre de la coupure)
- Créer un espace PCA avec ces 60 observations
- Prendre des mesures de *carottes* (séquence de tirs à un même endroit) et projeter tous les spectres de cette carotte dans l'espace PCA créé à l'étape précédente
- Analyser l'évolution des Scores sur les composantes principales

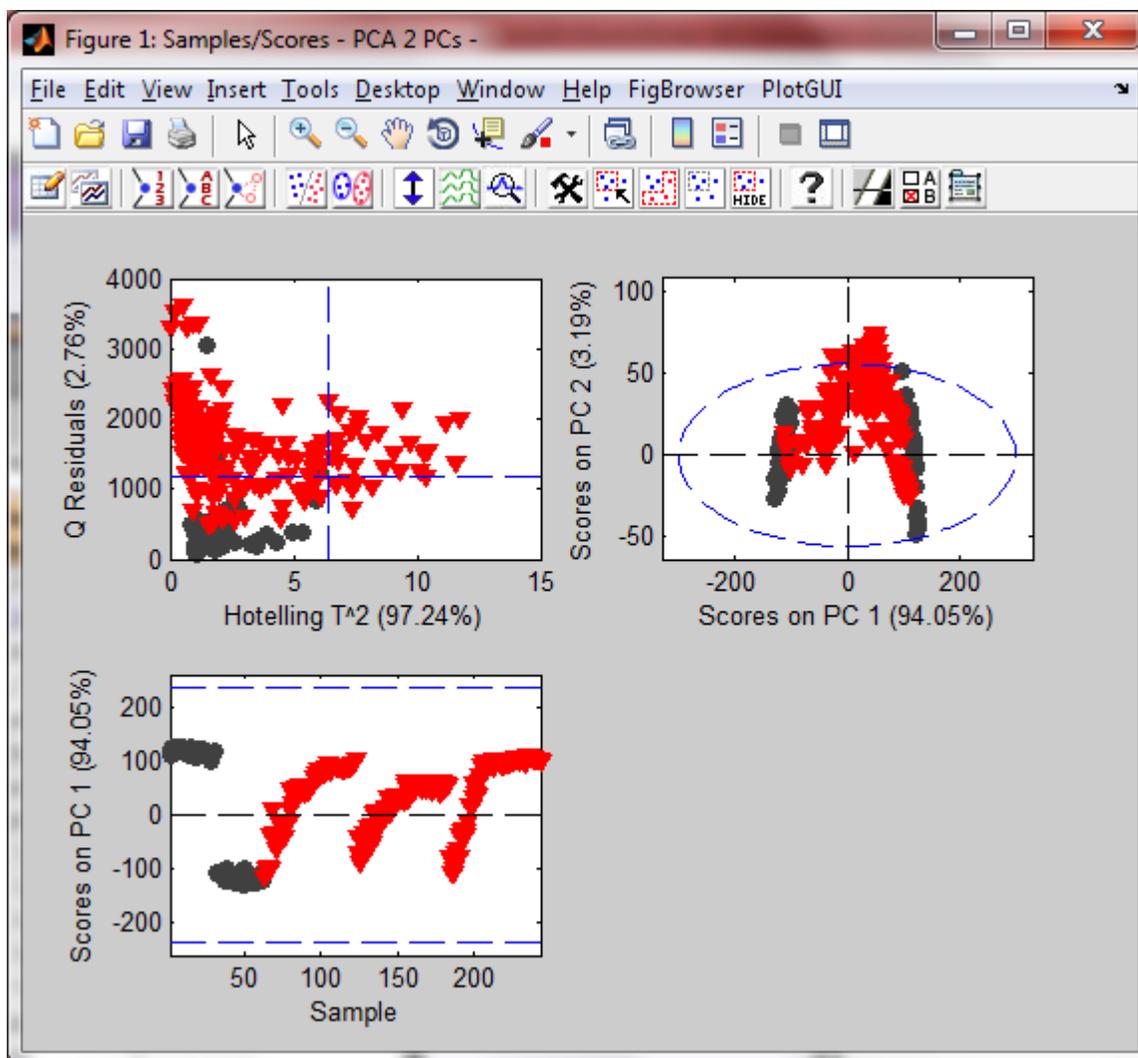


Figure 8.26: Résultats d'un SNV+mean center (2 PC)

Le prétraitement des spectres choisi a été le SNV suivi d'un centrage. Cette combinaison semble la plus prometteuse pour l'application désirée. Il y a une migration claire des échantillons de validation dans le graphique des Scores du spectre typique de l'enrobage vers celui du cœur. Lorsque le graphique du PC1 en fonction de l'échantillon est observé, il y a une évolution vers un plateau défini. Ceci permettra de simplifier l'analyse des résultats par la suite.

Dans ce cas de prétraitement, il y a beaucoup de variation par rapport aux résidus et aux Hotelling's. Les variations selon l'axe des résidus peuvent être négligées puisqu'ils correspondent à moins de 3% de la variabilité restante après un modèle à 2 PC. De plus, tel qu'expliqué précédemment, les variations dans les deux axes pourraient être dues à l'échantillonnage de nouveaux éléments qui ne sont pas présents dans les échantillons de calibration, car les échantillons utilisés peuvent être considérés comme très hétérogènes selon l'échelle d'échantillonnage de la technologie LIBS.

Voici les graphiques des loadings :

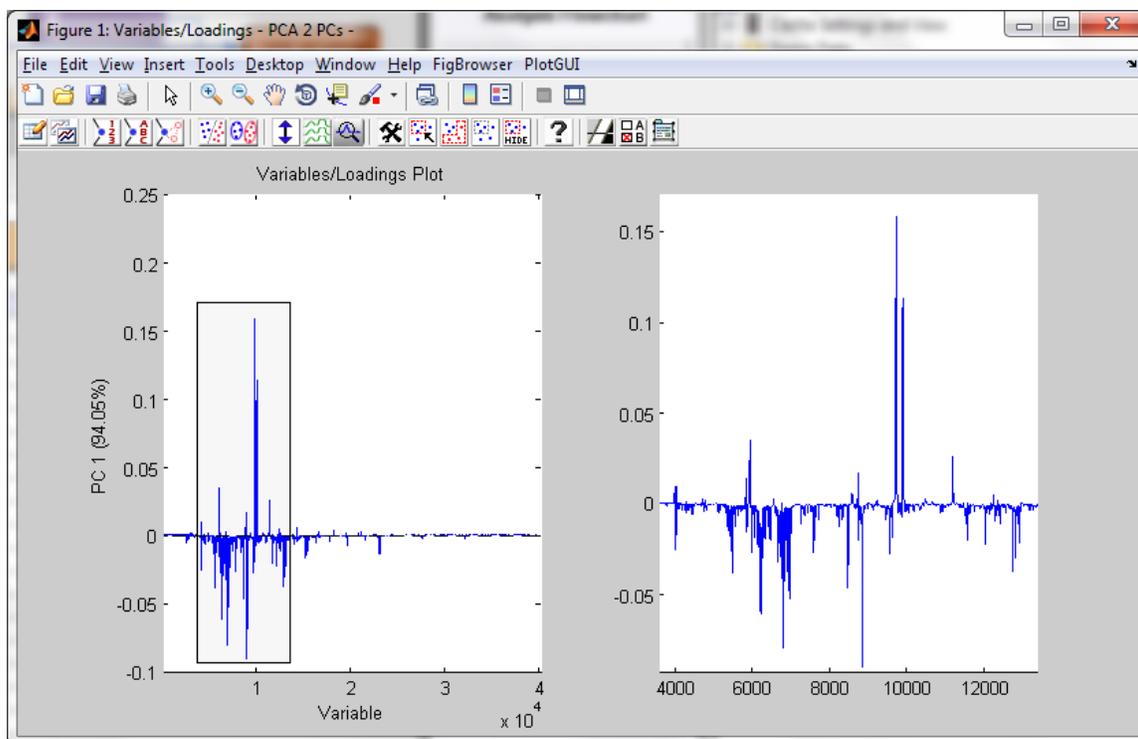


Figure 8.27: Loadings selon le PC1

Les variables les plus utilisées pour le PC1 sont approximativement les suivantes :

Variable	Longueur d'onde (nm)	Ligne spectrale
9850	397	Ca 396,8nm
9700	394	Ca 393,4nm
8800	376	Ti 375,9nm
6750	335	Ti 334,9nm
6200	324	Ti 323,9nm
5900	318	Ca 317,9nm
5450	309	Ti 308,8nm

Tableau 8.10: Correspondance des variables du PC1 du modèle avec les lignes spectrales

Selon ces informations, le PC1 utilise principalement les pics de calcium et de titane comme information. Ceci est tout à fait cohérent avec ce qui serait attendu puisque le calcium est l'élément principal contenu dans le cœur et le titane est un élément présent en bonne concentration dans l'enrobage sans être présent dans le cœur.

Voici les résultats de cette même analyse, mais cette fois-ci avec le PC2 :

Variable	Longueur d'onde (nm)	Ligne spectrale
3990	280	Mg 279,8nm
5900	318	Ca 317,9nm

9200	384	Mg 383,8nm
9660	393	Ca 393,4nm
22800	656	H 656,3nm

Tableau 8.11: Correspondance des variables du PC2 du modèle avec les lignes spectrales

Le PC2 explique seulement 3,2% de la variance de la matrice X, mais il semble contenir de l'information pertinente quant à la composition du cœur du comprimé puisqu'il utilise l'information des pics de magnésium qui est aussi un élément majeur du cœur du comprimé. Le pic d'hydrogène ne semble pas varier d'intensité entre le cœur et l'enrobage, donc ceci pourrait aussi signifier qu'à partir de ce PC, le modèle commence à modéliser du bruit.

Selon ces observations ainsi que pour simplifier l'analyse subséquente des données, la valeur sur le PC1 sera utilisée pour déterminer la profondeur de l'interface d'enrobage. Voici la méthode de calculs utilisée :

- Obtenir les données numériques des valeurs sur le PC1 de chacune des observations (d'une même carotte)
- Trouver la valeur maximale des données
- Soustraire chacune des valeurs de cette valeur maximale de sorte à obtenir la différence de chacune des valeurs par rapport au maximum de la distribution
- Tracer un graphique de ces valeurs en fonction du nombre de tirs, comme le graphique suivant :

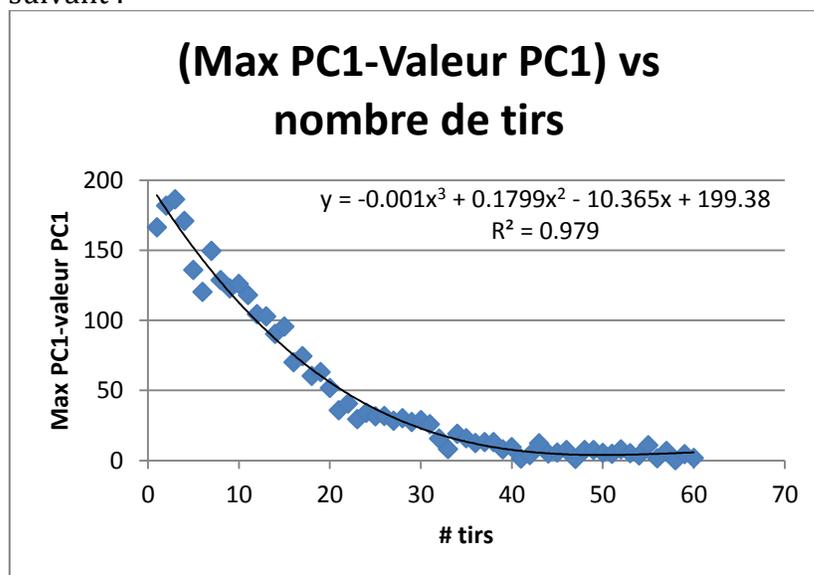


Figure 8.28: Graphique (max PC1-valeur PC1) vs nombre de tirs

- Tracer une courbe de tendance avec un polynôme de degré adéquat pour représenter les points
- Intégrer l'équation et évaluer aux bornes de 0 jusqu'à l'atteinte du plateau (déterminé visuellement, car ce facteur a une influence négligeable)

Voici les résultats obtenus par cette méthode:

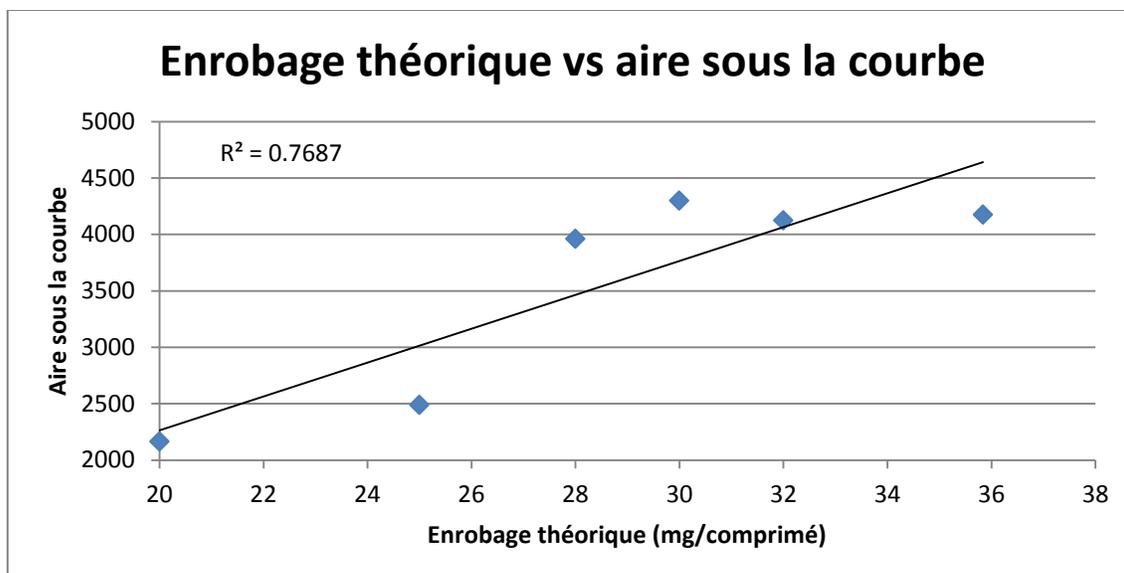


Figure 8.29: Graphique de l'enrobage théorique vs aire sous la courbe calculée

Ces résultats ont été obtenus en prenant 3 mesures par comprimé et seulement 2 comprimés. Ce nombre de réplicas est très faible sachant qu'il y a une importante variabilité d'épaisseur sur un même comprimé de plus qu'entre les différents comprimés d'une cuvée. Idéalement, plus de réplicas auraient été plus adéquat pour compléter l'étude en plus d'échantillonner différentes faces sur les comprimés, mais puisque c'était un travail laborieux, les travaux se sont limités à l'étude de faisabilité.

Détermination de l'épaisseur de l'enrobage

La dernière étape serait d'évaluer l'épaisseur de l'enrobage en fonction de la calibration faite au profilomètre. Puisque l'interface entre l'enrobage et le cœur n'est pas bien définie, mais plutôt transitoire, l'application de la formule de calibration calculée précédemment génèrerait un biais important. Une méthode alternative est proposée (ne provient pas d'une source externe) pour estimer de façon plus réaliste l'épaisseur d'enrobage *équivalente*. La méthode consiste à calculer un *nombre de tirs équivalent* avant d'atteindre le plateau. Voici comment procéder pour appliquer la méthode :

Dans cette méthode, il faut générer un graphique de l'intensité du pic associé au titane dans l'enrobage par rapport au nombre de tirs effectués. Chaque intensité de tir est rapportée en pourcentage par rapport à l'intensité maximale obtenue. Le nombre de tirs équivalents est alors calculé en faisant la somme de ces pourcentages jusqu'à l'atteinte du plateau final. Il est important de supprimer la valeur du plateau final lors du calcul des intensités. Finalement, en connaissant la surface approximative du comprimé, c'est possible d'estimer le volume d'enrobage. Voici un exemple de calcul avec une courbe fictive:

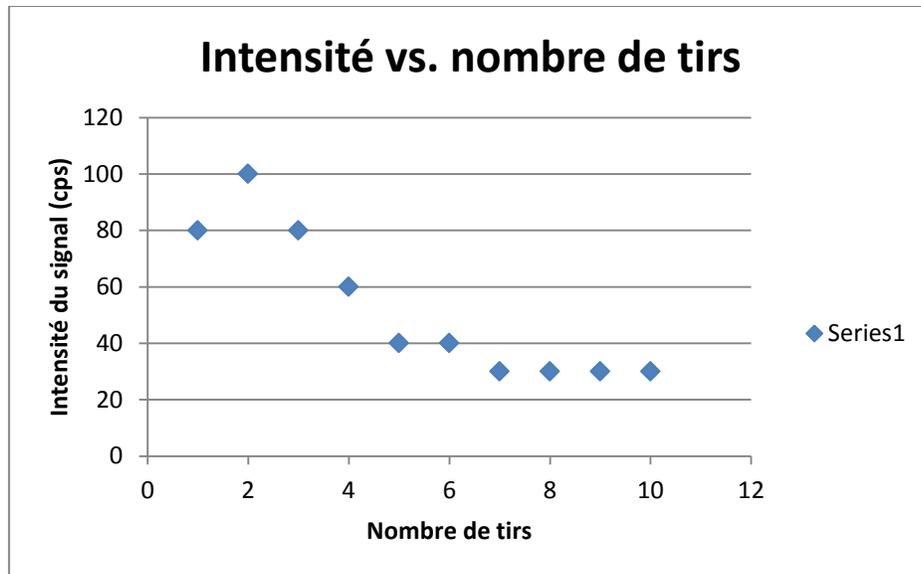


Figure 8.30 : Graphique de données fictives de l'intensité du signal en fonction du nombre de tirs

Dans cet exemple, l'intensité du plateau est de 30, donc l'intensité maximale est de $100 - 30 = 70$. Le nombre de tirs corrigé correspond alors à :

$$\begin{aligned} \#tirs &= \sum_{i=1}^{Nb.tirs} \frac{I_i - baseline}{I_{max} - baseline} = \frac{80 - 30}{100 - 30} + \frac{100 - 30}{100 - 30} + \frac{80 - 30}{100 - 30} + \frac{60 - 30}{100 - 30} \\ &\quad + \frac{50 - 30}{100 - 30} + \frac{50 - 30}{100 - 30} = 3,14 \text{ tirs} \end{aligned}$$

Voici les résultats obtenus après la compilation des données:

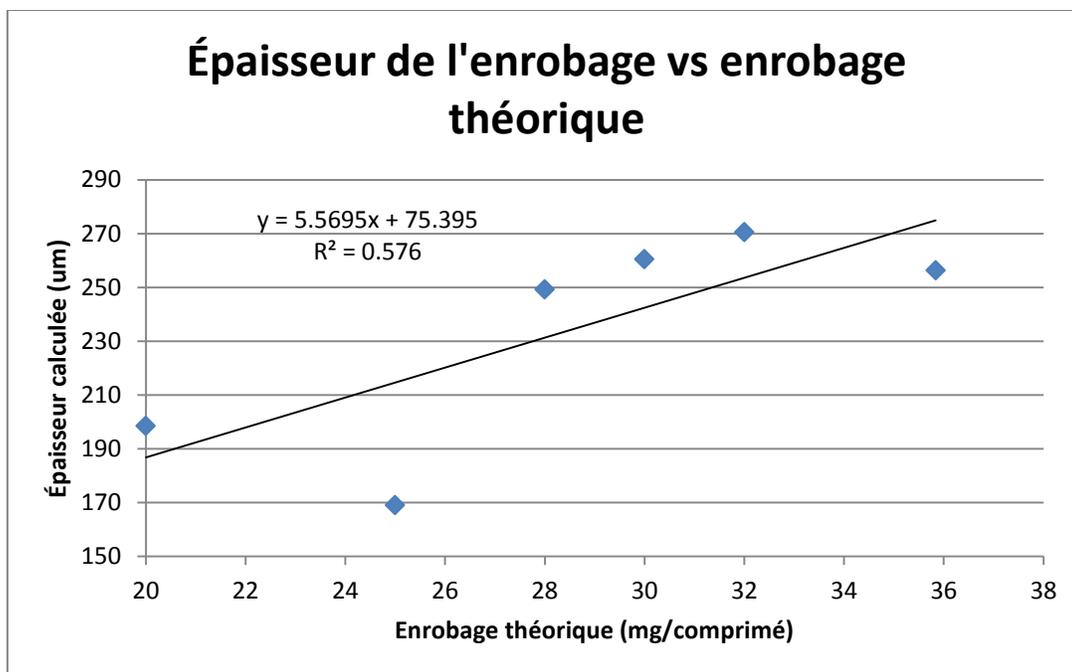


Figure 8.31: Graphique de l'épaisseur d'enrobage calculée vs enrobage théorique

Selon ces résultats, l'épaisseur d'enrobage nominal sur une multivitamine tel qu'utilisée dans les tests serait approximativement de 270 microns. Il n'y a pas de valeur de référence disponible pour ceci, donc c'est impossible d'évaluer sa justesse. Avec une méthode de référence, ce serait possible d'évaluer l'applicabilité de la méthode de calcul proposée. Encore une fois, le faible nombre de réplicas ainsi que l'échantillonnage sur une seule face sur les comprimés ont sûrement contribué à la faiblesse de cette corrélation, mais la tendance semble toutefois présente.

Conclusions du volet expérimental et travaux futurs

En conclusion, l'objectif de ces expériences était de tenter d'estimer l'épaisseur d'enrobage sur des comprimés pharmaceutiques à partir de la technologie LIBS. En somme, les résultats sont positifs puisque c'est possible d'estimer la profondeur creusée par tir laser et la composition échantillonnée par chaque tir peut aussi être utilisée pour déterminer le point où l'interface cœur-enrobage est atteinte.

D'abord, des tests ont été effectués par profilométrie pour calibrer la profondeur creusée en fonction du nombre de tirs de laser qui ont été effectués. Grâce à cette courbe, c'est possible de transformer un nombre de tirs en une épaisseur correspondante.

De plus, plusieurs méthodes de références ont été explorées pour déterminer l'épaisseur de l'enrobage d'un comprimé pharmaceutique. Ces techniques se résument à la microscopie optique, la microscopie électronique à balayage et la microtomographie à rayons X. Aucune de celles-ci n'a prouvé avoir le potentiel d'être une méthode de référence fiable pour la détermination de l'épaisseur théorique de l'enrobage de comprimés pharmaceutiques. Une autre méthode alternative potentielle qui n'a pas été explorée dans le cadre de ce cours serait la dissolution de l'enrobage dans un liquide et

ensuite analyser le contenu du liquide pour déterminer son contenu en titane. Ceci s'avère être une tâche plus laborieuse, c'est pourquoi elle n'a pas pu être entreprise.

La mesure de l'épaisseur par LIBS a démontré une bonne corrélation avec la concentration théorique d'enrobage sur les comprimés tel qu'attendu. Ceci permet donc de montrer que cette technologie a le potentiel d'être utilisée pour cette application. Les résultats n'étaient toutefois pas à la hauteur d'une application industrielle directe, mais considérant le faible nombre d'échantillons qui ont été mesurés, c'est plutôt normal, car c'est connu que l'épaisseur de l'enrobage a une bonne variabilité.

Finalement, la méthode d'analyse des données utilisait la technique PCA. Pour simplifier les calculs, un modèle à seulement 1 PC a été utilisé. Par contre, ce fut démontré qu'il y avait de l'information pertinente dans le PC 2, donc dans une étude plus exhaustive, ce serait pertinent d'inclure une deuxième composante principale pour améliorer la qualité des résultats.

CONCLUSION GÉNÉRALE

Pour conclure ce rapport, deux sections principales ont été développées : la première dans le but d'acquérir des connaissances théoriques nécessaires pour pouvoir ensuite employer la technologie LIBS pour une application industrielle pratique pour la deuxième section. Les différentes composantes utilisées en spectroscopie LIBS ont été étudiées ainsi que leur fonctionnement. De plus, les travaux antérieurs pertinents reliés avec le volet expérimental de cette expérience de recherche ont été regroupés et résumés pour déterminer le fil conducteur de cette étude. Finalement, la technologie LIBS a été montrée potentiellement applicable pour l'évaluation de l'épaisseur d'enrobage de comprimés pharmaceutiques. Par contre, l'étude n'était pas complète, donc il y a plusieurs avenues possibles pour permettre l'amélioration des résultats. Des exemples de ces avenues se résument à faire des modèles à plus haute dimensionnalité ainsi que d'ajouter des observations pour palier au problème de variabilité importante inter/intra-comprimés. Néanmoins, les résultats sont favorables à l'exécution de ces étapes supplémentaires dans le cas où une telle méthode serait convoitée.

LISTE DES RÉFÉRENCES

- AppliedSpectra (2012). Applied Spectra: A Laser Solutions Company. Dans Applied Spectra, *What is LIBS?*. <http://appliedspectra.com/technology/LIBS.html> (page consultée le 06/04 2012).
- Arantes De Carvalho, G. G., Nunes, L. C., Florêncio De Souza, P., Krug, F. J., Alegre, T. C. et Santos Jr., D. (2010). Evaluation of laser induced breakdown spectrometry for the determination of macro and micronutrients in pharmaceutical tablets. *Journal of Analytical Atomic Spectrometry*, volume 25, numéro 6, p. 803-809.
- Ardakani, H. A. et Tavassoli, S. H. (2010). Numerical and experimental depth profile analyses of coated and attached layers by laser-induced breakdown spectroscopy. *Spectrochimica Acta - Part B Atomic Spectroscopy*, volume 65, numéro 3, p. 210-217.
- ASDL (2012). Introduction to X-Ray Diffraction. Dans ASDL, http://www.asdlib.org/onlineArticles/ecourseware/Bullen_XRD/LearningActivity_Diffraction_BraggsLaw.pdf (page consultée le 07/18 2012).
- B&WTEK (2015). Spectrometer Knowledge Part 4: The Optical Bench. Dans B&WTEK inc., <http://bwtek.com/spectrometer-part-4-the-optical-bench/> (page consultée le 02/20 2015).
- Baudelet, M., Guyon, L., Yu, J., Wolf, J. -, Amodeo, T., Frjafon, E. et Laloi, P. (2006). Spectral signature of native CN bonds for bacterium detection and identification using femtosecond laser-induced breakdown spectroscopy. *Applied Physics Letters*, volume 88, numéro 6,
- Bauer, H. E., Leis, F. et Niemax, K. (1998). Laser induced breakdown spectrometry with an echelle spectrometer and intensified charge coupled device detection. *Spectrochimica acta, Part B: Atomic spectroscopy*, volume 53, numéro 13, p. 1815-1825.
- Bhaskaran, S., Chapman, T., Pilon, M. et VanGorden, S. (2008). Performance based CID imaging: Past, present, and future. Dans *Proceedings of SPIE - The International Society for Optical Engineering*, volume 7055
- Boulmer-Leborgne, C., Hermann, J. et Dubreuil, B. (1993). Plasma formation resulting from the interaction of a laser beam with a solid metal target in an ambient gas. *Plasma Sources Science and Technology*, volume 2, numéro 3, p. 219-226.
- Bradt, H. (8 août 2009). Saha Equation. Dans http://www.physics.upatras.gr/UploadedFiles/course_202_6391.pdf (page consultée le 05/30 2012).

- Butler, O. T., Cairns, W., Cook, J. M. et Davidson, C. M. (2011). Atomic spectrometry update. Environmental analysis. *Journal of Analytical Atomic Spectrometry*, volume 26, numéro 2, p. 250-286.
- Croarkin, C. et Tobias, P. (30/10/2013 2013). Engineering Statistics Handbook - What is skip-lot testing? Dans <http://www.itl.nist.gov/div898/handbook/index.htm> (page consultée le 01/07 2015).
- Davar, N., Baxter, T., Kavalakatt, P., Ghosh, S. et Schock, H. (2011). Addressing Segregation of a Low-Dosage Direct Blend. *Pharmaceutical Technology*, volume 35, numéro 2, p. 78.
- Davidson, M. W. (16 juillet 2004). Concepts in Digital Imaging Technology. Dans MolecularExpressions, <http://micro.magnet.fsu.edu/primer/digitalimaging/concepts/photomultipliers.html> (page consultée le 06/08 2012).
- Down, A. (17 janvier 2007). Introduction to Plasmas. Dans <http://www.duke.edu/~ad159/files/p142/1.pdf> (page consultée le 05/29 2012).
- Dubey, A., Keyvan, G., Hsia, R., Saranteas, K., Brone, D., Misra, T. et Muzzio, F. J. (2011). Analysis of pharmaceutical tablet coating uniformity by laser-induced breakdown spectroscopy (LIBS). *Journal of Pharmaceutical Innovation*, volume 6, numéro 2, p. 77-87.
- Dzubey, T. G., Jarrett, B. V. et Jaklevic, J. M. (1974). Background Reduction in X-ray Spectra Using Polarization. *Nuclear Instruments and Methods*, volume 115, p. 197.
- EAG (2012). Glow Discharge Mass Spectrometry. Dans EAG - Materials Characterization, <http://www.eaglabs.com/mc/glow-discharge-mass-spectrometry.html> (page consultée le 04/13 2012).
- Eigenvector (26 juillet 2011). Advanced Preprocessing: Noise, Offset, and Baseline Filtering. Dans Wikipedia, http://wiki.eigenvector.com/index.php?title=Advanced_Preprocessing:_Noise,_Offset,_and_Baseline_Filtering (page consultée le 07/05 2012).
- El-Taher, A. (2012). Elemental analysis of granite by instrumental neutron activation analysis (INAA) and X-ray fluorescence analysis (XRF). *Applied Radiation and Isotopes*, volume 70, numéro 1, p. 350-354.
- ENS-Cachan (9 octobre 2001). Diffraction Acousto-Optique. Dans ENS Cachan, <http://www.physique.ens-cachan.fr/laboratoire/experiences/fichiers/acousto.pdf> (page consultée le 06/07 2012).

- Florek, S., Haisch, C., Okruss, M. et Becker-Ross, H. (2001). A new, versatile echelle spectrometer relevant to laser induced plasma applications. *Spectrochimica Acta - Part B Atomic Spectroscopy*, volume 56, numéro 6, p. 1027-1034.
- Frisullo, P., Licciardello, F., Muratore, G. et Del Nobile, M. A. (2010). Microstructural characterization of multiphase chocolate using X-Ray microtomography. *Journal of Food Science*, volume 75, numéro 7, p. E469-E476.
- Galmed, A. H. et Harith, M. A. (2008). Temporal follow up of the LTE conditions in aluminum laser induced plasma at different laser energies. *Applied Physics B: Lasers and Optics*, volume 91, numéro 3-4, p. 651-660.
- Galmed, A. H., Kassem, A. K., Von Bergmann, H. et Harith, M. A. (2011). A study of using femtosecond LIBS in analyzing metallic thin film-semiconductor interface. *Applied Physics B: Lasers and Optics*, volume 102, numéro 1, p. 197-204.
- Gilon, N., El-Haddad, J., Stankova, A., Lei, W., Ma, Q., Motto-Ros, V. et Yu, J. (2011). A matrix effect and accuracy evaluation for the determination of elements in milk powder LIBS and laser ablation/ICP-OES spectrometry. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, volume 401, numéro 9, p. 2681-2689.
- Goldstein, J., Newbury, D., Joy, D., Lyman, C., Echlin, P., Lifshin, E., Sawyer, L. et Michael, J. (1992). *Scanning Electron Microscopy and X-Ray Microanalysis*. Plenum Press, États-Unis, 695 p.
- Gosselin, R. (2012a). *Cours d'analyse de données multivariées - session hiver* Université de Sherbrooke,
- Gosselin, R. (2012b). *Cours d'analyse de données multivariées: Section 4 - PCA* Sherbrooke,
- Gotoh, K., Masuda, H. et Higashitani, K. (1997). *Powder Technology Handbook*. Marcel Dekker, Inc., New York, 944 p.
- Goueguel, C., Singh, J. P., McIntyre, D. L., Jain, J. et Karamalidis, A. K. (2014). Effect of sodium chloride concentration on elemental analysis of brines by laser-induced breakdown spectroscopy (libs). *Applied Spectroscopy*, volume 68, numéro 2, p. 213-221.
- Gutierrez, S. (2009). *Spectrométrie de fluorescence X* Sherbrooke, Qc,
- Hazelwood, K. L. (2012). Concepts in Digital Imaging Technology. Dans Hamamatsu, <http://learn.hamamatsu.com/articles/microscopyimaging.html> (page consultée le 06/08 2012).
- Heckel, J. et Schramm, R. (1997). Bragg and Barkla Polarization in EDXRF. *International Center for Diffraction Data*,

- Hergeth, W. -. (2014). Process Analytical Chemistry. *Ullman's Encyclopedia of Industrial Chemistry*, p. 1.
- Hermann, J., Boulmer-Leborgne, C., Dubreuil, B. et Mihailescu, I. N. (1993a). Influence of irradiation conditions on plasma evolution in laser-surface interaction. *Journal of Applied Physics*, volume 74, numéro 5, p. 3071-3079.
- Hermann, J., Boulmer-Leborgne, C., Mihailescu, I. N. et Dubreuil, B. (1993b). Multistage plasma initiation process by pulsed CO₂ laser irradiation of a Ti sample in an ambient gas (He, Ar, or N₂). *Journal of Applied Physics*, volume 73, numéro 3, p. 1091-1099.
- Hettipathirana, T. D. (2004). Simultaneous determination of parts-per-million level Cr, As, Cd and Pb, and major elements in low level contaminated soils using borate fusion and energy dispersive X-ray fluorescence spectrometry with polarized excitation. *Spectrochimica Acta - Part B Atomic Spectroscopy*, volume 59, numéro 2, p. 223-229.
- Hettipathirana, T. D., Grey, N. A. et Naidu, R. (2004). Analysis of silicates using wavelength-dispersive x-ray fluorescence spectrometry for major elements: Effects of loss elimination and catch-weights. *X-Ray Spectrometry*, volume 33, numéro 2, p. 117-123.
- Hubbell, J. H. et Seltzer, S. M. (1996). Tables of X-Ray Mass Attenuation Coefficients and Mass Energy-Absorption Coefficients from 1 keV to 20 MeV for Elements Z = 1 to 92 and 48 Additional Substances of Dosimetric Interest. Dans NIST, <http://www.nist.gov/pml/data/xraycoef/index.cfm> (page consultée le 06-21 2012).
- Hübner, W. et Ankerhold, G. (2011). Elemental misinterpretation in automated analysis of LIBS spectra. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, volume 400, numéro 10, p. 3273-3278.
- ICET (7 septembre 2010). LIBS2010-6th International Conference on Laser Induced Breakdown Spectroscopy. Dans ICET, http://www.icet.msstate.edu/lib2010/LIBS2010_Technical_Program_16July.pdf (page consultée le avril/19 2012).
- Anonyme (2005). *ICH Harmonized Tripartite Guideline, Validation of Analytical Procedures : Text and Methodology Q2(R1)*. ICH,
- Jørgensen, A. (18-09-2000 2000). Clustering Excipient Near Infrared Spectra Using Different Chemometric Methods. Dans <http://www.pharmtech.helsinki.fi/seminaarit/vanhat/annajorgensen.pdf> (page consultée le 01/03 2013).
- Kim, K. -, Kim, G., Kim, J. -, Park, K. et Kim, K. -. (2014). Kriging interpolation method for laser induced breakdown spectroscopy (LIBS) analysis of Zn in various soils. *Journal of Analytical Atomic Spectrometry*, volume 29, numéro 1, p. 76-84.

- Konarski, P., Kaczorek, K., Cwil, M. et Marks, J. (2008). SIMS and GDMS depth profile analysis of hard coatings. *Vacuum*, volume 82, numéro 10, p. 1133-1136.
- Lewen, N. (2011). The use of atomic spectroscopy in the pharmaceutical industry for the determination of trace elements in pharmaceuticals. *Journal of pharmaceutical and biomedical analysis*, volume 55, numéro 4, p. 653-661.
- LOT (2012). Czerny-Turner Monochromators. Dans *LOT Oriel Group Europe*.
<http://www.lot-oriel.com/de/en/home/monochromators/> (page consultée le 06/07 2012).
- Madamba, M. C., Mullett, W. M., Debnath, S. et Kwong, E. (2007). Characterization of tablet film coatings using a laser-induced breakdown spectroscopic technique. *AAPS PharmSciTech*, volume 8, numéro 4,
- Mainfray, G. et Manus, G. (1991). Multiphoton ionization of atoms. *Reports on Progress in Physics*, volume 54, numéro 10, p. 1333-1372.
- Markowicz, A. (2011). An overview of quantification methods in energy-dispersive X-ray fluorescence analysis. *Pramana - Journal of Physics*, volume 76, numéro 2, p. 321-329.
- Mateo, M. P., Nicolas, G., Piñon, V. et Yañez, A. (2006). Improvements in depth-profiling of thick samples by laser-induced breakdown spectroscopy using linear correlation. *Surface and Interface Analysis*, volume 38, numéro 5, p. 941-948.
- Miziolek, A. W., Palleschi, V. et Schechter, I. (2006). *Laser Induced Breakdown Spectroscopy (LIBS) - Fundamentals and Applications*. Cambridge, Cambridge, 640 p.
- Mohsenin, N. N. (1984). *Electromagnetic Radiation Properties of Foods and Agricultural Products*. Gordon and Breach Science Publishers, New York, 677 p.
- Mouget, Y., Gosselin, P., Tourigny, M. et Béchar, S. (2003). Three-Dimensional Analyses of Tablet Content and Film Coating Uniformity by Laser Induced Breakdown Spectroscopy (LIBS). *American Laboratory*, volume 35, numéro 4, p. 19.
- Mouget, Y., Sing, R. et Béchar, S. (2001). *The Determination of Coating Thickness Uniformity in Pharmaceutical Tablets by Laser Induced Breakdown Spectroscopy*. Pittcon, Boucherville, Canada, 1 p.
- Myakalwar, A. K., Sreedhar, S., Barman, I., Dingari, N. C., Venugopal Rao, S., Prem Kiran, P., Tewari, S. P. et Manoj Kumar, G. (2011). Laser-induced breakdown spectroscopy-based investigation and classification of pharmaceutical tablets using multivariate chemometric analysis. *Talanta*, volume 87, numéro 1, p. 53-59.
- Nam, K. H., Isensee, R., Infantino, G., Putyera, K. et Wang, X. (2011). Microwave-induced combustion for ICP-MS: A generic approach to trace elemental analyses of pharmaceutical products. *Spectroscopy*, volume 26, numéro 4,

- NIST (2010). NIST Atomic Spectra Database Lines Form. Dans National Institute of Standards and Technology, http://physics.nist.gov/PhysRefData/ASD/lines_form.html (page consultée le 03/15 2012).
- PANalytical (2015). PANalytical Axios. Dans <http://www.panalytical.com/Axios.htm> (page consultée le 02/26 2015).
- Perring, L., Andrey, D., Basic-Dvorzak, M. et Hammer, D. (2005). Rapid quantification of iron, copper and zinc in food premixes using energy dispersive X-ray fluorescence. *Journal of Food Composition and Analysis*, volume 18, numéro 7, p. 655-663.
- Perring, L. et Blanc, J. (2008). Validation of quick measurement of mineral nutrients in milk powders: Comparison of energy dispersive X-ray fluorescence with inductively coupled plasma-optical emission spectroscopy and potentiometry reference methods. *Sensing and Instrumentation for Food Quality and Safety*, volume 2, numéro 4, p. 254-261.
- PfizerCHC (2015). Centrum Adults. Dans <http://www.centrum.com/centrum-adults> (page consultée le 01/07 2015).
- Pouzar, M., Kratochvíl, T., Čapek, L., Smoláková, L., Černohorský, T., Krejčová, A. et Hromádka, L. (2011). Quantitative LIBS analysis of vanadium in samples of hexagonal mesoporous silica catalysts. *Talanta*, volume 83, numéro 5, p. 1659-1664.
- Radziemski, L. J. (2002). From LASER to LIBS, the Path of Technology Development. *Spectrochimica Acta - Part B Atomic Spectroscopy*, volume 57, p. 1109.
- Radziemski, L. J. et Cremers, D. A. (1989). *Laser Induced Plasma and Applications*. Marcel Dekker Inc., New York, 449 p.
- Rutesh, H. -. (2015). Drug Topics - Overview of Pharmaceutical Excipients Used in Tablets and Capsules. Dans <http://drugtopics.modernmedicine.com/drug-topics/news/modernmedicine/modern-medicine-news/overview-pharmaceutical-excipients-used-tablets?page=full> (page consultée le 01/07 2015).
- Ryon, R. W. (2003). Polarization for Background Reduction in EDXRF - The Technique That Does Indeed Work. *International Center for Diffraction Data*, volume 46, p. 352.
- Saini, N. K., Mukherjee, P. K., Rathi, M. S. et Khanna, P. P. (2000). Evaluation of energy-dispersive x-ray fluorescence spectrometry in the rapid analysis of silicate rocks using pressed powder pellets. *X-Ray Spectrometry*, volume 29, numéro 2, p. 166-172.
- Sakai, Y., Iijima, Y., Asakawa, D. et Hiraoka, K. (2010). XPS depth profiling of polystyrene etched by electrospray droplet impact. *Surface and Interface Analysis*, volume 42, numéro 6-7, p. 658-661.
- Sneddon, J. (1999). *Advances in Atomic Spectroscopy*. Jai Press Inc., Stamford, 292 p.

- Sokaras, D., Karydas, A. G., Oikonomou, A., Zacharias, N., Beltsios, K. et Kantarelou, V. (2009). Combined elemental analysis of ancient glass beads by means of ion beam, portable XRF, and EPMA techniques. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, volume 395, numéro 7, p. 2199-2209.
- Spring, K. R. (2012). Quantum Efficiency. Dans Hamamatsu, <http://learn.hamamatsu.com/articles/quantumefficiency.html> (page consultée le 06/11 2012).
- Spring, K. R. (15 juin 2006). Acousto-Optic Tunable Filters. Dans <http://micro.magnet.fsu.edu/primer/java/filters/aotf/index.html> (page consultée le 06/12 2012).
- St-Onge, L., Kwong, E., Sabsabi, M. et Vadas, E. B. (2002). Quantitative analysis of pharmaceutical products by laser-induced breakdown spectroscopy. *Spectrochimica Acta - Part B Atomic Spectroscopy*, volume 57, numéro 7, p. 1131-1140.
- Sweedler, J. V., Jalkian, R. D., Pomeroy, R. S. et Denton, M. B. (1989). A comparison of CCD and CID detection for atomic emission spectroscopy. *Spectrochimica Acta Part B: Atomic Spectroscopy*, volume 44, numéro 7, p. 683-692.
- Tanev, P. T. et Pinnavaia, T. J. (1995). A neutral templating route to Mesoporous molecular sieves. *Science*, volume 267, numéro 5199, p. 865-867.
- Tarik, M. et Günther, D. (2010). A laser ablation millisecond-pulsed glow discharge time-of-flight mass spectrometer (LA-GD-TOFMS) for quasi-simultaneous elemental and molecular analysis. *Journal of Analytical Atomic Spectrometry*, volume 25, numéro 9, p. 1416-1423.
- University-Missouri (16 mars 2012). Overview of Neutron Activation Analysis. Dans Archeometry Laboratory - University of Missouri Research Reactor, http://archaeometry.missouri.edu/naa_overview.html (page consultée le 04/13 2012).
- Unnikrishnan, K., Alti, K., Nayak, R., Bernard, R., Khetarpal, N., Kartha, B., Santhosh, C., Gupta, P. et Suri, M. (2010). Optimized LIBS setup with echelle spectrograph-ICCD system for multi-elemental analysis. *Journal of Instrumentation*, volume 5, numéro 4,
- USP (2012). United States Pharmacopeial Convention. Dans <http://www.usp.org/> (page consultée le avril/24 2012).
- Vogt, S. S. (2012). The Keck I Telescope High Resolution Spectrometer. Dans Vogt, S.S., <http://www.ucolick.org/~vogt/hires.html> (page consultée le 06/08 2012).
- Wikipedia (15 juin 2012a). Plasma (Physics). Dans [http://en.wikipedia.org/wiki/Plasma_\(physics\)](http://en.wikipedia.org/wiki/Plasma_(physics)) (page consultée le 06/15 2012).

- Wikipedia (10 juin 2012b). Thermionic Emission. Dans http://en.wikipedia.org/wiki/Thermionic_emission (page consultée le 06/15 2012).
- Windom, B. C. et Hahn, D. W. (2009). Laser ablation - Laser induced breakdown spectroscopy (LA-LIBS): A means for overcoming matrix effects leading to improved analyte response. *Journal of Analytical Atomic Spectrometry*, volume 24, numéro 12, p. 1665-1675.
- Zalar, A. (2000). Materials characterization by Auger electron spectroscopy sputter depth profiling. *Informacije MIDE M*, volume 30, numéro 4, p. 203-209.
- Zeev, B. A. (1998). *Instrumental Multi-Element Chemical Analysis*. Springer, Norwell, 309 p.