



HAL
open science

Elaboration d'une nouvelle catégorie de surfaces adaptives sensibles à un stimulus mécanique

Alexandre Geissler

► **To cite this version:**

Alexandre Geissler. Elaboration d'une nouvelle catégorie de surfaces adaptives sensibles à un stimulus mécanique. Autre. Université de Haute Alsace - Mulhouse, 2009. Français. NNT : 2009MULH3198 . tel-00558988

HAL Id: tel-00558988

<https://theses.hal.science/tel-00558988v1>

Submitted on 24 Jan 2011

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

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

UNIVERSITE DE HAUTE-ALSACE

Année 2009

N° d'ordre : 2009/24

THESE

Pour l'obtention du grade de

DOCTEUR DE L'UNIVERSITE DE HAUTE-ALSACE

Discipline : Chimie des matériaux

présentée et soutenue publiquement

par

Alexandre GEISSLER

Ingénieur Chimiste de l'ECPM

le 4 décembre 2009

Elaboration d'une nouvelle catégorie de surfaces adaptatives sensibles à un stimulus mécanique

Directeurs de thèse : Dr. Marie-France VALLAT et Prof. Pierre SCHAAF
Co-encadrant : Dr. Vincent ROUCOULES

Jury : Prof. Yves HOLL (Président)
Dr. Christian FRETIGNY (rapporteur)
Dr Fabienne PONCIN-EPAILLARD (rapporteur)
Prof. Pierre SCHAAF
Dr Marie-France VALLAT
Dr Vincent ROUCOULES
Dr Benoît FRISCH

Remerciements

Je remercie le CNRS et la région Alsace d'avoir financé cette thèse par une bourse BDI CNRS-Région. Je remercie également la société Statice Santé et son président Mr Piranda d'avoir gracieusement fourni les feuilles de PDMS d'une part, et de m'avoir permis de réaliser l'activité doctorant-conseil auprès de la société, d'autre part.

Je remercie Pierre Schaaf, Marie-France Vallat et Vincent Roucoules de m'avoir accordé leur confiance pour mener ce sujet de thèse qui m'a passionné de par son originalité et son caractère pluridisciplinaire et exploratoire. J'ai eu la chance de bénéficier de tous les moyens nécessaires à un travail de recherche de qualité, dans un environnement agréable.

En particulier, je remercie le Professeur Pierre Schaaf, pour la qualité de ces cours à l'ECPM, qui ont largement contribué à mon attrait pour la physico-chimie des matériaux et la recherche.

Je remercie vivement Marie-France Vallat qui m'a donné l'opportunité de participer à plusieurs conférences internationales et qui m'a encouragé à participer à diverses formations qui ont contribué de manière certaine à mon insertion professionnelle. J'ai également beaucoup apprécié les discussions que nous avons pu avoir sur la science de l'adhésion et les élastomères.

Enfin je remercie Vincent Roucoules, qui m'a encadré au quotidien pendant ces trois années. Malgré un emploi du temps chargé, entre enseignement et recherche active, Vincent a toujours été disponible, qu'il s'agisse de questions pratiques, scientifiques ou existentielles, alors même que je n'avais pas encore commencé ma thèse ! J'ai eu la chance de travailler avec quelqu'un d'exceptionnel par son énergie, son dynamisme (contagieux !) et ses valeurs. Je ne garderai que de bons souvenirs.

Outre mes directeurs de thèse, je remercie l'ensemble des personnes qui ont collaboré à ce travail. Merci à Joseph Hemmerlé pour ses contributions, notamment pour l'élaboration de dispositifs d'élongation. Merci à Benoît Frisch qui a pris en charge la synthèse de molécules organiques et pour avoir apporté son expertise sur la partie chimie, nos échanges ont toujours été très intéressants. Merci à Vincent Ball, avec qui j'ai réalisé les expériences de potentiel d'écoulement à l'INSERM, et qui m'a beaucoup appris sur les aspects physico-chimiques liés aux surfaces chargées.

Je remercie vivement l'ensemble des acteurs de l'IS2M : techniciens, ingénieurs, chercheurs, stagiaires, du service administratif à l'atelier, en passant par le service informatique.

J'ai beaucoup apprécié les discussions avec Lydie et Karine sur le thème de la bioadhésion et je les remercie de m'avoir donné l'accès au microscope à Fluorescence. Merci à Hamidou, pour ses explications passionnées, équations à l'appui, à propos de la mouillabilité et de la physique des surfaces en général.

Merci à Arnaud et Philippe, en charge de l'XPS, d'avoir analysé mes échantillons, ainsi que de m'avoir formé et conseillé pour l'analyse des spectres. Merci à Simon pour les questions concernant les spectroscopies IR et Raman.

Merci à Loïc pour le MEB, Gauthier pour les essais mécaniques, Marie-Paule qui m'a aidé à résoudre divers problèmes expérimentaux dans la bonne humeur, Seppi pour les questions informatique, l'atelier (Cyril et Patrick) pour l'élaboration du dispositif d'élongation triaxial, et aussi pour les blagues. Merci à Sylvie, Louisa, Fabienne, Joëlle, Nathalina et Nathalie pour leur gentillesse et pour leur aide concernant les questions administratives.

Merci à tous les étudiants (Jone, Matthieu, Samer, Danièle, Ahmad,...) qui ont partagé mon bureau, parfois mes humeurs, et surtout de bons moments. Merci à mes stagiaires, Marie, Jean-Sébastien et Ulrich, qui ont contribué à ce travail.

Je garderai également un excellent souvenir de notre petite troupe tous les midis au Syrani, autour d'une choucroute ou d'un Fleischschnaka (« escargot de viande », spécialité alsacienne). Merci aussi aux fidèles du Badminton et des tournois endiablés de Poker et de PES.

Merci à l'Association Bernard Grégory (ABG), qui propose des formations très instructives pour l'insertion professionnelle des doctorants. J'ai eu l'opportunité de participer au doctorales d'Alsace 2008, à l'exercice de doctorant conseil et au nouveau chapitre de la thèse. Ces formations ont été parfaitement organisées et ont été des éléments clés dans ma réflexion pour l'après thèse et pour ma recherche d'emploi.

Enfin, je remercie mes parents et mes grands parents, qui m'ont soutenu tout au long de mes études, et Charlène, qui m'a accompagné pendant ces 3 années.

Résumé

Un matériau adaptatif ou « intelligent » est capable de modifier spontanément ses propriétés physico-chimiques en réponse à un stimulus (température, pH, etc.). Les surfaces sensibles à un stimulus mécanique constituent une nouvelle catégorie de matériaux adaptatifs capables de montrer des changements de propriétés de surface sous l'effet d'une contrainte mécanique. Dans ce contexte, ces travaux se concentrent sur l'adsorption d'objets biologiques tels que des protéines sur un support élastique. L'objectif étant de contrôler cette adsorption en fonction du taux d'étirement du substrat. Les élastomères de silicone (PDMS), de par leur élasticité et leur faible toxicité, constituent des supports de choix pour l'élaboration de telles surfaces. Ces matériaux polymère sont largement utilisés dans le domaine médical et en microfluidique.

La première étape d'élaboration consiste à rendre la surface du support de PDMS chimiquement réactive. Pour des temps de traitement courts, la polymérisation plasma de l'anhydride maléique permet d'introduire des groupements réactifs à la surface du PDMS, tout en conservant ses propriétés élastiques à l'échelle locale.

Les substrats de PDMS traités présentent des propriétés acide-base de surface qui sont caractéristiques des groupements diacide du film polymère plasma. Le degré d'ionisation et les propriétés d'adhésion de ces surfaces sont étudiés en fonction du pH. L'évolution de ces propriétés sous élongation atteste de l'effet de dilution des groupements réactifs de surface.

Le support étirable et réactif est ensuite fonctionnalisé avec des systèmes constitués de polymères et de récepteurs spécifiques. D'une part, les chaînes de poly(éthylèneglycol) (Peg) présentent des propriétés de résistance à l'adsorption de protéines. D'autre part, la biotine est un récepteur capable de se lier spécifiquement à une protéine, la streptavidine. En combinant le greffage covalent des Pegs et de la biotine sur le substrat de PDMS, on obtient une surface bi-fonctionnelle. L'objectif est de masquer la biotine avec les Pegs lorsque le substrat est à l'état relaxé, puis de promouvoir l'adsorption spécifique de la streptavidine sous élongation, afin d'obtenir un système de reconnaissance moléculaire sensible à un stimulus mécanique.

Abstract

Surface responsive materials have the property to show response mechanisms triggered by external stimuli (temperature, pH, etc.). Mechanically responsive surfaces are a new kind of stimuli-responsive materials, which surface properties change in response to mechanical stress. This work focuses on the controlled adsorption of biological objects such as proteins on an elastic substrate. The goal is to control adsorption as a function of the elongation of the substrate. In elaborating mechanically responsive materials, silicone elastomers (PDMS) constitute interesting substrates because of their high flexibility and low toxicity. These polymers are widely used in biomedical devices and in microfluidics.

The first step of elaboration consists in making the PDMS substrate chemically reactive. For low treatment time, plasma polymerization of maleic anhydride leads to the introduction of reactive groups on PDMS surface, while maintaining elastic properties at local scale.

Treated PDMS substrates show acide-base properties which are characteristic of the diacid groups from the plasma polymer thin film. The degree of ionization and the adhesion properties of the surface are studied as a function of pH. The evolution of these properties under elongation attests from the dilution effect of surface reactive groups.

The stretchable and reactive substrate is then functionalized with systems made of polymers and specific receptors. Poly(ethyleneglycol) (Peg) chains are well known to resist to protein adsorption, whereas biotin receptors bind specifically streptavidin proteins. A bi-functional surface is obtained by combining covalent grafting of Pegs and biotine on the PDMS substrate. The goal is to mask biotin with Peg chains in the relaxed state, while promoting specific binding of streptavidin under elongation of the substrate. This material may constitute a molecular recognition system that responds to a mechanical stimulus.

Sommaire général

| | |
|----------------------------|---|
| INTRODUCTION GENERALE..... | 1 |
|----------------------------|---|

Chapitre 1 - Synthèse bibliographique

| | |
|--|-----------|
| 1 SURFACES ADAPTATIVES REpondant A DIFFERENTS STIMULI | 7 |
| 1.1 Définition..... | 7 |
| 1.2 Exemples | 7 |
| 1.2.1 Surfaces sensibles à la température | 7 |
| 1.2.2 Surfaces sensibles au pH | 11 |
| 1.2.3 Surfaces sensibles à la lumière | 13 |
| 2 SUPPORT ELASTIQUE DE PDMS ET STIMULUS MECANIQUE | 15 |
| 2.1 Le PDMS, un polymère aux propriétés originales | 16 |
| 2.2 Exemples d'utilisation du PDMS..... | 17 |
| 2.2.1 La microfluidique..... | 17 |
| 2.2.2 Les implants médicaux | 19 |
| 2.2.3 Les supports déformables de culture cellulaire | 19 |
| 2.3 L'élongation : un outil pour l'obtention de matériaux à propriétés variables | 21 |
| 2.3.1 Concept des monocouches mécaniquement assemblées..... | 21 |
| 2.3.2 Utilisation du phénomène de « buckling » | 23 |
| 2.3.3 Utilisation de craquelures | 24 |
| 2.4 Matériaux adaptatifs répondant à un stimulus mécanique | 26 |
| 2.4.1 La nature comme exemple | 26 |
| 2.4.2 Libération contrôlée de molécules sous contrainte mécanique | 27 |
| 2.4.3 Films multicouches répondant à un stimulus mécanique | 28 |
| 2.4.4 Définition et originalité des surfaces adaptatives proposées..... | 32 |
| 3 REFERENCES | 34 |

Chapitre 2 - Elaboration d'une surface élastique et réactive

| | |
|---|-----------|
| 1 INTRODUCTION | 41 |
| 2 MATERIEL ET METHODES | 42 |
| 2.1 Substrat de PDMS | 42 |
| 2.2 Polymérisation Plasma de l'anhydride maléique | 43 |
| 2.2.1 Principe..... | 43 |

| | | |
|----------|--|-----------|
| 2.2.2 | <i>Montage</i> | 44 |
| 2.2.3 | <i>Dépôt</i> | 45 |
| 2.3 | Analyses de surface | 45 |
| 2.3.1 | <i>Mouillabilité</i> | 45 |
| 2.3.2 | <i>XPS</i> | 47 |
| 2.3.3 | <i>FTIR-ATR</i> | 47 |
| 2.3.4 | <i>MEB</i> | 49 |
| 2.3.5 | <i>Imagerie AFM</i> | 50 |
| 3 | MODIFICATIONS CHIMIQUES DU SUBSTRAT AU COURS DU TRAITEMENT | 52 |
| 3.1 | Mouillabilité | 52 |
| 3.1.1 | <i>Evolution de l'angle de contact de l'eau</i> | 52 |
| 3.1.2 | <i>Evolution de l'angle de contact du diiodométhane</i> | 53 |
| 3.1.3 | <i>Evolution du travail d'adhésion solide-eau</i> | 54 |
| 3.2 | Analyse XPS..... | 55 |
| 3.2.1 | <i>Composition atomique de la surface</i> | 56 |
| 3.2.2 | <i>Nature des groupements de surface</i> | 56 |
| 3.3 | Analyse FTIR-ATR..... | 59 |
| 3.4 | Hystérèse de mouillage | 60 |
| 3.5 | Mécanisme et cinétique de croissance du film | 61 |
| 4 | COHESION DES FILMS SOUS ETIREMENT | 63 |
| 4.1 | PDMS traité 30 min..... | 63 |
| 4.1.1 | <i>Analyses MEB</i> | 63 |
| 4.1.2 | <i>Analyse AFM.</i> | 65 |
| 4.2 | Influence du temps de traitement. | 67 |
| 4.3 | Choix du temps de traitement..... | 69 |
| 5 | SUBSTRAT DE PDMS TRAITE 6 MIN | 70 |
| 5.1 | Hydrolyse..... | 70 |
| 5.1.1 | <i>Généralités</i> | 70 |
| 5.1.2 | <i>Analyse FTIR-ATR</i> | 73 |
| 5.1.3 | <i>Analyse XPS</i> | 74 |
| 5.1.4 | <i>Mouillabilité</i> | 76 |
| 5.1.5 | <i>Stabilité des films</i> | 77 |
| 5.2 | Morphologie | 79 |
| 5.2.1 | <i>Substrats relaxés</i> | 79 |
| 5.2.1.1 | PDMS non traité | 79 |
| 5.2.1.2 | PDMS traité 6 min, hydrolysé | 81 |
| 5.2.1.3 | Imagerie en mode contact, en milieu liquide | 84 |
| 5.2.2 | <i>Substrats étirés</i> | 86 |
| 5.2.2.1 | PDMS non traité | 86 |
| 5.2.2.2 | PDMS traité 6 min, hydrolysé | 87 |
| 5.2.3 | <i>Bilan</i> | 89 |
| 6 | CONCLUSION | 90 |

| | | |
|----------|-------------------------|-----------|
| 7 | REFERENCES | 92 |
|----------|-------------------------|-----------|

Chapitre 3 - Propriétés acide-base de surface

| | | |
|----------|--|------------|
| 1 | INTRODUCTION | 97 |
| 2 | MATERIEL ET METHODES | 97 |
| 2.1 | Mesures d'angle de contact en fonction du pH..... | 97 |
| 2.2 | Analyses FTIR-ATR en fonction du pH..... | 98 |
| 2.3 | Analyses IRRAS en fonction du pH | 98 |
| 2.4 | Mesures de potentiel d'écoulement | 99 |
| 2.5 | Mesures de forces par AFM | 99 |
| 2.5.1 | <i>Les courbes de force</i> | <i>99</i> |
| 2.5.2 | <i>Choix du levier et de la pointe AFM.....</i> | <i>101</i> |
| 2.5.3 | <i>Les paramètres dynamiques des mesures de force.....</i> | <i>101</i> |
| 2.5.4 | <i>Mesures de forces en milieux aqueux</i> | <i>102</i> |
| 2.5.5 | <i>Conditions expérimentales</i> | <i>103</i> |
| 3 | TITRATION DE SURFACE | 104 |
| 3.1 | Généralités | 104 |
| 3.1.1 | <i>Interactions acide-base.....</i> | <i>104</i> |
| 3.1.2 | <i>Propriétés acide-base de surface</i> | <i>105</i> |
| 3.2 | Titration par mesures de mouillabilité | 106 |
| 3.3 | Titration de surface par FTIR-ATR | 108 |
| 3.4 | Comparaison des deux méthodes | 113 |
| 3.5 | Conclusion | 114 |
| 4 | PROPRIETES D'ADHESION DEPENDANTES DU PH | 115 |
| 4.1 | Généralités | 115 |
| 4.1.1 | <i>Les mesures de force par microscopie à force atomique</i> | <i>115</i> |
| 4.1.2 | <i>La titration par force chimique</i> | <i>116</i> |
| 4.2 | Fonctionnalisation de la pointe AFM..... | 117 |
| 4.2.1 | <i>Stratégie</i> | <i>117</i> |
| 4.2.2 | <i>Propriétés acide – base de la pointe</i> | <i>118</i> |
| 4.2.3 | <i>Morphologie de la pointe modifiée.....</i> | <i>120</i> |
| 4.3 | Mesures de force | 121 |
| 4.3.1 | <i>Courbes de forces sur PDMS traité et non-traité.....</i> | <i>121</i> |
| 4.3.2 | <i>Conséquences en imagerie</i> | <i>125</i> |
| 4.4 | Titration par force chimique | 126 |
| 4.4.1 | <i>PDMS non traité</i> | <i>126</i> |
| 4.4.2 | <i>PDMS traité 6 min.....</i> | <i>127</i> |

| | | |
|----------|--|------------|
| 4.4.3 | <i>pKas de surface</i> | 130 |
| 4.4.4 | <i>Effet de la force ionique</i> | 132 |
| 4.4.5 | <i>Nature des interactions pointe-surface</i> | 132 |
| 4.4.6 | <i>Effet d'un électrolyte divalent</i> | 135 |
| 5 | PROPRIETES ACIDE-BASE DE SURFACE : BILAN | 138 |
| 5.1 | <i>pKas de surface</i> | 138 |
| 5.2 | <i>Propriétés d'adhésion</i> | 138 |
| 6 | PROPRIETES SOUS ETIREMENT : EFFET DE « DILUTION » | 139 |
| 6.1 | <i>Mouillabilité</i> | 140 |
| 6.1.1 | <i>Titration sous étirement</i> | 140 |
| 6.1.2 | <i>Composante acide-base du travail d'adhésion</i> | 141 |
| 6.1.3 | <i>« Dilution » des groupements réactifs</i> | 142 |
| 6.2 | <i>Mesure de forces d'adhésion sous étirement</i> | 145 |
| 7 | CONCLUSION | 146 |
| 8 | REFERENCES | 148 |

Chapitre 4 – Fonctionnalisation du film et élaboration de la surface adaptative

| | | |
|----------|--|------------|
| 1 | INTRODUCTION | 154 |
| 2 | GENERALITES | 155 |
| 2.1 | <i>Pegs et surfaces non adhérentes pour les protéines</i> | 155 |
| 2.2 | <i>Définition des régimes de polymères greffés en surface</i> | 157 |
| 2.3 | <i>Interactions spécifiques de type protéine/ligand, cas de la biotine</i> | 158 |
| 2.4 | <i>Systèmes bi-fonctionnels Pegs/récepteur spécifique</i> | 159 |
| 3 | MATERIEL ET METHODES | 162 |
| 3.1 | <i>Fonctionnalisation du film polymère plasma</i> | 162 |
| 3.1.1 | <i>Réaction de dérivatisation</i> | 162 |
| 3.1.2 | <i>Greffage covalent d'amines en phase gazeuse</i> | 162 |
| 3.1.3 | <i>Greffage covalent d'amines en phase aqueuse</i> | 164 |
| 3.1.4 | <i>Greffage covalent par « chimie click »</i> | 167 |
| 3.1.5 | <i>Fonctionnalisation de surfaces de silicium</i> | 168 |
| 3.2 | <i>Test d'adsorption de protéines</i> | 169 |
| 3.2.1 | <i>Principe et protocole de la mesure</i> | 169 |
| 3.2.2 | <i>Mesure de fluorescence</i> | 170 |
| 3.2.3 | <i>Analyse des images, détermination de l'adsorption</i> | 170 |
| 3.2.4 | <i>Dispositifs d'élongation</i> | 171 |

| | | |
|----------|--|------------|
| 4 | FONCTIONNALISATION DU FILM POLYMERE PLASMA..... | 172 |
| 4.1 | Réactivité du film : Réactions de dérivatisation | 172 |
| 4.1.1 | <i>Quantification des groupements réactifs par XPS</i> | <i>172</i> |
| 4.1.2 | <i>Tentative de dosage par colorimétrie</i> | <i>174</i> |
| 4.2 | Fonctionnalisation du film par voie gazeuse..... | 176 |
| 4.2.1 | <i>Greffage de la propargylamine</i> | <i>176</i> |
| 4.2.2 | <i>Réaction de couplage par « click »</i> | <i>177</i> |
| 4.3 | Greffage covalent d'amines en phase aqueuse | 179 |
| 4.3.1 | <i>Mise en évidence de la réaction de couplage par EDC/NHS</i> | <i>179</i> |
| 4.3.2 | <i>Analyse préliminaire de substrats de silicium fonctionnalisés</i> | <i>180</i> |
| 4.3.2.1 | Mesure d'angle de contact..... | 180 |
| 4.3.2.2 | Analyse XPS..... | 182 |
| 4.3.2.3 | Test d'adsorption de protéines | 188 |
| 4.3.3 | <i>Fonctionnalisation des substrats de PDMS traités 6 min.....</i> | <i>190</i> |
| 4.3.3.1 | Mesure d'angle de contact..... | 190 |
| 4.3.3.2 | Analyse XPS..... | 191 |
| 5 | ADSORPTION DE PROTEINES DEPENDANT DE L'ELONGATION | 195 |
| 5.1 | Elongation uni-axiale | 195 |
| 5.1.1 | <i>Tests d'adsorption de l'avidine</i> | <i>195</i> |
| 5.1.1.1 | Films monofonctionnels..... | 195 |
| 5.1.1.2 | Films bi-fonctionnels..... | 198 |
| 5.1.2 | <i>Tests d'adsorption de la streptavidine</i> | <i>200</i> |
| 5.1.3 | <i>Bilan.....</i> | <i>202</i> |
| 5.2 | Elongation triaxiale | 205 |
| 5.2.1 | <i>Films monofonctionnels</i> | <i>205</i> |
| 5.2.1.1 | Films de Pegs | 205 |
| 5.2.1.2 | Films de biotine..... | 206 |
| 5.2.2 | <i>Films bi-fonctionnels</i> | <i>207</i> |
| 5.2.2.1 | Greffages sur les substrats à l'état relaxé | 207 |
| 5.2.2.2 | Greffages sur les substrats à l'état étiré | 208 |
| 6 | GREFFAGES DE PEGS DANS DES CONDITIONS DE « CLOUD POINT » | 210 |
| 6.1 | Généralités | 210 |
| 6.2 | Analyse préliminaire de surfaces de silicium fonctionnalisées | 211 |
| 6.2.1 | <i>Mesures d'angle de contact.....</i> | <i>211</i> |
| 6.2.2 | <i>Analyse XPS.....</i> | <i>213</i> |
| 6.2.3 | <i>Adsorption de protéines.....</i> | <i>216</i> |
| 6.3 | Fonctionnalisation des substrats de PDMS traités 6 min | 217 |
| 6.3.1 | <i>Mesure d'angle de contact.....</i> | <i>218</i> |
| 6.3.2 | <i>Analyse XPS.....</i> | <i>218</i> |
| 6.3.3 | <i>Influence de l'élongation sur l'adsorption de protéines.....</i> | <i>223</i> |
| 7 | CONCLUSION | 226 |
| 8 | REFERENCES | 228 |

Chapitre 5 – Limites et perspectives

| | | |
|----------|--|------------|
| 1 | SYNTHESE DES PRINCIPAUX RESULTATS | 234 |
| 2 | FACTEURS DE LIMITATION ET PERSPECTIVES D'AMELIORATION | 235 |
| 2.1 | Substrat de PDMS | 235 |
| 2.2 | Distribution des groupements réactifs sur le substrat..... | 236 |
| 2.3 | Stratégie de préparation des films bi-fonctionnels..... | 239 |
| 2.4 | Méthode de détection | 243 |
| 2.5 | Le système récepteur/ligand..... | 246 |
| 3 | REFERENCES | 250 |
| | CONCLUSION GENERALE | 252 |

Introduction générale

Les surfaces et interfaces jouent un rôle primordial dans le développement des nouvelles technologies. Les domaines concernés touchent aussi bien l'adhésion que la catalyse, les semi-conducteurs, les capteurs, ou les biomatériaux pour ne citer que quelques exemples.

La fonctionnalisation d'un substrat devient une étape essentielle dès lors que l'on souhaite réguler les propriétés de la surface en vue d'une application bien spécifique. Depuis quelques années on assiste au développement de nouveaux modes de fonctionnalisation de surfaces conduisant à des systèmes originaux dont la particularité est de répondre à des sollicitations extérieures. On parle alors de surfaces adaptatives. Ces surfaces, généralement obtenues par greffage de polymères sur des substrats solides sont élaborées de manière à présenter des changements contrôlés de leurs propriétés, si possible de manière réversible, en réponse à l'application de stimuli externes. Dans beaucoup d'exemples décrits dans la littérature, les surfaces adaptatives répondent à des variations de température, de pH, ou encore à un rayonnement lumineux.

Le sujet de thèse porte sur l'élaboration de nouvelles surfaces adaptatives sensible à un stimulus mécanique. Très peu d'exemples dans la littérature considèrent ce type de stimulus. Pourtant, dans la nature, il est à l'origine de divers types de réponses biologiques apparaissant par exemple au niveau du système auditif où une pression est transformée en signal électrique ou encore au niveau des cellules où les forces de traction au niveau du cytosquelette sont converties en signaux biochimiques. L'élaboration de matériaux, et en particulier de surfaces répondant à des stimuli mécaniques présente un grand intérêt d'un point de vue fondamental pour le développement de nouveaux concepts de matériaux synthétiques. En second lieu, maîtriser le comportement d'une surface en réponse à un stimulus mécanique pourrait ouvrir la voie à de nouvelles applications dans le domaine biomédical. En effet, le corps humain est sujet à de nombreuses contraintes mécaniques au niveau des muscles, des articulations, ou encore des artères. La libération contrôlée de principes actifs ou encore la croissance cellulaire initiées par des stimuli biomécaniques constitueraient d'intéressantes perspectives pour le développement de patchs et d'implants médicaux adaptatifs.

L'objectif de ce travail à caractère fondamental est d'élaborer un matériau dont les propriétés surfaciques de reconnaissance moléculaire dépendent de l'élongation. La stratégie d'élaboration mise en œuvre consiste à fonctionnaliser un support élastique avec des systèmes de récepteurs masqués par des macromolécules. L'idée est de rendre ces récepteurs spécifiques accessibles pour des objets biologiques tels que des protéines lors

de l'élongation macroscopique du substrat. Les deux principaux enjeux liés à l'obtention d'un tel matériau résident dans le masquage des récepteurs et dans le transfert de l'élongation macroscopique à l'échelle locale afin de démasquer ces récepteurs sous élongation. La réversibilité du phénomène, c'est-à-dire la libération de l'espèce adsorbée lors de la relaxation de la contrainte, constitue l'objectif ultime du projet. La **Figure 1** ci-dessous illustre ce concept de surface adaptative.

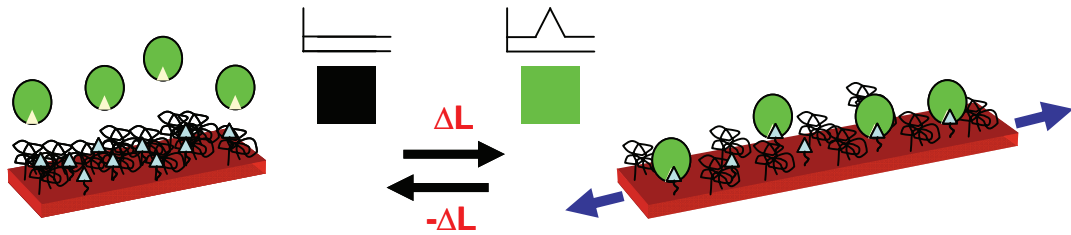


Figure 1 : Concept de surface adaptative dont les propriétés d'adsorption de protéines sont contrôlées par un stimulus mécanique

Dans ce travail, des substrats élastomères de poly(diméthylsiloxane) (PDMS) sont utilisés comme base élastique. Ces supports inertes sont modifiés par polymérisation plasma afin d'y introduire des groupements réactifs de surface tout en conservant leurs propriétés élastiques à l'échelle locale. La fonctionnalisation du substrat est ensuite assurée par le greffage covalent de biomolécules et de macromolécules hydrosolubles. Les surfaces bifonctionnelles obtenues sont finalement analysées en termes d'adsorption de protéines, en fonction de l'élongation du substrat. Ce travail s'articule autour de cinq chapitres :

Le *premier chapitre* expose une synthèse bibliographique décrivant quelques exemples de surfaces adaptatives sensibles à des stimuli « classiques » tels que des variations de température ou de pH, avant d'aborder la question des matériaux sensibles à un stimulus mécanique, dont les exemples sont beaucoup plus rares. Ce chapitre introduit également le support élastomère de PDMS, en insistant sur son utilisation comme matériau élastique dont la chimie de surface doit être contrôlée.

Le *second chapitre* est dédié au traitement de la surface inerte du PDMS par polymérisation plasma de l'anhydride maléique dans le but d'obtenir une surface réactive et élastique à l'échelle locale. Les conditions de traitement « classiques » appliquées aux substrats de PDMS conduisent à la formation d'une couche fragile à l'origine de l'apparition de craquelures lors de l'élongation du substrat. Ces craquelures sont indésirables dans l'objectif visé car celles-ci nuisent au transfert de l'élongation macroscopique du substrat à

l'échelle locale. La stratégie employée dans ces travaux afin d'éliminer ces craquelures consiste à diminuer le temps de traitement. L'évolution de la composition chimique de la surface en fonction de la durée de traitement est analysée afin de mettre évidence les différentes étapes de la croissance du film polymère. Il est montré que l'application d'un temps de traitement court permet d'introduire des groupements réactifs de surface tout en conservant la cohésion du substrat à l'échelle locale sous élancement (**Figure 2**).

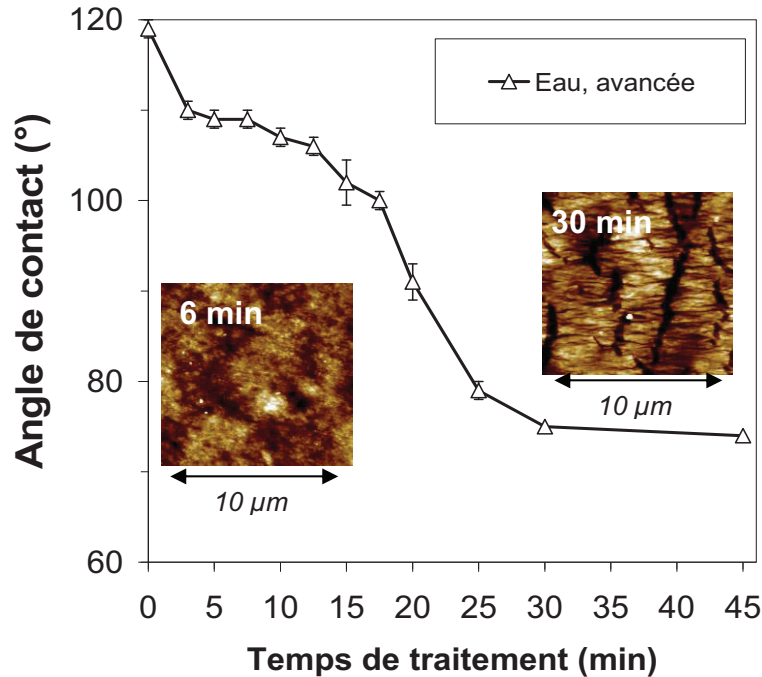


Figure 2 : Analyses parallèles de la composition chimique et de la cohésion des substrats de PDMS sous élancement en fonction de la durée du traitement par polymérisation plasma

Le troisième chapitre traite de l'analyse des propriétés acide-base des substrats de PDMS traités par polymérisation plasma. L'hydrolyse des groupements anhydride du film conduit à la formation de groupements diacides présentant des propriétés acide-base au sens de Brønsted. L'évolution du taux d'ionisation de la surface en fonction du pH est étudiée par différentes méthodes ce qui permet d'accéder aux pKas de surface. Les propriétés d'adhésion dépendantes du pH sont également mises en évidence par AFM (Microscopie à Force Atomique) en réalisant des mesures de force en milieu aqueux entre une pointe AFM et un substrat de PDMS tous deux modifiés par polymérisation plasma (**Figure 3**).

Ces propriétés acide-base de surface, caractéristiques des groupements diacides du film, sont exploitées afin de mettre en évidence la dilution des groupements réactifs de surface lors de l'élancement macroscopique du substrat.

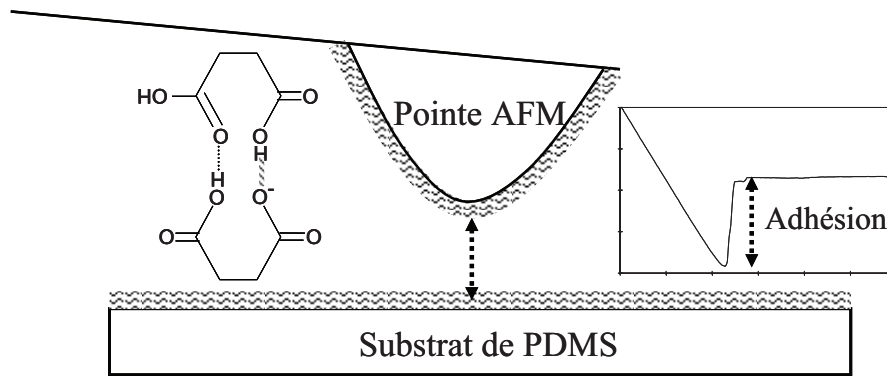


Figure 3 : Schéma illustrant la mesure de force par AFM en milieux aqueux entre une pointe et un substrat de PDMS tous deux modifiés par polymérisation plasma

Dans le *quatrième chapitre* le support étirable et réactif est fonctionnalisé de manière covalente avec des systèmes constitués de polymères et de récepteurs spécifiques à fonctionnalité amine. D'une part, les chaînes de poly(éthylène glycol) (Peg) sont des polymères présentant des propriétés de résistance à l'adsorption de protéines. D'autre part, la biotine est un récepteur capable de se lier spécifiquement à une protéine, la streptavidine. En combinant le greffage des Pegs et de la biotine sur le substrat de PDMS, on obtient une surface bi-fonctionnelle, présentant à la fois des fonctions anti-adsorbantes et des fonctions permettant d'attacher spécifiquement la streptavidine sur le substrat (**Figure 4**). L'objectif est de favoriser le caractère adsorbant ou anti-adsorbant du support en fonction de son taux d'élongation. Les tests d'adsorption de protéines sont réalisés en fonction de l'élongation du substrat de PDMS, à l'aide d'un dispositif d'élongation triaxial élaboré dans le cadre de ces travaux.

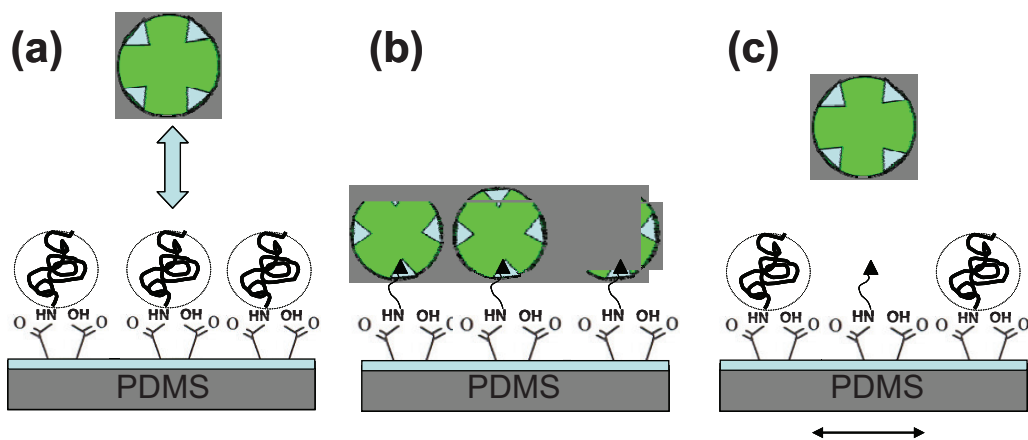


Figure 4 : Schéma illustrant les différents types de films fonctionnalisés avec (a) des Pegs, (b) la biotine, (c) les Pegs et la biotine (film bi-fonctionnel). Les propriétés d'adsorption de protéines de ces films sont étudiées en fonction du taux d'élongation du substrat de PDMS

Dans le *cinquième chapitre*, les différents facteurs de limitation du système sont discutés à tous les niveaux du matériau, de la nature composite du substrat de PDMS au système protéine ligand utilisé dans cette étude. En outre, des solutions et perspectives envisageables dans le cadre des travaux futurs y sont proposées.

CHAPITRE 1

SYNTHESE BIBLIOGRAPHIQUE

| | | |
|----------|--|-----------|
| 1 | SURFACES ADAPTATIVES REpondant A DIFFERENTS STIMULI | 7 |
| 1.1 | Définition..... | 7 |
| 1.2 | Exemples | 7 |
| 1.2.1 | <i>Surfaces sensibles à la température</i> | <i>7</i> |
| 1.2.2 | <i>Surfaces sensibles au pH.....</i> | <i>11</i> |
| 1.2.3 | <i>Surfaces sensibles à la lumière</i> | <i>13</i> |
| 2 | SUPPORT ELASTIQUE DE PDMS ET STIMULUS MECANIQUE | 15 |
| 2.1 | Le PDMS, un polymère aux propriétés originales | 16 |
| 2.2 | Exemples d'utilisation du PDMS..... | 17 |
| 2.2.1 | <i>La microfluidique.....</i> | <i>17</i> |
| 2.2.2 | <i>Les implants médicaux</i> | <i>19</i> |
| 2.2.3 | <i>Les supports déformables de culture cellulaire</i> | <i>19</i> |
| 2.3 | L'élongation : un outil pour l'obtention de matériaux à propriétés variables | 21 |
| 2.3.1 | <i>Concept des monocouches mécaniquement assemblées</i> | <i>21</i> |
| 2.3.2 | <i>Utilisation du phénomène de « buckling »</i> | <i>23</i> |
| 2.3.3 | <i>Utilisation de craquelures</i> | <i>24</i> |
| 2.4 | Matériaux adaptatifs répondant à un stimulus mécanique | 26 |
| 2.4.1 | <i>La nature comme exemple</i> | <i>26</i> |
| 2.4.2 | <i>Libération contrôlée de molécules sous contrainte mécanique</i> | <i>27</i> |
| 2.4.3 | <i>Films multicouches répondant à un stimulus mécanique</i> | <i>28</i> |
| 2.4.4 | <i>Définition et originalité des surfaces adaptatives proposées.....</i> | <i>32</i> |
| 3 | REFERENCES..... | 34 |

1 Surfaces adaptatives répondant à différents stimuli

1.1 Définition

Une surface adaptative ou «intelligente» est capable de modifier spontanément ses propriétés physico-chimiques de surface (mouillage, affinité chimique, adhésion, etc.) en réponse à un stimulus externe (température, pH, lumière, etc.).¹ La modification de surfaces et la création d'interfaces avec des polymères synthétiques dont la composition et l'architecture sont ajustables à façon offre de nombreux degrés de liberté pour le design de tels matériaux.^{2,3} Les domaines d'application associés incluent les systèmes de libération contrôlée de principes actifs⁴, les capteurs⁵, les systèmes de séparation et de filtration⁶, pour ne citer que quelques exemples.

Nous rapporterons ici quelques exemples de surfaces adaptatives en se focalisant sur les systèmes sensibles à la température, au pH ou encore à la lumière.

1.2 Exemples

1.2.1 Surfaces sensibles à la température

La température est l'un des stimuli les plus utilisés dans le domaine des matériaux adaptatifs. Un changement de température est un paramètre facile à contrôler et aisément applicable dans des conditions *in vitro* ou *in vivo*. Par exemple, des supports de culture cellulaires sensibles à la température sont utilisés *in vitro*⁷ tandis que des hydrogels ou micelles sensibles à la température permettent de libérer des principes actifs *in vivo*.⁸

La plupart des systèmes sensibles à la température présentent une température critique de solubilité. La température critique de solubilité est la température à laquelle un polymère en solution présente un changement de phase. Si la solubilité du polymère en solution présente une diminution de solubilité à partir d'une température critique, on parle de polymère LCST (Lower Critical Solution Temperature). La **Figure 1.1** présente le diagramme de phase typique d'un polymère LCST en solution.

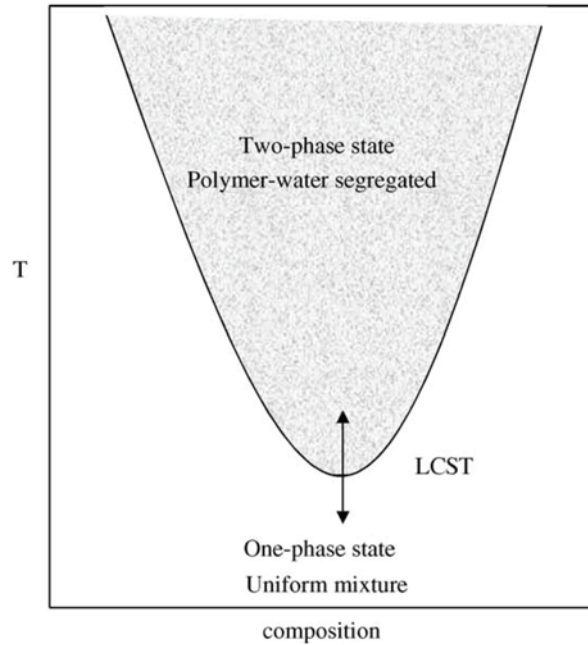


Figure 1.1 : Diagramme de phase typique d'un polymère LCST en phase aqueuse (d'après la référence 3)

Il existe aussi des polymères HCST (Higher Critical Solution Temperature), mais ce sont les polymères LCST qui sont utilisés dans la plupart des applications. Le Poly(N-isopropylacrylamide) (PNIPAAm) est le polymère LCST le plus courant, celui-ci présente une transition de phase étroite dans l'eau à environ 32°C.⁹ Il est possible de contrôler cette température de transition en modifiant les segments *N*-isopropylacrylamide de la chaîne.² Les polymères LCST sont utilisés dans des applications variées en solution ou sous la forme de gels réticulés. Il est également possible d'exploiter le comportement de ces polymères lorsque ceux-ci sont introduits au niveau d'un substrat, dont les propriétés sont modulables en fonction d'un stimulus externe.¹⁰ Par exemple, Yoshizako et al¹¹ montrent qu'il est possible de réguler l'adsorption spécifique de protéines sur un substrat fonctionnalisé avec des récepteurs spécifiques et des polymères LCST. La **Figure 1.2** schématise ce concept de surface adaptative.

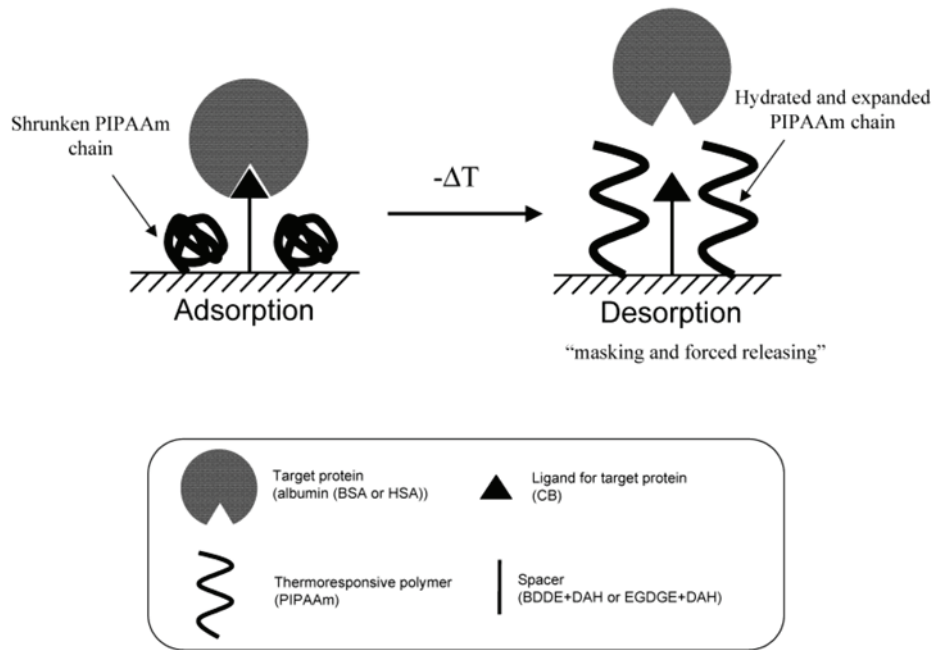


Figure 1.2 : Schéma illustrant le concept de reconnaissance moléculaire contrôlé par la température utilisant les propriétés des polymères LCST en solution, d'après la référence 11

Dans ces travaux, des matrices de chromatographie par affinité sont fonctionnalisées avec un ligand spécifique de l'albumine, le cibacron (CB) et avec le poly(N-isopropylacrylamide) (PNIPAAm) qui présente un changement de solubilité à 32°C. Les résultats montrent que la quantité d'albumine adsorbée est significativement réduite à des températures inférieures à la température LCST du PNIPAAm, à condition que l'espacer utilisé pour greffer le cibacron ait une longueur inférieure à la longueur moyenne des chaînes de PNIPAAm à l'état étendu. De plus, il est montré dans cette étude que les protéines adsorbées peuvent être libérées de la surface en se plaçant en dessous de la température LCST tout en maintenant constants d'autres facteurs tels que le pH et la force ionique. En d'autres termes, il est possible de régénérer les sites spécifiques d'adsorption de cette colonne de chromatographie par une simple diminution de la température.

Remarquons qu'il est également possible d'obtenir une surface thermosensible par polymérisation plasma en utilisant un monomère permettant d'obtenir une structure polymère présentant une LCST. Ainsi, Ratner et al¹², ont montré que la polymérisation plasma du NIPAM conduit à l'obtention d'une couche thermosensible. Dans ce cas, l'énergie de surface, l'épaisseur et les propriétés mécaniques du film polymère plasma présentent une transition à 31-32°C. Il est montré que l'origine de cette transition provient de l'orientation préférentielle des groupements amide vers l'interface film-eau pour former des liaisons hydrogène avec l'eau à basse température, tandis qu'au-dessus de la LCST, ces groupements s'orientent vers l'intérieur du film pour des raisons entropiques.

La solubilité de chaînes de poly(éthylène glycol) (Peg) dans l'eau dépend également de la température, mais la température critique de séparation de phase est typiquement de l'ordre de 100°C.¹³ Zareie et al¹⁴ ont utilisé des dérivés de Pegs présentant 12 unités répétitives éthylène glycol, modifiés avec des groupements hydrophobes afin de diminuer la température de transition LCST jusqu'à 37°C. Des monocouches autoassemblées (SAM's) mixtes ont été préparées sur des surfaces d'or à partir de ces Pegs et de récepteurs spécifiques (biotine fonctionnalisée avec un ligand disulfure), avec un ratio de 2:1. En-dessous de la température LCST, les Pegs présentent une conformation étendue (longueur théorique de ~5,7 nm) tandis qu'au-dessus de la LCST, les Pegs présentent une structure collapsée, permettant de masquer ou démasquer la biotine, dont le ligand disulfure présente une longueur théorique de ~3 nm. La **Figure 1.3** présente les résultats de l'analyse SPR (Surface Plasmon Resonance) et AFM (Atomic Force Microscopy) de l'adsorption de streptavidine sur ces monocouches mixtes, à 23°C (<LCST) et à 45°C (>LCST).

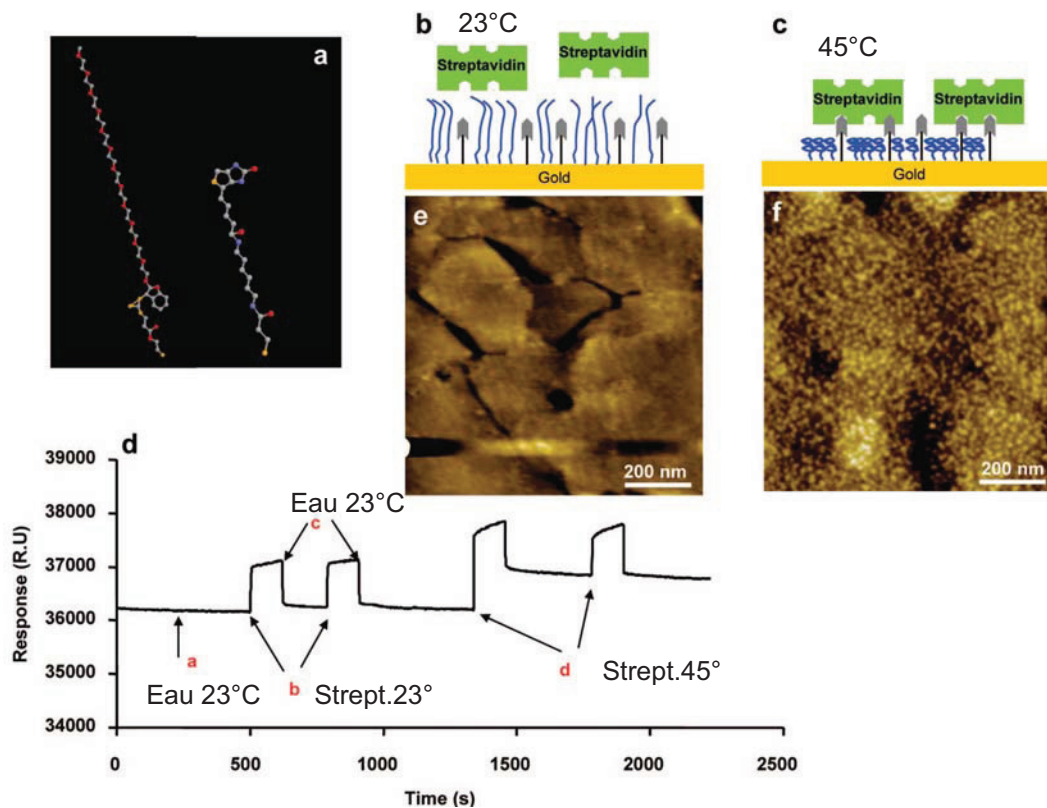


Figure 1.3 : Analyse SPR et AFM de l'adsorption de la streptavidine sur la monocouche mixte Peg12/biotine, (a) Structures chimiques des composants de la monocouche ; Peg12 (à gauche), biotine-ligand disulfure (à droite), (b) et (c) Représentation schématique de l'adsorption de la streptavidine à 23°C et 45°C, respectivement, (d) Réponse SPR après l'adsorption de streptavidine à 23°C et 45°C, (e) et (f) Images AFM en mode tapping en milieu liquide des monocouches après injection de solutions de streptavidine à 23 et 45°C, respectivement, d'après la référence 14

Les résultats indiquent que l'adsorption spécifique de la streptavidine sur les sites spécifiques de biotine se produit à 45°C, lorsque les Pegs sont sous leur forme collapsée. A 23°C, température inférieure à la LCTS, les Pegs adoptent une conformation étendue, ce qui permet de masquer la biotine. Cette étude démontre qu'il est possible d'activer les propriétés de reconnaissance moléculaire de la surface par une augmentation de la température, mais la question de la réversibilité du phénomène (libération de la streptavidine par diminution de la température) n'est pas discutée dans ces travaux.

Nous citerons enfin les travaux de Grunze et al¹⁵, montrant que les propriétés de mouillage, de bioadhésion et d'adsorption de protéines de SAM's mixtes à terminaisons oligo(éthylène glycol) et méthyle peuvent être réversiblement modifiées en changeant la température. Cette propriété est attribuée à des changements de structure des monocouches sous l'effet de la température.

1.2.2 Surfaces sensibles au pH

Les polymères sensibles au pH présentent généralement des groupements latéraux ionisables capables d'accepter ou de donner des protons en fonction du pH. Le degré d'ionisation d'un polymère présentant des groupements ionisables (appelé polyélectrolyte) change rapidement lorsque le pH est égal au pKa (constante d'acidité) de ces groupements. Le changement de la charge nette des groupements latéraux provoque une modification du volume hydrodynamique des chaînes polymère. La transition d'une conformation collapsée vers une conformation étendue est liée à la répulsion électrostatique mutuelle des groupements chargés adjacents.¹⁶

On distingue deux types de polyélectrolytes sensibles au pH : les polyacides faibles et les polybases faibles. Les polyacides tels que l'acide poly(acrylique) (PAAc) acceptent des protons à faibles valeurs de pH et donnent des protons à pH élevé (formation de charges négatives).¹⁷ De manière opposée, les polybases telles que la poly(4-vinylpyridine) sont chargées positivement à pH faible tandis que leur déprotonation à pH élevé conduit à leur neutralité.¹⁸

Dans de nombreuses applications, les surfaces sensibles au pH sont composées de chaînes de polyélectrolytes greffés sous la forme de peignes ou de multicouches, présentant des changements de conformation en fonction du pH. Par exemple, Ito et al¹⁹ décrivent un système de filtration en verre poreux sensible au pH. Dans ces travaux, des chaînes d'acide poly(acrylique) ont été polymérisées à partir de surfaces de verre fonctionnalisées avec des silanes puis activées par un traitement plasma air, comme l'illustre la **Figure 1.4**.

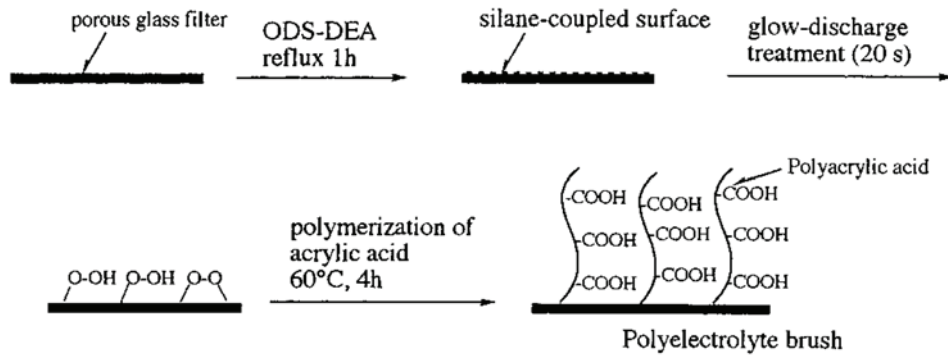


Figure 1.4 : Schéma illustrant la préparation d'un système de filtration sensible au pH, d'après la référence 19

Cette étude montre que la perméabilité du système dépend du pH (**Figure 1.5**) :

- Pour de faibles valeurs de pH, les chaînes polyelectrolyte sont sous leur forme collapsée, les pores du filtre sont ouverts et la vitesse de perméation de l'eau est élevée.
- Pour des valeurs de pH élevées, les chaînes polyelectrolyte sont sous leur forme étendue, les pores sont bouchés et la vitesse de perméation de l'eau est faible.

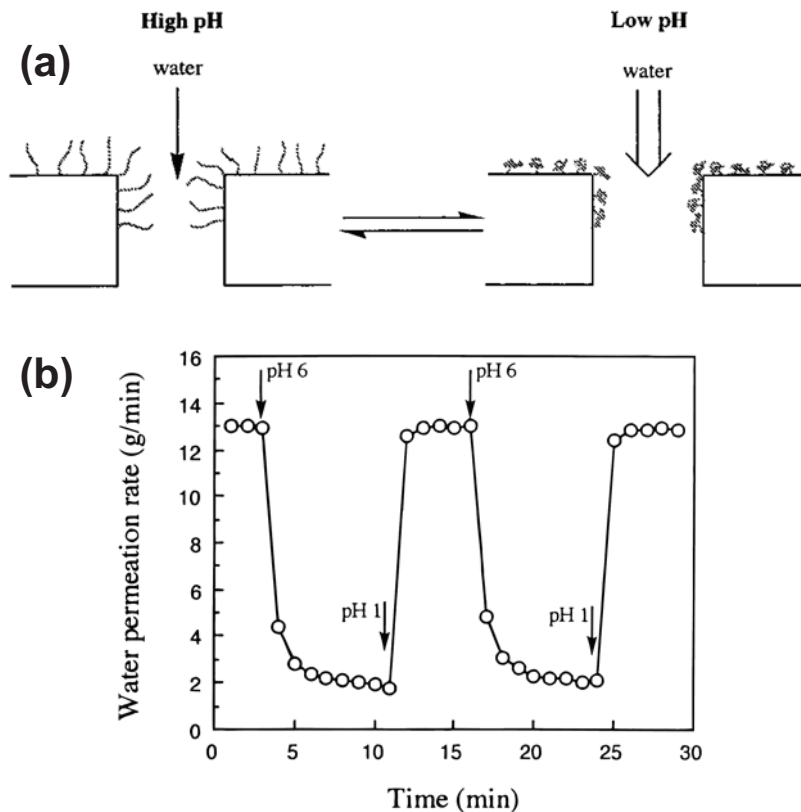


Figure 1.5 : (a) Schéma décrivant le mécanisme de perméation d'un filtre de verre fonctionnalisé avec des chaînes d'acide poly(acrylique) (b) Cycles de filtration dépendant du pH, d'après la référence 19

Dans cette étude, les chaînes d'acide poly(acrylique) ont été introduites au niveau de la surface poreuse par polymérisation radicalaire. L'inconvénient de cette méthode est de ne pas permettre de contrôler de manière précise la longueur et la densité de greffage des chaînes. Une autre méthode consiste à greffer les chaînes polyelectrolyte de degré de polymérisation contrôlé au niveau des pores de la membrane. Par exemple, les mêmes auteurs ont greffé des chaînes d'acide poly(glutamique) présentant une terminaison disulfure au niveau d'une membrane en polycarbonate nanoporeuse recouverte d'un film d'or.²⁰ Dans cette étude, les changements du diamètre des pores en fonction du pH ont été étudiés par AFM, comme l'illustre la **Figure 1.6**.

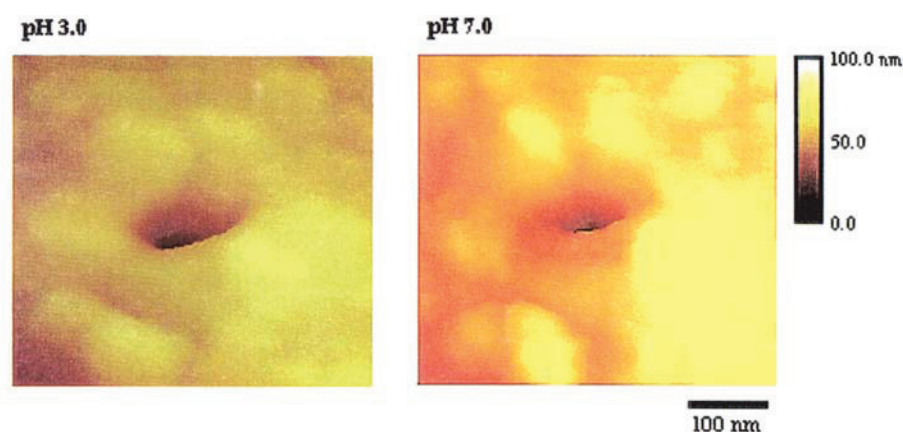


Figure 1.6 : Images AFM d'une membrane poreuse fonctionnalisée avec des chaînes d'acide poly(glutamique), à pH = 3 et à pH = 7, d'après la référence 20

1.2.3 Surfaces sensibles à la lumière

Les matériaux polymères photosensibles sont constitués de groupements capables de changer leur configuration en réponse à une excitation lumineuse dans l'UV.²¹

La majorité de ces matériaux utilisent les propriétés de dérivés de l'azo-benzène, chromophores présentant une photoisomérisation réversible sous rayonnement UV. La conformation de type *trans* linéaire, est transformée en une conformation *cis* repliée à cause de la photoisomérisation du groupement central -N=N- induite par l'adsorption d'un photon à une longueur d'onde de 360 nm environ.

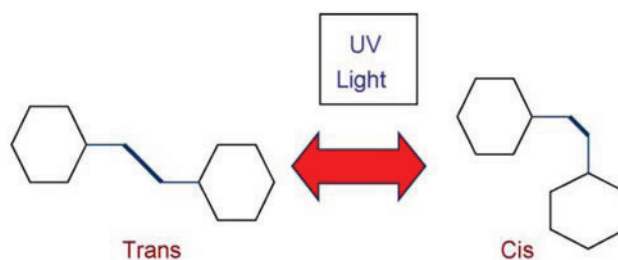


Figure 1.7 : Photoisomérisation de l'azobenzène, d'après la référence 3

Ce phénomène peut être utilisé afin de contrôler les propriétés de surface des matériaux en fonction de leur illumination. La fabrication de monocouches par la méthode de Langmuir-Blodgett à partir de molécules ou de polymères amphiphiles²² ainsi que la préparation de monocouches autoassemblées de silanes²³ ont permis d'obtenir des couches photosensibles présentant des changements réversibles de propriétés optiques, pour des applications de type capteur/actionneur (« command layers »).

Un phénomène appelé « réponse photomécanique » se manifeste par des changements réversibles des propriétés mécaniques de monocouches contenant des groupements azobenzène sous illumination, liés aux changements de structures des molécules au sein de la monocouche.²⁴

Un phénomène intéressant a été décrit par Ichimura et al²⁵ qui ont démontré qu'une goutte de liquide déposée sur une monocouche constituée de dérivés d'azobenzène peut être déplacée selon une certaine direction en appliquant un gradient de rayonnement UV sur la surface. Ces travaux montrent que l'irradiation asymétrique de la surface est à l'origine d'un gradient d'énergie de surface lié à différents taux d'isomérisation du chromophore, comme l'illustre la **Figure 1.8**.

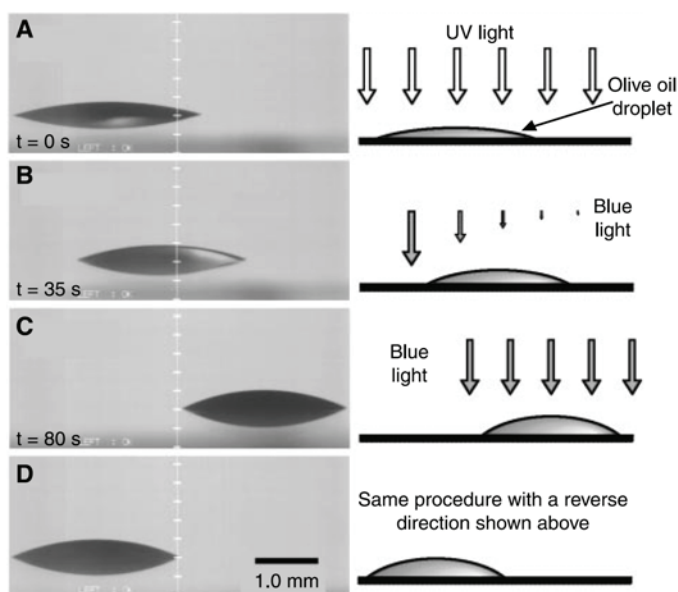


Figure 1.8 : Images du déplacement latéral d'une goutte d'huile d'olive sur une surface riche en formes cis déplacée en direction de régions de plus haute énergie de surface par irradiation asymétrique avec un rayonnement UV à 436 nm perpendiculaire à la surface, d'après la référence 25

Les auteurs suggèrent que le déplacement contrôlé par la lumière d'une goutte de liquide dans un tube en verre modifié présente des applications potentielles dans la réalisation de procédés chimiques à l'échelle micrométrique.

Nous citerons enfin les travaux d'Anselmetti et al²⁶ présentant un système d'affinité chimique activé par irradiation lumineuse ou par chauffage. Cette surface adaptative est constituée de monocouches autoassemblées composées de macrocycles photosensibles de resor[4]arene. Lors de l'irradiation de la surface par un rayonnement UV, les macrocycles s'ouvrent et présentent une cavité pour l'attachement spécifique d'ions ammonium. La cavité est bloquée en l'absence d'irradiation. La **Figure 1.9** décrit ce phénomène réversible, qui a été mis en évidence par des mesures de force (« Single Molecule Force Microscopy ») à l'aide d'une pointe AFM fonctionnalisée avec une chaîne poly(éthylène glycol) présentant un ion ammonium en bout de chaîne.

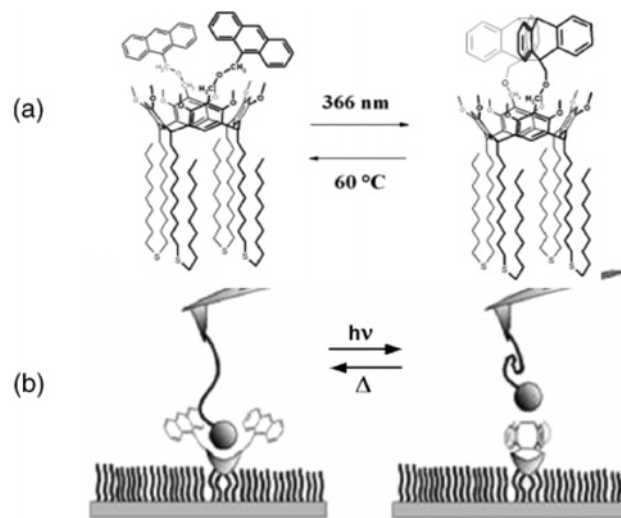


Figure 1.9 : (a) Représentation du macrocycle resor[4]arene photosensible, (b) Représentation schématique de l'expérience de « Single Molecule Force Microscopy » utilisée pour mettre en évidence le phénomène d'affinité chimique induit par un stimulus lumineux, d'après la référence 26

Ce concept de « cage moléculaire » dont l'ouverture ou la fermeture est contrôlable en fonction d'un stimulus externe ouvre la voie, entre autres, à de potentielles applications en termes de mémoires moléculaires.

2 Support élastique de PDMS et stimulus mécanique

En général, les surfaces adaptatives sont constituées d'un support sur lequel sont introduits des polymères présentant des changements de propriétés en réponse à un stimulus externe. Dans le cas des surfaces adaptatives élaborées dans le cadre de ces travaux, l'approche sera différente. La réponse surfacique ne sera pas basée sur des changements de

propriétés de molécules individuelles mais sur des changements d'encombrement stérique lié au déplacement collectif des molécules lors de l'élongation du support.

Dans cette idée, la stratégie d'élaboration d'un tel matériau repose sur la modification d'un support élastique, capable de s'allonger et de se relaxer réversiblement. A ce titre, les élastomères de poly(diméthylsiloxane) (PDMS), communément appelés silicones, constituent des supports particulièrement intéressants en raison de leur caractère élastique et de leur faible toxicité.

Dans la suite, nous donnerons quelques généralités sur les silicones avant de citer quelques exemples d'utilisation du PDMS requérant la modification de la chimie de surface. Nous présenterons également des stratégies d'élaboration de matériaux tirant profit de ses propriétés élastiques. Nous décrirons enfin les récents exemples de films adaptatifs sensibles à un stimulus mécanique réalisés à partir de multicouches de polyelectrolytes déposés sur des supports de PDMS. Nous montrerons alors l'originalité de nos travaux, tant au niveau conceptuel qu'au niveau de l'approche utilisée pour l'élaboration de la surface adaptive.

2.1 Le PDMS, un polymère aux propriétés originales²⁷

Les silicones sont des polymères synthétiques contenant des unités répétitives Si-O dans la chaîne principale et présentant des groupements organiques liés à l'atome de silicium via une liaison Si-C. Il existe une grande variété de silicones, à l'état d'huiles (molécules linéaires, fluides) ou de résines (petits réseaux macromoléculaires, solides), utilisés dans de diverses applications telles la lubrification, les joints d'étanchéité, l'isolation électrique et les prothèses médicales, pour ne citer que celles-ci. Le poly(diméthylsiloxane) (PDMS), silicone le plus courant, est représenté par la formule générale $-(\text{Si}(\text{CH}_3)_2\text{-O})_n-$. De manière générale, les silicones présentent des propriétés les distinguant des molécules organiques classiques. Les groupements Si-O (~106 kcal/mol) présentent une énergie de liaison légèrement plus forte que la liaison C-C (~81 kcal/mol) ou C-O (~75 kcal/mol), ce qui est à l'origine de leurs bonnes propriétés de résistance thermique et de vieillissement. La flexibilité de la chaîne siloxane est liée au grand angle de valence de la liaison Si-O-Si et à une distance interatomique élevée. De plus, la répartition régulière des groupements méthyle apolaires empêche les interactions entre les chaînes ce qui est à l'origine de la mobilité des chaînes de PDMS. La flexibilité et la mobilité des chaînes se traduisent par une température de transition vitreuse particulièrement basse (~ -120°C) et un comportement viscoélastique prononcé. Le PDMS est hydrophobe et chimiquement inerte en raison des groupements méthyle latéraux. Cependant, le caractère légèrement polaire de la liaison Si-O et les doublets de l'atome d'oxygène combinés à la grande flexibilité de la chaîne permet au PDMS

de développer des interactions polaires et acide-base avec d'autres molécules ou matériaux, à l'image de l'adhérence du PDMS sur une surface de verre propre.

La réticulation des huiles de silicone conduit à la formation de réseaux macromoléculaires. Le solide élastique obtenu est appelé élastomère de silicone. La dispersion de particules de silice (« charges ») permet d'augmenter la résistance mécanique des élastomères.

Dans la suite, nous présenterons quelques applications du PDMS (sous la forme d'élastomère) requérant la modification et le contrôle des propriétés de surface.

2.2 Exemples d'utilisation du PDMS

2.2.1 La microfluidique

La microfluidique consiste en la manipulation de liquides et de gaz au niveau de canaux dont la section est de l'ordre de 10-100 μm . C'est une technologie émergente au niveau des systèmes miniaturisés développés pour des applications en chimie, biologie et médecine. Les applications concernées sont les systèmes analytiques miniaturisés, les dispositifs biomédicaux, les instruments pour la chimie et la biochimie et les systèmes pour la recherche fondamentale.^{28, 29}

Le PDMS constitue un matériau très intéressant pour la fabrication de microcanaux pour différentes raisons :

- Des structures micrométriques peuvent être aisément élaborées en moulant le PDMS à partir d'un moule présentant la structure négative (réplique).
- Le PDMS est optiquement transparent au-delà de 280 nm ce qui est compatible avec les moyens de détection tels que l'absorbance UV/Visible et la fluorescence.
- En raison de son caractère déformable et hydrophobe, l'assemblage du PDMS avec lui-même et divers types de matériaux (verre, silicium, PMMA, etc.) permet de former des joints étanches, de manière réversible (contact moléculaire) ou irréversible par l'application d'un traitement de surface permettant d'établir des liaisons covalentes.
- La faible toxicité du PDMS permet d'envisager l'implantation de dispositifs in vivo.

Malgré ces propriétés intéressantes, l'utilisation directe du PDMS pose des problèmes en microfluidique. En particulier, l'hydrophobicité du PDMS nuit au remplissage des canaux avec des solutions aqueuses et conduit à l'adsorption non-spécifique de composés hydrophobes. Par conséquent, le contrôle de la chimie de surface du PDMS est un enjeu important pour son utilisation dans des applications de microfluidique. L'augmentation du caractère hydrophile, la résistance à l'adsorption non-spécifique d'analytes tels que les

protéines et l'introduction de molécules spécifiques telles que des antigènes au sein des canaux constituent des problématiques clés.

Diverses méthodes sont utilisées afin de modifier la chimie de surface du PDMS pour des applications en microfluidique, incluant des méthodes physiques, chimiques ou la combinaison des deux. L'article de revue de Makamba et al³⁰ décrit ces diverses méthodes incluant la modification par des sources énergétiques (plasma oxygène, UV, décharge corona), l'adsorption de molécules amphiphiles, l'adsorption de multicouches de polyélectrolytes, la polymérisation radicalaire induite par irradiation, le greffage de silanes et la polymérisation plasma. Par exemple, Langer et al³¹ ont utilisé la polymérisation plasma du para-xylylène-carboxy-pentafluorophenolester-co-paraxylylène (PPX-PPF) afin de fonctionnaliser un dispositif microfluidique en PDMS avec des biomolécules permettant d'immobiliser des objets biologiques tels que des cellules au niveau des canaux. La **Figure 2.1** décrit les différentes étapes d'élaboration de ce dispositif.

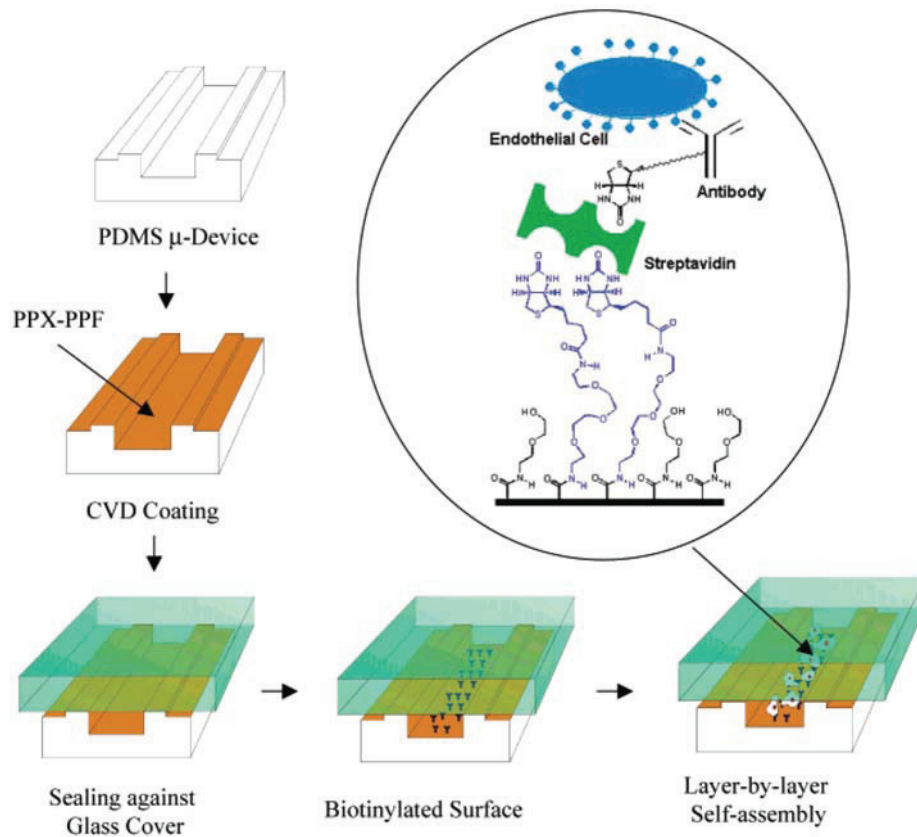


Figure 2.1 : Représentation schématique des étapes d'élaboration d'un dispositif de microfluidique présentant une surface bioactive. Une couche mince réactive est déposée par polymérisation plasma sur le substrat de PDMS structuré puis le système est fermé et rendu étanche à l'aide d'une plaque de verre. Le film polymère plasma réactif permet le greffage covalent de la biotine puis l'adsorption spécifique de la streptavidine. Grâce aux 4 sites d'interaction spécifique de la streptavidine, un anticorps fonctionnalisé conjugué à la biotine est introduit sur le substrat. Cet anticorps permet la fixation de cellules endothéliales sur le substrat, d'après la référence 31

L'utilité de ce dispositif au niveau de tests biologiques sur les cellules a été démontrée en mesurant in vitro l'activité de l'échistatine, un inhibiteur d'adhésion cellulaire.

2.2.2 Les implants médicaux

Le poly(éthylène téréphtalate) (PET), le poly(tétrafluoroéthylène) (PTFE), le polypropylène (PP), les polyuréthanes et les silicones sont des polymères commerciaux utilisés comme implants biomédicaux en raison de leur relative inertie et de leur biocompatibilité.³²

En particulier, le PDMS est un élastomère très utilisé en raison de son élasticité et de son inertie chimique. Ce matériau est réputé pour ne présenter que de faibles dégradations au court du temps après son implantation. Cette stabilité distingue les élastomères de silicone des autres élastomères et a motivé leur utilisation massive au niveau de cathéters, de prothèses mammaires et de tissus artificiels, pour ne citer que quelques exemples.^{32, 33}

Cependant, en partie en raison de son caractère hydrophobe, le PDMS a tendance à interagir avec les protéines ce qui induit l'adsorption d'importantes quantités de protéines sur les implants dans un environnement biologique.³⁴ Cette affinité importante du PDMS à l'égard des protéines est indésirable dans les applications où les implants sont directement en contact du sang.^{33, 35}

Par conséquent, un objectif de la recherche dans le domaine des biomatériaux consiste à améliorer les propriétés de biocompatibilité et de bioactivité des implants en élastomère de silicone. L'article de revue d'Abasi et al³⁶ traite des différentes méthodes employées afin de modifier les propriétés du PDMS pour des applications médicales. Ces méthodes incluent la modification de volume (mélanges lors de la formulation, utilisation de copolymères, fonctionnalisation des chaînes) et de surface (méthodes physiques, chimiques et combinaison des deux). Les méthodes de traitement de surface sont similaires à celles évoquées précédemment dans le cas des applications en microfluidique. Nous citerons enfin l'article de revue très complet récemment publié par Desmet et al³⁷ traitant de l'utilisation des plasmas froids pour la modification de la surface de biomatériaux polymères.

2.2.3 Les supports déformables de culture cellulaire

Le PDMS est couramment utilisé comme support de culture cellulaire en raison de son caractère élastique permettant d'étudier in vitro l'influence de contraintes mécaniques sur les cellules.³⁸ En effet, divers types de cellules au niveau des tissus sont soumises à des contraintes mécaniques telles que la compression au niveau des os et du cartilage³⁹ ou l'élongation cyclique au niveau de cellules du système cardiovasculaires.⁴⁰

La principale limitation du PDMS comme support pour la culture cellulaire est son importante hydrophobicité et sa faible adhérence à l'égard des cellules. La méthode la plus

utilisée consiste à adsorber des protéines de la matrice extracellulaire telles que le collagène ou la fibronectine sur les supports de culture cellulaire en PDMS, mais cette méthode ne permet pas de maintenir les propriétés d'adhésion cellulaire sous élongation.⁴¹

Les travaux récents de Hinz et al⁴¹ montrent clairement que l'attachement covalent des protéines (collagène) sur le substrat fonctionnalisé (plasma oxygène/3-aminopropyltriéthoxysilane (APTES)/glutaraldéhyde) permet d'augmenter la quantité de cellules fixées ainsi que leur étalement et leur prolifération, comparativement aux méthodes non covalentes consistant à adsorber directement les protéines sur le substrat ou à modifier le substrat avec des multicouches de polyélectrolytes (poly(styrène)-sulfonate (PSS)/poly(éthylène)-imine (PEI)). L'efficacité de ces différentes méthodes pour transmettre l'élongation macroscopique du substrat de PDMS au niveau des cellules a également été étudiée. La **Figure 2.2** présente la quantification de l'aire des cellules pour différents taux d'élongation du substrat de PDMS recouvert de collagène selon différentes méthodes.

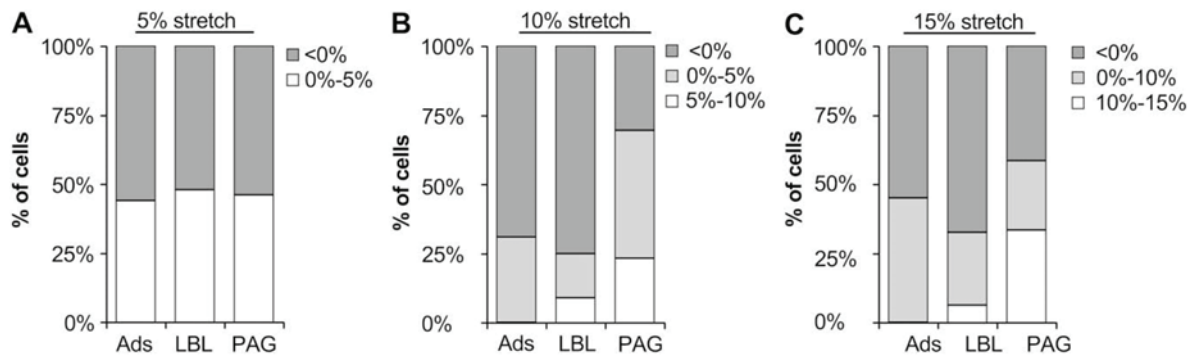


Figure 2.2 : Quantification de l'augmentation d'aire des cellules pour différents taux d'élongation des substrats de PDMS modifiés avec le collagène par simple adsorption (Ads), à l'aide de multicouches (LBL), par greffage covalent (PAG). Les histogrammes gris foncé correspondent à la proportion de cellules présentant une diminution d'aire en raison de leur détachement du substrat. Les histogrammes gris clair correspondent aux cellules partiellement détachées présentant un pourcentage positif d'augmentation d'aire. Les histogrammes blancs correspondent à la proportion de cellules ne se détachant pas et dont l'augmentation d'aire correspond à l'élongation appliquée au niveau du substrat, d'après la référence 41

Les résultats montrent que la proportion de cellules présentant une augmentation maximale de leur aire (15 ± 5 %) sous un taux d'élongation de 15 % est augmentée lorsque les protéines promotrices d'adhésion cellulaire sont introduites sur le substrat de manière covalente. En d'autres termes, ces résultats montrent que le greffage covalent des protéines sur le substrat favorise le transfert de l'élongation macroscopique du substrat au niveau des cellules dont les dimensions sont de l'ordre de quelques micromètres.

2.3 L'élongation : un outil pour l'obtention de matériaux à propriétés variables

2.3.1 Concept des monocouches mécaniquement assemblées

Genzer et al⁴² ont montré qu'il est possible d'augmenter la densité surfacique de chaînes perfluoroalacane greffées sur une surface de PDMS en réalisant les étapes de modification du substrat sous élongation. La **Figure 2.3** décrit la méthode d'élaboration de telles surfaces.

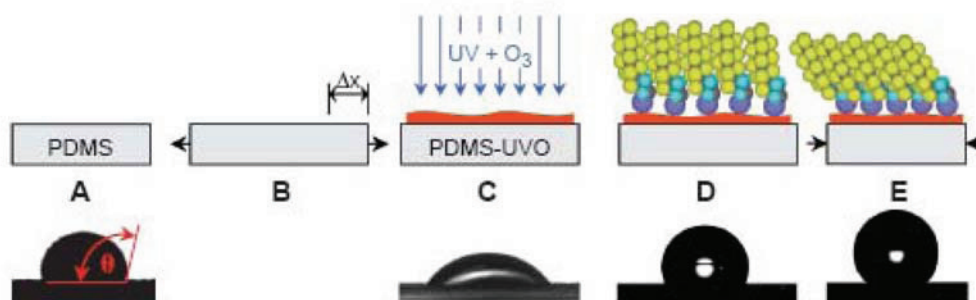


Figure 2.3 : Schéma illustrant les différentes étapes d'élaboration de monocouches mécaniquement assemblées. (A) Substrat de PDMS non étiré, (B) Elongation du substrat d'un allongement Δx , (C) Exposition de la surface étirée à un rayonnement UV-Ozone, formation de groupements hydroxyle (-OH), (D) Les alcanes perfluorés F_yH_x sont greffés en phase vapeur sur le substrat maintenu sous élongation, (E) La contrainte est relâchée, le substrat retourne à son état initial, la densité surfacique de d'alcane perfluorés est élevée, d'après la référence 42

Lorsque le substrat de PDMS est soumis à une élongation uni-axiale Δx , le nombre de points de greffage -OH introduits sur la surface lors du traitement UV/Ozone est augmenté par rapport à l'état non étiré, en raison de l'augmentation d'aire. Les chaînes hydrophobes d'alcane perfluorés $F(CF_2)_y(CH_2)_xSiCl_3$ présentant une terminaison trichlorosilane réactive réagissent de manière covalente avec les groupements hydroxyle de la surface. Il est donc possible de greffer davantage de chaînes lorsque le substrat est étiré. Lorsque le substrat est relâché à son état initial, la diminution de l'aire de l'élastomère conduit à une augmentation de la densité surfacique des chaînes. Ainsi, cette méthode de fonctionnalisation s'appuyant sur le caractère élastique du substrat conduit à une augmentation de la densité de greffage des molécules hydrophobes comparativement à une fonctionnalisation réalisée à l'état relâché. La mesure d'angle de contact de l'eau démontre ce phénomène puisque le caractère hydrophobe de la surface est plus prononcé lorsque le substrat est fonctionnalisé sous élongation.

Ces auteurs ont également montré que cette méthode permet d'obtenir des surfaces à gradients moléculaires.⁴³ En effet, l'élongation uniaxiale du substrat de PDMS conduit localement à une déformation hétérogène de la surface en raison du caractère

incompressible de l'élastomère. En fonction de la géométrie de l'éprouvette et de la direction d'élongation, les différentes zones de la surface subissent une déformation plus ou moins importante, sous forme d'élongation ou de contraction. Ainsi, les auteurs montrent qu'il est possible d'obtenir différents types de gradients moléculaires à partir d'éprouvettes de silicone présentant différentes géométries fonctionnalisées selon la méthode précédemment décrite. La **Figure 2.4** présente les principaux résultats de cette étude.

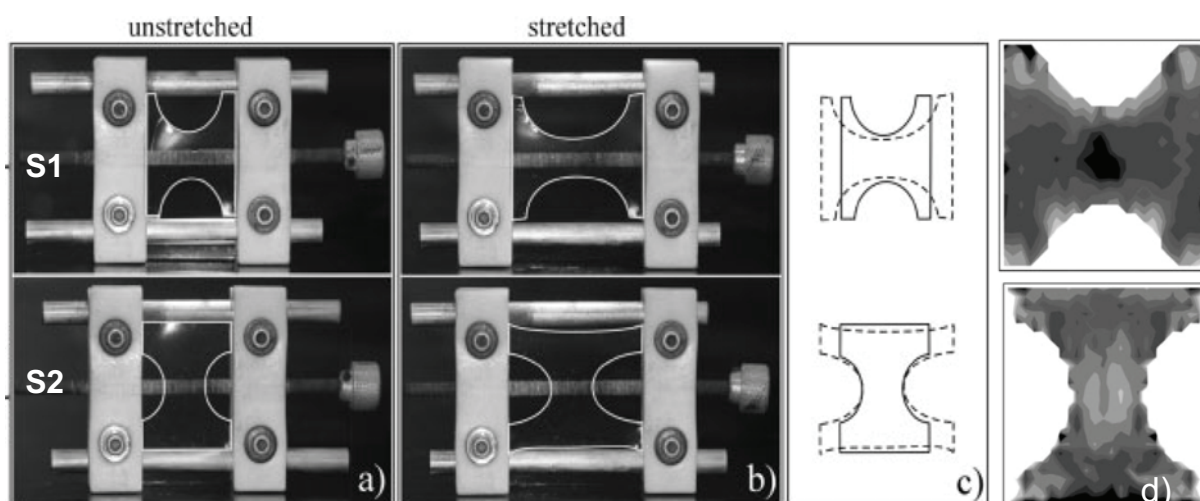


Figure 2.4 : (a), (b) Photographie d'éprouvettes de silicone présentant deux types de géométries (S1 et S2) avant et après élongation à un taux d'élongation uniaxial de 40%, (c) Contour des éprouvettes à l'état relaxé (trait plein) et étiré (trait pointillé), (d) Cartographie de l'intensité des signaux relatifs aux liaisons C-F après la fonctionnalisation sous étirement des deux types d'éprouvettes avec des alcanes perfluorés F_8H_2 . Les régions sombres correspondent aux régions de forte intensité en signal relatif aux liaisons C-F, d'après la référence 43

La spectroscopie d'adsorption de rayons X (NEXAFS Near Edge Adsorption Fine Structure) a été utilisée afin d'évaluer la densité surfacique d'alcanes perfluorés F_8H_2 par la mesure de l'intensité du signal relatif aux transitions électroniques des liaisons C-F. La **Figure 2.4(c)** présente les cartographies de l'intensité relative au signal des liaisons C-F sur deux types d'éprouvettes de PDMS fonctionnalisées sous élongation. Dans le cas de l'éprouvette S1, la concentration en fluor la plus importante est mesurée au centre de l'échantillon tandis que dans le cas de l'éprouvette S2 la concentration la plus importante est mesurée au niveau des bords de l'échantillon. Les résultats montrent que cette distribution de densité de greffage des molécules fluorées sur la surface correspond à la distribution de la déformation locale du substrat évaluée par simulation (résultats non montrés). Les zones présentant les déformations locales les plus élevées correspondent aux régions de forte concentration de fluor.

2.3.2 Utilisation du phénomène de « buckling »

La compression de structures composées de couches présentant différents modules élastiques permet de créer des structures sinusoïdales au niveau de la topographie de la surface.⁴⁴ Ce phénomène appelé « buckling » a été exploité récemment pour des applications dans les domaines de la métrologie de précision⁴⁵ et de l'électronique flexible.⁴⁶

Une procédure permettant d'obtenir des structures sinusoïdales consiste à traiter par plasma un substrat de PDMS maintenu sous élongation ou dilaté par chauffage.^{47,44} Les traitements énergétiques du PDMS conduisent généralement à son oxydation sous la forme d'une couche SiO_x et au durcissement de l'interface. Lorsque le substrat de PDMS est relaxé ou refroidi, la différence de module élastique entre la couche interfaciale modifiée et le volume non modifié est à l'origine de contraintes provoquant la formation de structures, généralement sinusoïdales. Une approche similaire conduisant à la formation de structures périodiques consiste à déposer un film métallique (par exemple) présentant un module élastique plus élevé sur un substrat de PDMS de module plus faible.^{48,49} Les travaux récents de Jiang et al⁵⁰ exploitent ce phénomène pour l'élaboration de super-capacités souples constituées de films de nanotubes de carbone déposés sur des substrats de PDMS. La **Figure 2.5** décrit les étapes d'élaboration des ces films.

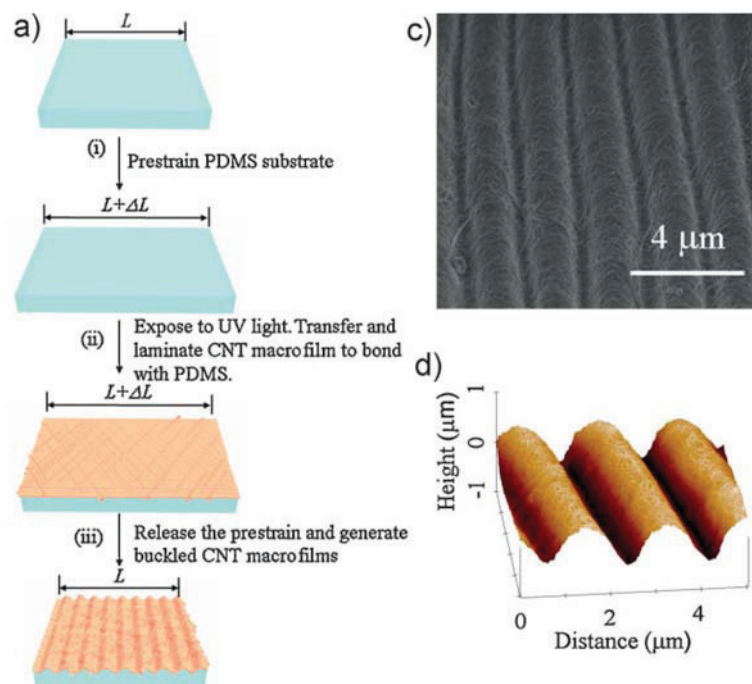


Figure 2.5 : (a) Etape d'élaboration d'un film de nanotubes de carbone présentant une topographie périodique sinusoïdale (« buckling ») incluant les étapes d'élongation du substrat de PDMS, de traitement de surface par UV et de transfert des nanotubes, (c) Image MEB (Microscopie Electronique à Balayage) d'un film de nanotubes de carbone déposé sur un substrat de PDMS précontraint. La structure présente une période de $2 \mu\text{m}$. (d) Image AFM de la structure périodique dont l'amplitude est de $0,4 \mu\text{m}$, d'après la référence 50

Dans ces travaux, des substrats de PDMS précontraints sont traités par UV puis un film de nanotubes de carbone monofeuillets préalablement laminé est transféré sur le substrat. La surface du PDMS traitée par UV et le film de nanotubes purifié présentent des groupements hydroxyle (-OH). Selon les auteurs, le transfert du film de nanotubes sur la surface de PDMS traité conduit à la formation de liaisons covalentes (-C-O-Si). La relaxation du substrat de PDMS précontraint conduit à la formation spontanée de structures sinusoïdales. Cette méthode de préparation permet de conserver les propriétés électrochimiques des films lorsque le substrat est soumis à un taux d'élongation de 30 %.

2.3.3 Utilisation de craquelures

L'élongation d'un substrat de PDMS traité par plasma conduit généralement à la formation de craquelures au sein de la couche inorganique et fragile de type SiO_x formée lors du traitement. Takayama et al⁵¹ décrivent l'élaboration de substrats de PDMS présentant des craquelures au sein desquelles des protéines favorisant l'adhésion de cellules sont sélectivement adsorbées. La **Figure 2.6** décrit le principe d'élaboration de cette surface.

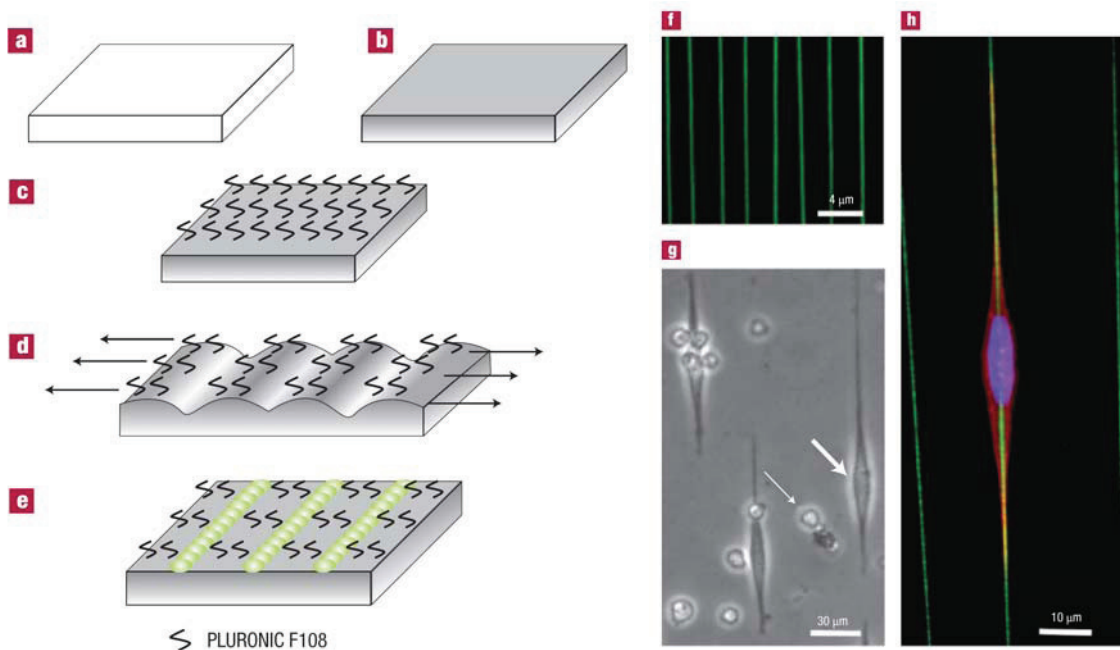


Figure 2.6 : Schéma illustrant le principe d'élaboration d'un substrat de PDMS structuré par la formation de craquelures. Le substrat de PDMS (a), est oxydé (b), recouvert de Pluronic F108 non-adsorbant pour les protéines (c), étiré afin de former des craquelures et de révéler des zones qui ne résistent pas à l'adsorption de protéines (d), sur lesquelles des protéines sont sélectivement déposées (e). (f) Craquelures parallèles mises en évidence par l'adsorption de protéines fluorescentes, (g) et (h) cellules (myoblastes) sélectivement attachées au niveau de craquelures recouvertes de collagène, d'après la référence 51

Le substrat de PDMS est traité par plasma oxygène, fonctionnalisé avec des silanes en phase vapeur, puis recouvert d'une couche de Pluronic F108, un copolymère à blocs oxyde d'éthylène / oxyde de propylène) non-adsorbant pour les protéines. Lorsque le substrat est étiré, des craquelures sont formées et révèlent des zones non résistantes à l'adsorption de protéines. La largeur des craquelures, de l'ordre de 100 nm à quelques μm , peut être modulée en ajustant le taux d'élongation appliqué au substrat. L'adsorption sélective de collagène induit l'adhésion cellulaire au niveau des craquelures (Figure 2.6 (g) et (h)). Ces travaux montrent également que la morphologie des cellules au sein des craquelures peut être réversiblement modifiée en fonction de cycles d'élongation/retrait du substrat, comme le montre la **Figure 2.7**.

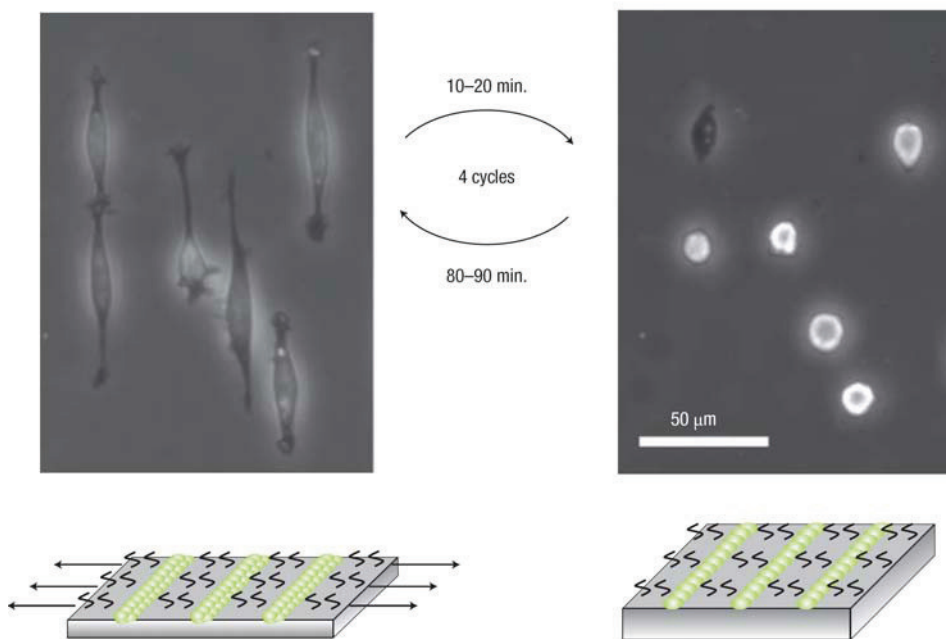


Figure 2.7 : Transition réversible d'une morphologie étalée à une morphologie rétractée des cellules au sein des craquelures en fonction du taux d'élongation du substrat de PDMS, d'après la référence 51

Lorsque le substrat est à l'état étiré, les craquelures sont ouvertes ce qui permet aux cellules de s'étaler tandis que la relaxation du substrat conduit à la fermeture des craquelures, les cellules adoptant alors une morphologie rétractée. Ce phénomène peut être répété réversiblement au cours de plusieurs cycles élongation/retrait. Ce matériau constitue ainsi un des rares exemples de surface adaptative sensible à un stimulus mécanique.

2.4 Matériaux adaptatifs répondant à un stimulus mécanique

2.4.1 La nature comme exemple

La transformation d'un stimulus mécanique sous la forme d'un signal biochimique est appelé « mécanotransduction ». Ce type de phénomène intervient par exemple au niveau des mécanismes régulant l'adhésion, la prolifération et la différenciation cellulaire.⁵²

Certaines protéines, telles que la fibronectine, sont capables de révéler des sites spécifiques actifs appelés sites « cryptiques » lorsqu'elles sont soumises à une contrainte mécanique.^{53, 54} Les mécanismes associés sont complexes et variés. Ils sont notamment liés à des changements de conformation des protéines sous l'action d'une contrainte mécanique, comme l'illustre la **Figure 2.8** qui présente un modèle décrivant les changements de conformation de la fibronectine au sein de fibrilles de la matrice extracellulaire. Notons que la contrainte mécanique trouve ici son origine au niveau des propriétés élastiques des cellules qui sont capables d'induire des forces de traction au niveau des protéines de la matrice extracellulaire.

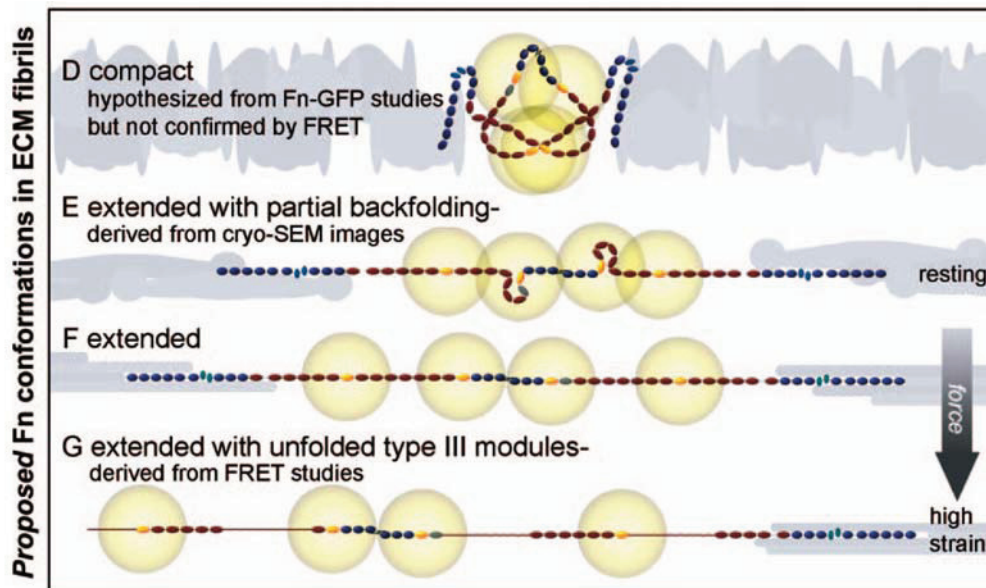


Figure 2.8 : Modèle proposant divers degrés de changements de conformation de la fibronectine au niveau de fibrilles de la matrice extracellulaire, sous l'action d'une contrainte mécanique, d'après la référence 53

Une manière d'étudier le comportement des protéines soumises à une contrainte mécanique consiste à fixer celle-ci sur une surface élastique. Par exemple, en fixant la fibronectine sur un substrat de PDMS, Zhong et al⁵⁵ ont montré que l'assemblage de la fibronectine sous la forme de fibrilles est promu par l'élongation du substrat. Une autre méthode consiste à appliquer une contrainte au niveau des protéines à l'aide d'un piège

magnétique (« magnetic tweezer »), technique permettant d'exercer une force entre une bille magnétique et des molécules attachées sur une surface solide. De récents travaux tirent profit de cette technique, couplée à un microscope à fluorescence, afin de montrer que l'étirement du talin, protéine du cytoplasme favorise l'attachement de la vaculine (protéine partenaire).⁵⁶ La **Figure 2.9** décrit le principe de cette mesure.

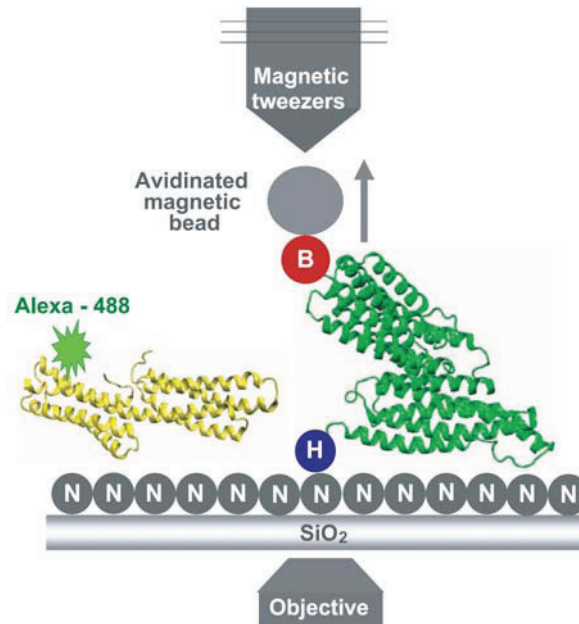


Figure 2.9 : Représentation du dispositif utilisé afin de mettre en évidence la fixation de la vaculine marquée avec un fluorophore (en jaune) lors de l'élongation de la taline (en vert), d'après la référence 56

2.4.2 Libération contrôlée de molécules sous contrainte mécanique

Le corps humain est sujet à divers types de contraintes mécaniques au niveau des muscles, des articulations, ou encore des artères, ce qui permet d'envisager des applications biomédicales où la libération de principes actifs est contrôlée sous l'action de stimuli biomécaniques.

Par exemple, les travaux d'Arm et al⁵⁷ traitent de l'effet de l'application d'une contrainte mécanique cyclique sur la libération contrôlée de protéines à partir d'un implant orthopédique en polymère biodégradable. Deux protéines modèles, l'albumine bovine et la « trypsine-inhibiteur » ont été enfouies dans des implants cylindriques à base de co-polyester d'acide lactique et glycolique (poly(lactic-co-glycolic) acid, PLGA). Les implants dégradables ont été soumis à des contraintes cycliques de type flexion trois points à hauteur de 720 cycles par jour pendant deux semaines. La quantité de protéines libérées en solution a été mesurée au cours du temps en fonction de l'amplitude de la déflexion appliquée au centre des implants, comme le montre la **Figure 2.10**.

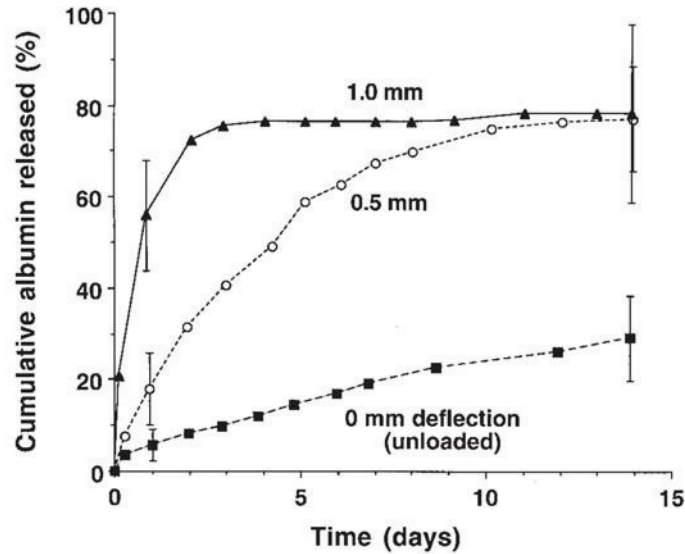


Figure 2.10 : Quantité d'albumine bovine libérée pour différentes amplitudes de déflexion appliquées au centre des implants soumis à des contraintes cycliques de flexion trois-points, d'après la référence 57

Les résultats montrent que la quantité de protéines libérées augmente significativement lorsque les implants sont soumis à une contrainte mécanique. De plus, la libération accélère lorsque l'amplitude de la contrainte est augmentée. Les auteurs montrent que la contrainte mécanique a pour effet d'induire la formation de micropores et de microfissures au niveau de la surface de l'implant. Les pores apparaissent dans les zones soumises aux contraintes les plus faibles tandis que ces pores sont étirés sous la forme de fissures au niveau des zones de forte contrainte. Les auteurs suggèrent que la quantité de protéines libérées augmente avec l'aire des fissures.

2.4.3 Films multicouches répondant à un stimulus mécanique

Les premiers travaux de nos équipes ont consisté en l'élaboration de surfaces dont les propriétés de mouillage changent de manière réversible en fonction de l'élongation du substrat.⁵⁸ Le nafion, un polyelectrolyte hydrophobe, a été utilisé afin de construire des assemblages de films multicouches constitués de strates hydrophobes poly(allylamine)/nafion (PAH/Naf) et de strates hydrophiles pol(allylamine)/poly(acrylic acid) (PAH/PAA) alternées, déposées sur un substrat de PDMS traité par polymérisation plasma. Deux types de films multicouches ont été préparés. Un film hydrophile terminé par une couche (PAH/PAA) et un film hydrophobe terminé par une couche (PAH/Naf). L'angle de contact de l'eau sur ces films a été mesuré au cours de plusieurs cycles d'élongation/retrait successifs, pour un taux d'élongation de 2,2. La **Figure 2.11** représente la structure de ces films et l'évolution de l'angle de contact de l'eau mesuré sur ces films au cours de cycles d'élongation/retrait.

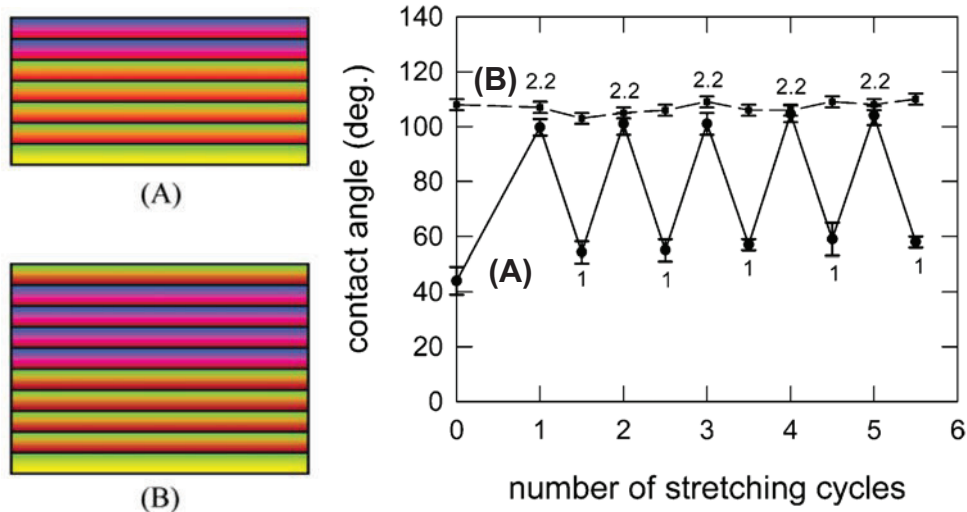


Figure 2.11 : A gauche, représentation schématique des films multicouche, chaque bande représente une bicouche. Les bandes jaunes et vertes correspondent à (PEI/Naf), les bandes rouges et vertes à (PAH/Naf) et les bandes rouge et bleues à (PAH/PAA). Le film (A) est terminé par une couche (PAH/PAA), le film (B) est terminé par une couche (PAH/Naf). A droite, courbe présentant l'évolution de l'angle de contact de l'eau au cours des cycles élongation/retrait pour les films de type (A) (ligne continue) et de type (B) (ligne brisée), d'après la référence 58

Les résultats montrent que l'angle de contact sur le film multicouche terminé par une couche hydrophile (film de type (A)) présente des valeurs alternant réversiblement entre 57° et 100° lorsque l'on passe d'un état non étiré à un état étiré (taux d'étirement de 2,2). En parallèle, le film terminé par une couche hydrophobe (film de type (B)) ne présente que des changements mineurs d'angle de contact sous élongation. Il a été suggéré que l'élongation favorise la restructuration du film de manière à exposer les groupements fluorés hydrophobes de la couche de nafion au niveau de l'interface film/air, afin de minimiser l'énergie de surface. Mais la formation de craquelures au niveau du film polymère plasma sous élongation, se propageant au niveau du film multicouche et exposant le substrat de PDMS hydrophobe, pourrait également expliquer ce phénomène.

Des films polymères sensibles à l'élongation constitués de multicouches de polyélectrolytes directement déposés sur des substrats de PDMS ont été mis au point dans le cadre de la thèse de Damien Mertz sous la direction de Philippe Laval et de Jean-Claude Voegel.⁵⁹

Dans ces travaux, des systèmes multicouches de polyélectrolytes ont été assemblés en alternant films à croissances exponentielle et linéaire de manière à former deux compartiments séparés par une barrière. Le système multicouche présente une épaisseur de plusieurs μm . Il a été montré que l'élongation du substrat de PDMS conduit à la formation de

pores au sein de la couche barrière, ce qui induit la diffusion de chaînes de polyélectrolytes d'un compartiment à l'autre.⁶⁰ La **Figure 2.12** présente les images de microscopie confocale des films sous élancement, en fonction du temps.

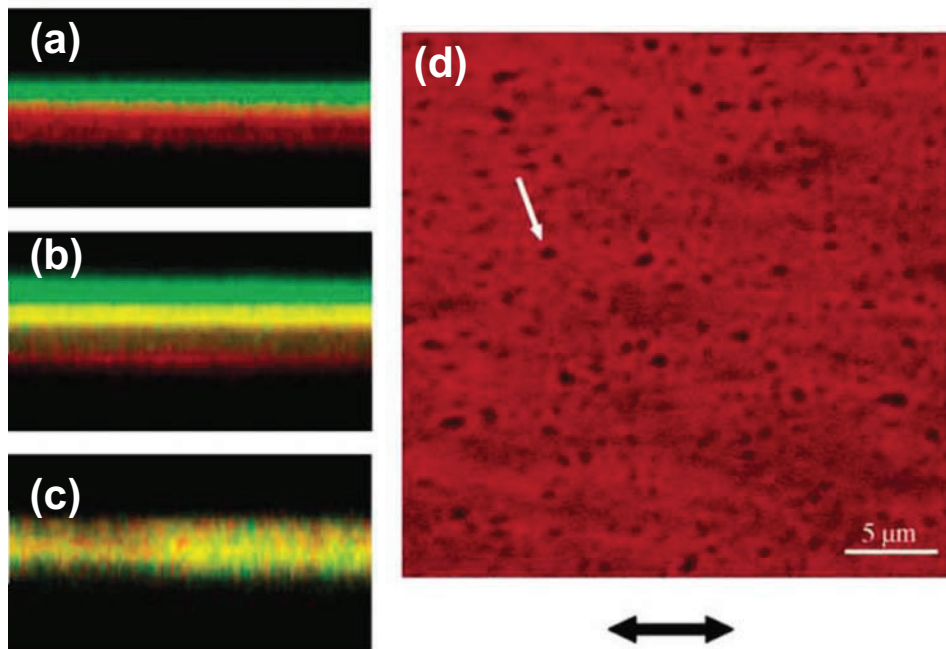


Figure 2.12 : Images de microscopie confocale d'un système bi-réservoirs (deux réservoirs séparés par une barrière), sous un taux d'élancement de 90%. A gauche : sections (x,z) représentant la diffusion des chaînes de PLL_{FITC} et de PLL_{Rho} à travers la barrière (a) à $t = 0$, (b) à $t = 4h$ (c) à $t = 8h$. A droite : (d) image (x,y) à l'interface entre les deux réservoirs représentant les nanopores formés dans la barrière, d'après la référence 60

Les résultats montrent que la diffusion de chaînes PLL_{FITC} (vert) et PLL_{Rho} à travers la barrière est favorisée sous élancement en raison de la formation de nanopores au sein de la barrière.

Récemment, des architectures similaires ont été développées afin d'activer une réaction de biocatalyse enzymatique sous élancement.⁶¹ Des films multicouches (PLL/HA)_n (poly-(L-lysine)/hyaluronic acid) à croissance exponentielle ont été utilisés comme réservoir et recouverts d'un film (PDADMA/PSS)_m (poly(diallyldiméthylammonium)/poly(sodium4-styrènesulfonate)) à croissance linéaire utilisé comme barrière. Une enzyme, l'alkaline phosphatase (ALP), a été introduite au sein du réservoir. Cette enzyme est responsable de la déphosphorylation de la fluorescéine diphosphate (FDP). L'hydrolyse de la FDP (non fluorescente) catalysée par l'ALP conduit à la production de fluorescéine (fluorescente). La **Figure 2.13** décrit ce système biocatalytique sensible à l'élancement.

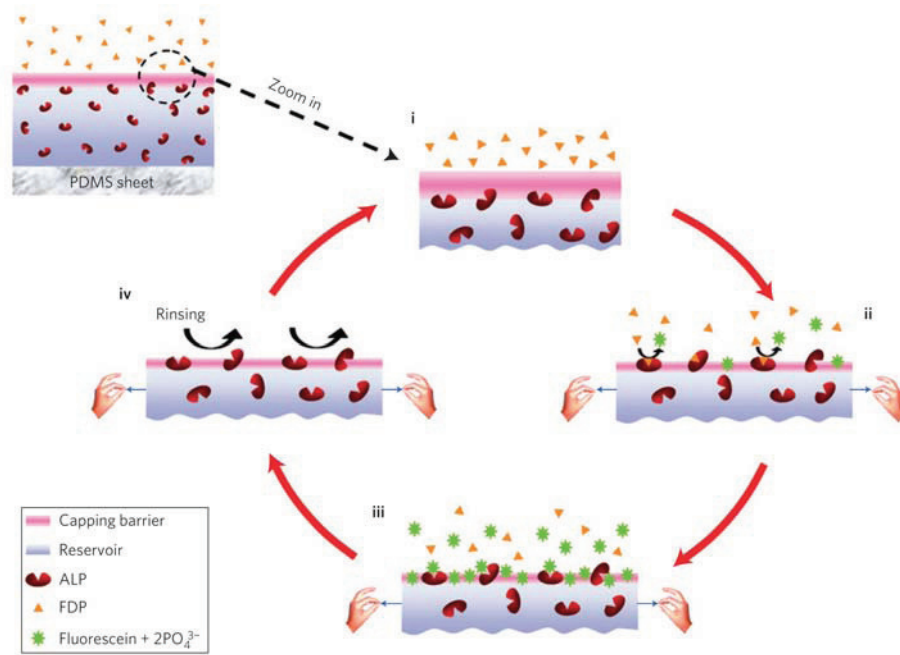


Figure 2.13 : Schéma présentant le système biocatalytique sensible à l'élongation. Le film est constitué d'un réservoir contenant des enzymes ALP et recouvert d'une barrière. (i) A l'état relaxé, la catalyse est inactivée. (ii) Pour un taux d'élongation critique, les enzymes sont accessibles, la réaction de biocatalyse est activée, production de fluorescéine. (iii) Inhibition des enzymes pour des concentrations importantes de fluorescéine et d'ions phosphate. (iv) Une étape de rinçage avec un tampon permet de réactiver les enzymes. Lorsque le système est relaxé, les enzymes sont à nouveau masquées et la catalyse est désactivée, d'après la référence 61

La réaction de biocatalyse est activée sous élongation, comme le montre la **Figure 2.14**.

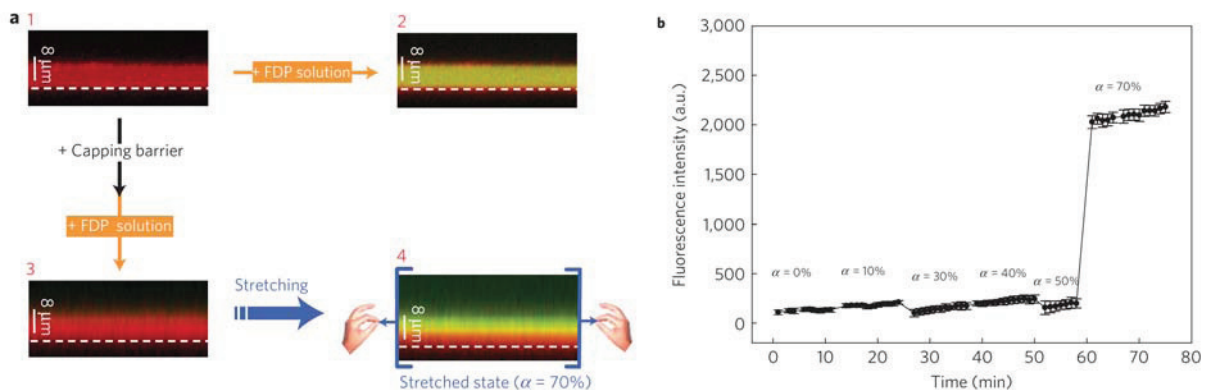


Figure 2.14 : (a) Section d'images de microscopie confocale de substrats de PDMS recouverts de multicouches de polyélectrolytes contenant des enzymes. Image 1 et 2 : réservoir enzymatique mis en contact avec la solution de FDP. Image 3 et 4 : réservoir recouvert d'une barrière à l'état relaxé puis étiré à 70%. (b) Evolution temporelle de l'intensité de fluorescence pour des taux d'élongation croissants du substrat de 0% à 70%, d'après la référence 58

Contrairement au système précédemment mentionné, la couche barrière ne présente pas de pores ou de fissures lorsque le substrat est étiré. Dans ce système, les auteurs suggèrent que la réaction de biocatalyse activée sous élongation est liée à la diminution d'épaisseur de la barrière (conservation de la matière), ce qui permet de rendre les enzymes accessibles.

2.4.4 Définition et originalité des surfaces adaptatives proposées

Il existe très peu d'exemples de surfaces adaptatives dont les propriétés physico-chimiques sont contrôlées en fonction de stimuli mécaniques. Les films multicouches déposés sur un substrat de PDMS constituent, à notre connaissance, les seuls exemples de matériaux présentant de telles propriétés. Comme nous l'avons décrit précédemment, ces films sont obtenus par assemblage non covalent de polyélectrolytes formant des films de plusieurs μm d'épaisseur utilisés comme réservoir ou comme barrière. A partir de ce type de système, deux types de matériaux adaptatifs ont été réalisés :

- Dans un système constitué de deux réservoirs séparés par une barrière fragile, l'élongation du substrat de PDMS provoque la rupture de la barrière (formation de nanopores) et la diffusion de molécules d'un compartiment à l'autre.
- Dans un système constitué d'un réservoir séparé du milieu environnant par une barrière élastique, l'élongation du substrat de PDMS est à l'origine d'un amincissement de la barrière favorisant l'accessibilité d'enzymes présentes dans le réservoir.

Ces deux types de matériaux adaptatifs sont contrôlés par des mécanismes intervenant au niveau du volume du film. Dans le premier exemple, la formation de nanopores intervient au niveau de la couche barrière séparant deux réservoirs, tandis que dans le second exemple, c'est une modification d'épaisseur induite par l'élongation qui est à l'origine de l'accessibilité des molécules du réservoir. Ces mécanismes sont liés à l'épaisseur micrométrique des films de polyélectrolyte et au caractère non covalent de leur assemblage.

La stratégie développée dans ce travail de thèse est différente puisque celle-ci s'appuie sur une fonctionnalisation superficielle du substrat de PDMS à partir de molécules ou de macromolécules greffées de manière covalente sur la surface. L'idée est de transmettre l'élongation du substrat de PDMS au niveau de ces molécules pour promouvoir leur séparation à l'échelle locale. On peut alors imaginer que des sites cryptiques inaccessibles car masqués par les molécules encombrantes peuvent être rendus accessibles sous élongation. Un tel système serait alors gouverné par des mécanismes surfaciques liés à des changements d'encombrement stérique de sites récepteurs, par « dilution » des molécules encombrantes environnantes. La **Figure 2.15** présente le concept d'une telle surface adaptative, appliqué à l'adsorption contrôlée de protéines sous élongation.

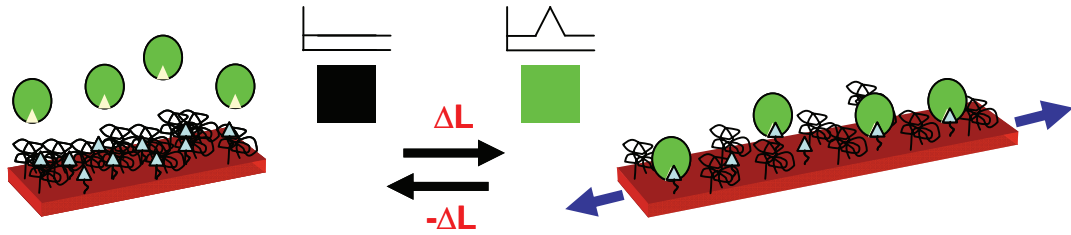


Figure 2.15 : Concept de surface adaptative dont les propriétés d'adsorption de protéines sont modulées par un stimulus mécanique

En premier lieu, l'élaboration d'un matériau satisfaisant à ce concept requiert la fonctionnalisation covalente d'un support élastique. La stratégie développée consiste à traiter un substrat élastomère de PDMS par polymérisation plasma de l'anhydride maléique.

Un premier enjeu de ce projet consiste à mettre au point des conditions de traitement garantissant l'introduction de groupements réactifs sur la surface inerte du PDMS tout en conservant les propriétés élastiques du substrat à l'échelle locale (chapitres 2 et 3).

En second lieu, le substrat élastique et réactif obtenu doit servir de support pour le greffage covalent de macromolécules et de récepteurs spécifiques dont les densités de surface sont modulables en fonction de l'élongation. L'objectif étant de démasquer les récepteurs spécifiques sous élongation, afin d'obtenir un système de reconnaissance moléculaire sensible à un stimulus mécanique (chapitre 4).

3 Références

-
- ¹ T.P. Russel, *Surface-Responsive Materials*, Science **2002**, 297, 964-967.
- ² E. S. Gil, S. H. Hudson, *Stimuli-Responsive Polymers and Their Bioconjugates*, Prog. Polym. Sci. **2004**, 29, 1173-1222.
- ³ I. Luzinov, S. Minko, V. V. Tsukruk, *Adaptative and Responsive Surfaces through Controlled Reorganization of Interfacial Polymer Layers*, Prog. Polym. Sci. **2004**, 29, 635-698.
- ⁴ A.K. Bajpai, S.K. Shukla, S. Bhana, S. Kankane, *Responsive Polymers in Controlled Drug Delivery*, Prog. Pol. Sci. **2008**, 33, 1088-1118.
- ⁵ B. Adhikani, S. Majumdar, *Polymers in Sensor Applications*, Prog. Polym. Sci. **2004**, 29, 699-766.
- ⁶ A. Kikuchi, T. Okano, *Intelligent Thermoresponsive Polymeric Stationary Phases for Aqueous Chromatography of Biological Compounds*, Prog. Polym. Sci. **2002**, 27, 1165-1193.
- ⁷ M. Yamamoto, C. Kormo, A. Kushida, M. Hirose, M. Utsumi, A. Kikuchi, T. Okano, *Release of Adsorbed Fibronectin from Temperature-Responsive Culture Surfaces Requires Cellular Activity*, Biomaterials **2000**, 21, 981-986.
- ⁸ A. Chilkoti, M.R. Drecher, D.T. Meyer, D. Raucher, *Targeted Drug Delivery by Thermally Responsive Polymers*, Adv. Drug Deliv. Rev. **2002**, 54, 613-630.
- ⁹ H.G. Schild, *Poly(N-isopropylacrylamide): Experiment, Theory and Application*, Prog. Polym. Sci. **1992**, 17, 163-249.
- ¹⁰ N. Nath, A Chilkoti, *Creating « Smart » Surfaces Using Stimuli Responsive Polymers*, Adv. Mater **2002**, 14, 1245-1243.
- ¹¹ A. Kikuchi, T. Okano, *Regulation of Protein Binding toward a Ligand on Chromatographic Matrixes by Masking and Forced-Releasing Effects Using Thermoresponsive Polymer*, Anal. Chem. **2002**, 74, 4160-4166.
- ¹² X. Cheng, H. E. Canavan, M. J. Stein, J. R. Hull, S. J. Keskin, M. S. Wagner, G. A. Somorjai, D. G. Castner, B.D. Ratner, *Surface Chemical and Mechanical Properties of Plasma-Polymerized N-Isopropylacrylamide*, Langmuir **2005**, 21, 7833-7841.
- ¹³ G.D. Smith, D. Bedrov, *Roles of Enthalpy, Entropy, and Hydrogen Bonding in the Lower Critical Solution Temperature Behavior of Poly(ethylene oxide)/Water Solutions*, J. Phys. Chem. B **2003**, 107, 3095-3097.
- ¹⁴ H. M. Zareie, C. Boyer, V. Bilmus, E. Nathegi, T. P. Davis, *Temperature-Responsive Monolayers of Oligo(ethylene glycol): Control of Biomolecular Recognition*, ACS Nano **2008**, 2, 757-765.

- ¹⁵ S. Balamurugan, L.K. Ista, J. Jan, G.P. Lopez, Jörg Fick, M. Himmelhaus, M. Grünze, *Reversible Adsorption and Bioadhesion on Monolayers Terminated with Mixtures of Oligo(ethylene glycol) and Methyl Groups*, J. Am. Chem. Soc. **2005**, 127, 14548-14549.
- ¹⁶ S.R. Tonge, B.T. Tighe, *Responsive Hydrophobically Associating Polymers: A Review of Structure and Properties*, Adv. Drug Deliv. Rev. **2001**, 53, 109-122.
- ¹⁷ O.E. Philippova, D. Hourdet, R. Audebert, A.R. Khokhlov, *pH-Responsive Gels of Hydrophobically Modified Poly(acrylic acid)*, Macromolecules **1997**, 30, 8278-8285.
- ¹⁸ V.T. Pinkrah, M.J. Snowden, J.C. Mitchell, J. Seidel, B.Z. Chowdry, G.R. Fern, *Physicochemical Properties of Poly(N-isopropylacrylamide-co-4-vinylpyridine) Cationic Polyelectrolyte Colloidal Microgels*, Langmuir **2003**, 19, 585-590.
- ¹⁹ Y.S. Park, Y. Ito, Y. Imarrishi, *pH-Controlled Gating of a Porous Glass Filter by Surface Grafting of Polyelectrolyte Brushes*, Chem. Mater. **1997**, 9, 2755-2758.
- ²⁰ Y. Ito, Y.S. Park, Y. Imanishi, *Nanometer-Sized Channel Gating by a Self-Assembled Polypeptide Brush*, Langmuir **2000**, 16, 5376-5381.
- ²¹ M. Iri, *Photoresponsive Polymers*, Adv. Polym. Sci. **1990**, 94, 27-67.
- ²² T. Seki, M. Skuragi, Y. Kawaniski, Y. Suzuki, T. Tamaki, T. Fukuda, K. Ishimura, *Command Surfaces of Langmuir-Blodgett Films, Photoregulation of Liquid-Crystal Alignment by Molecularly Tailored Surface Azobenzene Layers*, Langmuir **1993**, 9, 211-218.
- ²³ Z. Sekkat, J. Wood, Y. Geerts, W. Knoll, *A Smart Ultrathin Photochromic Layer*, Langmuir **1995**, 11, 2856-2859.
- ²⁴ T. Seki, H. Sekizawa, S.Y. Morino, K. Ichimura, *Inherent and Cooperative Photomechanical Motions in Monolayers of an Azobenzene Containing Polymer at the Air-Water Interface*, J. Phys. Chem. B, **1998**, 102, 5313-5321.
- ²⁵ K. Ichimura, S.K. Oh, M.N. Akagawa, *Light-Driven Motion of Liquids on a Photoresponsive Surface*, Science **2000**, 288, 1624-1626.
- ²⁶ C. Schäfer, R. Eckel, R. Ros, J. Mattay, D. Anselmetti, *Photochemical Single-Molecule Affinity Switch*, J. Am. Chem. Soc. **2007**, 129, 1488-1480.
- ²⁷ G. Schorsch, *Les Silicones, Production et Applications*, **1988**, Rhône-Poulenc département silicone / Techno-Nathan.
- ²⁸ J. Cooper McDonald, D. C. Duffy, J. R. Anderson, D.T. Chiu, H. Wu, O.J.A. Schueller, G.M. Whitesides, *Fabrication of Microfluidic Systems in Poly(dimethylsiloxane)*, Electrophoresis **2000**, 21, 27-40.
- ²⁹ H. Becker, L.E. Locascio, *Polymer Microfluidic Devices*, Talanta **2002**, 56, 267-287.
- ³⁰ H. Makamba, J. Kim, K. Lim, N. Park, J.H. Hahn, *Surface Modification of Poly(dimethylsiloxane) Microchannels*, Electrophoresis **2003**, 24, 3607-3619.

- ³¹ J. Lahann, M. Balcels, H. Lu, T. Rodon, K.F. Jensen, R. Langer, *Reactive Polymer Coatings: A First Step Toward Surface Engineering of Microfluidic Devices*, *Anal. Chem.* **2003**, *75*, 2117-2122.
- ³² J.E. Puskas, Y. Chen, *Biomedical Application of Commercial Polymers and Novel Polyisobutylene-Based Thermoplastic Elastomers for Soft Tissue Replacement*, *Biomacromolecules* **2004**, *5*, 1141-1154.
- ³³ D.G. Castner, B.D. Ratner, *Biomedical Surface Science: Foundation to Frontiers*, *Surface Science* **2002**, *500*, 28-60.
- ³⁴ V. Bartzoka, M.R. McDermott, M.A. Brook, *Protein-silicone Interactions*, *Adv. Mater.* **1999**, *11*, 257
- ³⁵ H. Chen, M.A. Brook, H. Sheardown, *Silicone Elastomers for Reduced Protein Adsorption*, *Biomaterials* **2004**, *25*, 2273-2282.
- ³⁶ F. Abbasi, H. Mirzadeh, A.A. Katbab, *Modification of Polysiloxane Polymers for Biomedical Applications: A Review*, *Polym. Int.* **2001**, *50*, 1279-1287.
- ³⁷ T. Desmet, R. Morent, N.D. Geyter, C. Leys, E. Schacht, P. Dubruel, *Nonthermal Plasma Technology as a Versatile Strategy for Polymeric Biomaterials Surface Modification: A Review*. *Biomacromolecules* **2009**, *10*, 2351-2378.
- ³⁸ T. D. Brown, *Techniques for Mechanical Stimulation of Cells in Vitro: A Review*, *J. of Biomechanics* **2000**, *33*, 3-14.
- ³⁹ M.A. Adams, *The Mechanical Environment of Chondrocytes in Articular Cartilage*, *Biorheology* **2006**, *43*, 537-545.
- ⁴⁰ A.T. Halka, N.J. Turner, A. Carter, J. Ghosh, M.O. Murphy, J.P. Kirton, *The Effects of Stretch on Vascular Smooth Muscle Cell Phenotype in Vitro*, *Cardiovasc. Pathol.* **2008**, *17*, 98-102.
- ⁴¹ P.J. Wipff, H. Majd, C. Acharya, L. Buscemi, J.J. Meister, B. Hinz, *The Covalent Attachment of Adhesion Molecules to Silicone Membranes for Cell Stretching Applications*, *Biomaterials* **2008**, *30*, 1781-1789.
- ⁴² J. Genzer, K. Efimenko, *Creating Long-Lived Superhydrophobic Polymer Surfaces through Mechanically Assembled Monolayers*, *Science* **2000**, *290*, 2130-2133.
- ⁴³ J. Genzer, D.A. Fischer, K. Efimenko, *Fabricating Two-Dimensional Molecular Gradients Via Asymmetric Deformation of Uniformly-Coated Elastomer Sheets*, *Adv. Mater.* **2003**, *15*, 1545
- ⁴⁴ N. Bowden, W.T.S. Huck, K. E. Paul, G.M. Whitesides, *The Controlled Formation of Ordered, Sinusoidal Structures by Plasma Oxidation of an Elastomeric Polymer*, *Appl. Phys. Lett.* **1999**, *75*, 2557-2559.
- ⁴⁵ D.Y. Khang, J. Xiao, C. Kocabas, Scott MacLaren, T. Banks, H. Jiang, Y.Y. Huang, J.A. Rogers, *Molecular Scale Buckling Mechanics in Individual Aligned Single-Wall Carbon Nanotubes on Elastomeric Substrates*, *Nano Letters* **2008**, *8*, 124-130.

- ⁴⁶ X. Lu, Y. Xia, *Buckling Down for Flexible Electronics*, Nature Nanotechnology **2006**, 1, 162-163.
- ⁴⁷ P.C Lin, S. Yang, *Spontaneous formation of one-dimensional ripples in transit to highly ordered two-dimensional herringbone structures through sequential and unequal biaxial mechanical stretching*, Appl. Phys. Lett. **2007**, 90, 241903 1-3.
- ⁴⁸ D.Y. Khang, H. Jiang, Y. Huang, J.A. Rogers, *A Stretchable Form of Single-Crystal Silicon for High Performance Electronics on Rubber Substrates*, Science **2006**, 311, 208-212.
- ⁴⁹ N. Bowden, S. Brittain, A.G. Evans, J.W. Hutchinson, G.M. Whitesides, *Spontaneous Formation of Ordered Structures in Thin Films of Metals Supported on an Elastomeric Polymer*, Nature **1998**, 393, 146-149.
- ⁵⁰ C. Yu, C. Masarapu, J. Rong, B. Wei, H. Jiang, *Stretchable Supercapacitors Based on Buckled Single-Walled Carbon-Nanotube Macrofilms*, Adv. Mater. **2009**, 21, 1-5.
- ⁵¹ X. Zhu, K.L. Mills, P. P. Peters, J. H. Bahng, E. H. Liu, J. Shim, K. Naruse, M. E. Csete, M.D. Thouless, S. Takayama, *Fabrication of Reconfigurable Protein Matrices by Cracking*, Nature Materials **2005**, 4, 403-406.
- ⁵² V. Vogel V, M.P. Sheetz, *Local Force and Geometry Sensing Regulate Cell Functions* Nat. Rev. Mol. Cell Biol. **2006**, 7, 1-11.
- ⁵³ M. L. Smith, D. Gourdon, W. C. Little, K. E. Kubow, R. A. Eguiluz, S. Luna-Morris, V. Vogel, *Force-Induced Unfolding of Fibronectin in the Extracellular Matrix of Living Cells*, PLoS Biol **2007**, 5, 2543-2554.
- ⁵⁴ V. Vogel, *Mechanotransduction Involving Multimodular Proteins: Converting Force into Biochemical Signal*, Annu. Rev. Biophys. Biomol. Struct. **2006**, 35, 459-488.
- ⁵⁵ C. Zhong, M. Chrzanowska-Wodnicka, J. Brown, A. Shaub, A. M. Melkin, K. Burridge, *Rho-Mediated Contractility Exposes a Cryptic Site in Fibronectin and Induces Fibronectin Matrix Assembly*, J. Cell Biol. **1998**, 141, 539-551.
- ⁵⁶ A. del Rio., R. Perez-Jimenez, R. Liu, P. Roca-Cusachs, J.M. Fernandez, M. P. Sheetz, *Stretching Single Talin Rod Molecules Activates Vinculin Binding*. Science **2009**, 323, 638-641.
- ⁵⁷ D.M. Arm, A.F. Tencer, *Effects of Cyclical Mechanical Stress on the Controlled Release of Proteins from a Biodegradable Polymer Implant*, J. Biom. Mater. Res. **1997**, 35, 433-441.
- ⁵⁸ J. Hemmerlé, V. Roucoules, G. Fleith, M. Nardin, V. Ball, P. Lavalley, P. Marie, J.C. Voegel, P. Schaaf, *Mechanically Responsive Films of Variable Hydrophobicity Made of Polyelectrolyte Multilayers*, Langmuir **2005**, 21, 10328-10331.
- ⁵⁹ D. Mertz, *Films multicouches de polyélectrolytes répondant aux stimuli mécaniques : applications à la libération de molécules et à la biocatalyse contrôlées*, Thèse de l'université Louis Pasteur de Strasbourg, 2008.
- ⁶⁰ D. Mertz, J. Hemmerlé, J. Mutterer, S. Ollivier, J.C. Voegel, P. Schaaf, P. Lavalley, *Mechanically Responding Nanovalves Based on Polyelectrolyte Multilayers*, Nano Lett. **2007**, 7, 657-662.

⁶¹ D. Mertz, C. Vogt, J. Hemmerlé, J. Mutterer, V. Ball, J.C. Voegel, P. Schaaf, P. Lavalle, *Mechanotransductive Surfaces for Reversible Biocatalysis Activation*, *Nature Materials* **2009**, *8*, 731-735.

CHAPITRE 2

ELABORATION D'UNE SURFACE ELASTIQUE ET REACTIVE

| | | |
|----------|---|-----------|
| 1 | INTRODUCTION | 41 |
| 2 | MATERIEL ET METHODES | 42 |
| 2.1 | Substrat de PDMS | 42 |
| 2.2 | Polymérisation Plasma de l'anhydride maléique | 43 |
| 2.2.1 | <i>Principe</i> | 43 |
| 2.2.2 | <i>Montage</i> | 44 |
| 2.2.3 | <i>Dépôt</i> | 45 |
| 2.3 | Analyses de surface | 45 |
| 2.3.1 | <i>Mouillabilité</i> | 45 |
| 2.3.2 | <i>XPS</i> | 47 |
| 2.3.3 | <i>FTIR-ATR</i> | 47 |
| 2.3.4 | <i>MEB</i> | 49 |
| 2.3.5 | <i>Imagerie AFM</i> | 50 |
| 3 | MODIFICATIONS CHIMIQUES DU SUBSTRAT AU COURS DU TRAITEMENT | 52 |
| 3.1 | Mouillabilité | 52 |
| 3.1.1 | <i>Evolution de l'angle de contact de l'eau</i> | 52 |
| 3.1.2 | <i>Evolution de l'angle de contact du diiodométhane</i> | 53 |
| 3.1.3 | <i>Evolution du travail d'adhésion solide-eau</i> | 54 |
| 3.2 | Analyse XPS | 55 |
| 3.2.1 | <i>Composition atomique de la surface</i> | 56 |
| 3.2.2 | <i>Nature des groupements de surface</i> | 56 |
| 3.3 | Analyse FTIR-ATR | 59 |
| 3.4 | Hystérèse de mouillage | 60 |
| 3.5 | Mécanisme et cinétique de croissance du film | 61 |
| 4 | COHESION DES FILMS SOUS ETIREMENT | 63 |
| 4.1 | PDMS traité 30 min | 63 |
| 4.1.1 | <i>Analyses MEB</i> | 63 |
| 4.1.2 | <i>Analyse AFM</i> | 65 |
| 4.2 | Influence du temps de traitement | 67 |
| 4.3 | Choix du temps de traitement | 69 |
| 5 | SUBSTRAT DE PDMS TRAITE 6 MIN | 70 |

| | | |
|----------|---|-----------|
| 5.1 | Hydrolyse..... | 70 |
| 5.1.1 | Généralités | 70 |
| 5.1.2 | Analyse FTIR-ATR..... | 73 |
| 5.1.3 | Analyse XPS..... | 74 |
| 5.1.4 | Mouillabilité..... | 76 |
| 5.1.5 | Stabilité des films..... | 77 |
| 5.2 | Morphologie..... | 79 |
| 5.2.1 | Substrats relaxés..... | 79 |
| 5.2.1.1 | PDMS non traité | 79 |
| 5.2.1.2 | PDMS traité 6 min, hydrolysé..... | 81 |
| 5.2.1.3 | Imagerie en mode contact, en milieu liquide | 84 |
| 5.2.2 | Substrats étirés..... | 86 |
| 5.2.2.1 | PDMS non traité | 86 |
| 5.2.2.2 | PDMS traité 6 min, hydrolysé..... | 87 |
| 5.2.3 | Bilan..... | 89 |
| 6 | CONCLUSION | 90 |
| 7 | REFERENCES..... | 92 |

1 Introduction

La première étape du procédé d'élaboration de la surface répondant à un stimulus mécanique consiste à rendre la surface de PDMS réactive tout en conservant ses propriétés élastiques. Pour cela, la polymérisation plasma constitue une méthode de traitement de surface intéressante, permettant de déposer une couche organique réticulée, d'épaisseur et de composition chimique contrôlées, par voie sèche et sur tout type de matériaux.¹ Dans ce contexte, l'anhydride maléique est un monomère particulièrement intéressant de par sa grande réactivité chimique, notamment avec les amines.^{2,3} Les conditions optimales de dépôt conduisant à un maximum de rétention de groupements anhydride au sein de la couche ont été déterminées dans le cadre de la thèse de F. Siffer.⁴ Ces conditions ont été reprises dans des travaux consistant à greffer des multicouches de polyélectrolytes (polymères chargés hydrosolubles) sur des substrats de PDMS préalablement modifiés par polymérisation plasma de l'anhydride maléique.⁵ Le film polymère favorise alors l'adhésion de la première couche de polyélectrolyte chargée positivement. Si ces conditions de dépôt sont satisfaisantes du point de vue de la modification chimique du substrat, elles conduisent cependant à la fragilisation de l'interface et à la formation de craquelures lors de l'élongation du PDMS.

L'origine de ces craquelures a été attribuée à l'oxydation du substrat de silicone sous la forme d'une interphase inorganique fragile de type SiO_x .⁶ Ces effets sont généralement observés lors du traitement énergétique de silicones, notamment par plasma oxygène.⁷

Dans le but de créer une interface étirable et chimiquement réactive, il est donc indispensable d'éviter la formation de craquelures empêchant toute dilution homogène des fonctionnalités de surface à l'échelle moléculaire. En effet, l'énergie élastique fournie lors de l'élongation du substrat est alors absorbée par les craquelures, qui s'élargissent tandis que les zones adjacentes ne sont quasiment pas étirées.

Parce que la réactivité chimique et le taux de rétention élevé des groupements anhydride au sein de la couche déposée ont un rôle important pour la conception des surfaces répondant à un stimulus mécanique, nous avons opté pour une stratégie consistant à diminuer le temps de traitement dans les conditions optimales de puissance et de cycle de marche du réacteur, utilisées par F. Siffer. Nous avons émis l'hypothèse que la fragilisation du silicone conduisant à la formation de craquelures est liée au temps de traitement, à toutes autres conditions égales par ailleurs. Pour vérifier nos dires, nous avons mené une étude cinétique au cours de laquelle nous avons étudié en parallèle les modifications chimiques et structurales (en particulier sous étirement) des substrats de silicone soumis à des traitements plasma dont la durée varie entre 2 min et 45 min. Le but de ce travail étude est

de déterminer le temps de traitement critique au-delà duquel des craquelures peuvent être décelées pour un taux d'élongation de 100%. En parallèle, il s'agit d'évaluer si ce temps critique conduit à une modification chimique du substrat satisfaisante.

2 Matériel et méthodes

2.1 Substrat de PDMS

Les substrats de PDMS ont été moulés par Statice Santé SAS (France) à partir du produit MED-450 de Nusil Silicone Technology LCC (Carpinteria, CA 93013 USA). C'est un élastomère de silicone se préparant par le mélange de deux composants : le premier est constitué de chaînes polydiméthylsiloxane à terminaisons vinyloxy $-CH=CH_2$, le second de chaînes poly(diméthylsiloxane) à terminaisons hydrogénosilane Si-H. La réaction d'addition entre les deux constituants (Figure 2.1) est catalysée par le platine et est accélérée par chauffage.

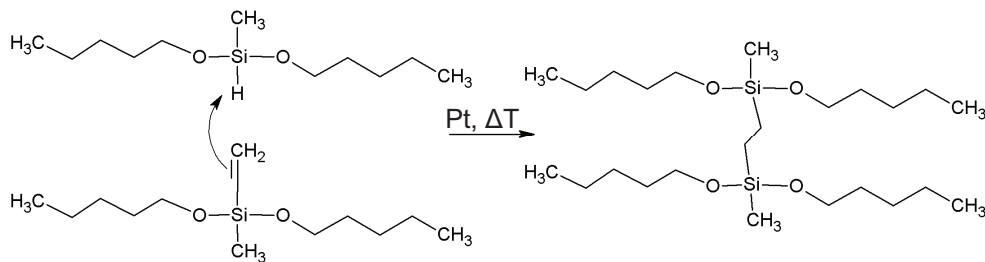


Figure 2.1 : Réaction d'hydrosilylation entre un polymère siloxane à fonctionnalité Si-H et un polymère siloxane à fonctionnalité $-CH=CH_2$

L'analyse thermogravimétrique (ATG) montre que le mélange contient également environ 50% (en masse) de silice amorphe (charges de renfort ou « filler »). Un film de PDMS de 200 μm d'épaisseur est moulé en pression et en température entre deux plaques de verre, à l'aide d'une presse. Après démoulage, les deux faces du film sont protégées par un film de polyéthylène. Le spectre infrarouge du film obtenu en transmission ne montre pas de pic correspondant aux groupements Si-H indiquant que la réaction est complète. 3% de chaînes courtes de PDMS sont extraites du film lors de son gonflement dans le cyclohexane. Les films sont directement utilisés après retrait du film protecteur de polyéthylène.

Les essais dynamiques mécaniques consistent à imposer une déformation variant de manière sinusoïdale.⁸ Dans les conditions d'un essai en fréquence, un matériau élastique fournit une réponse instantanée en phase avec la sollicitation. Un liquide, au contraire, diffère sa réponse qui subit un déphasage de 90° par rapport à la contrainte. Pour un matériau viscoélastique la proportionnalité entre contrainte et déformation reste vérifiée dans

la limite de la viscoélasticité linéaire. Mais la déformation subit un déphasage traduisant la dissipation d'énergie. A partir des composantes de la contrainte en fonction de la direction de déformation on accède aux paramètres caractéristiques :

- Module de conservation (ou charge) : $E'(\omega)$ en traction, $G'(\omega)$ en cisaillement
- Module de perte : $E''(\omega)$ en traction, $G''(\omega)$ en cisaillement
- Angle de perte δ : $Tg \delta = E''(\omega)/E'(\omega)$ ou $Tg \delta = G''(\omega)/G'(\omega)$

Le **Tableau 2.1** présente les résultats des essais mécaniques dynamiques (DMA) du film réalisés en traction à des fréquences de 1 Hz et 10 Hz.

| | 1 Hz | 10 Hz |
|-------------------------------|-------|-------|
| E' (MPa) | 4,8 | 4,27 |
| E''(MPa) | 0,6 | 0,53 |
| Tg δ | 0,124 | 0,124 |

Tableau 2.1 : Analyse mécanique dynamique du film de PDMS

Le module élastique E' de l'ordre de 4,5 MPa est caractéristique d'un élastomère de silicone au niveau de son plateau caoutchoutique, tandis que le module de perte de l'ordre de 0,5 Mpa est relativement faible car l'élastomère est fortement réticulé.

2.2 Polymérisation Plasma de l'anhydride maléique

2.2.1 Principe

Le procédé de dépôt chimique en phase vapeur assisté par plasma (PACVD), procédé appelé « polymérisation plasma », permet de déposer sur un substrat des films minces et ultraminces à partir d'une phase gazeuse contenant un monomère polymérisable. Les molécules du monomère sont activées et fragmentées sous l'action d'un champ électromagnétique. Les fragments activés (radicaux libres) peuvent se recombinaison pour former de façon aléatoire des « entités » qui se déposent à la surface des substrats eux même activés et présentant des radicaux. Les liaisons interfaciales formées entre le film et le substrat sont à l'origine de l'adhésion des films. A noter que la formation du polymère plasma résulte d'un mécanisme simultané de déposition et d'ablation.⁹

Dans le cas de réacteurs alimentés par courant alternatif se pose le choix de la fréquence. Celle-ci s'échelonne des basses fréquences jusqu'aux fréquences micro-ondes en passant par les radio-fréquences. Le générateur utilisé dans cette étude délivre des radio-fréquences. Deux modes sont possibles lors d'un traitement plasma¹⁰ :

- Le mode continu : les radio-fréquences sont délivrées de manière continue. Ce mode conduit à la formation de films polymère plasma fortement réticulés.
- Le mode pulsé : Les radio-fréquences sont délivrées sous forme d'impulsions. Durant le temps t_{on} , les radio-fréquences alimentent les électrodes puis, pendant le temps t_{off} , les radio-fréquences sont interrompues. Ces deux paramètres définissent le cycle de marche du réacteur qui correspond au rapport $t_{on} / (t_{on} + t_{off})$. Pendant la période t_{on} , il y a formation d'espèces actives aussi bien dans la phase gazeuse que sur la surface à traiter. La période t_{off} , quant à elle, permet aux espèces actives de se recombinaison entre elles et au film de se former.

En plus du cycle de marche, la puissance délivrée par le générateur est un paramètre très important à prendre en compte lors du dépôt. La puissance et le cycle de marche gouvernent la cinétique de dépôt et la composition chimique du film. Par exemple, des conditions de puissances élevées, en mode continu, conduisent à la croissance rapide d'un film dont les propriétés chimiques ne sont pas contrôlées. Par contre, des conditions de faible puissance et de faible cycle de marche permettent de maîtriser la composition chimique de la surface, mais la vitesse de dépôt sera faible. Lorsque le monomère n'est pas totalement dégradé dans la phase plasma mais se trouve en majorité au sein de la phase polymère, on parle de rétention du monomère dans le film. Le degré de rétention peut se déterminer par une analyse XPS et l'épaisseur du film se mesure par ellipsométrie, lorsque le support le permet.

2.2.2 Montage

L'anhydride maléique est broyé en une poudre fine à l'aide d'un mortier et placé dans un « tube à monomère ». Les expériences de polymérisation plasma ont été conduites dans un réacteur cylindrique en verre à couplage inductif dont les caractéristiques sont les suivantes :

- Diamètre : 6 cm
- Volume : 680 cm³
- Pression minimale : $5 \cdot 10^{-4}$ mbar
- Perte à vide : 10^{-10} kg.s⁻¹

La pression est contrôlée par l'intermédiaire d'un capteur de type Pirani. Le vide est effectué grâce à une pompe à deux étages (Edwards) reliée à un piège à azote liquide. Autour du réacteur sont enroulées 5 spires de cuivre de 4 mm de diamètre reliées au générateur de radiofréquences. Toutes les parties du montage sont assemblées avec des raccords cajon sans graisse. Une boîte d'accord L-C (Dressler, VM 1500W-ICP) est utilisée afin d'équilibrer les impédances du générateur (Dresler, Cesar 133, 13,56 MHz) et du réacteur. Lors du dépôt d'un film mince par plasma pulsé, les impulsions de décharges sont suivies à l'aide d'un oscilloscope.

2.2.3 Dépôt

Avant chaque expérience, le réacteur est nettoyé par un plasma air continu de 60 W pendant 30 min. Le système est ensuite amené à la pression atmosphérique et le substrat est introduit au centre de la chambre du réacteur. Le vide est ensuite effectué jusqu'à atteindre la pression de 5.10^{-4} mbar, avant d'introduire les vapeurs de monomère à une pression constante de 0,2 mbar (pression de sublimation de l'anhydride maléique à température ambiante), avec un flux de $1,6.10^{-19}$ kg.s⁻¹ de monomère. Le plasma est initié et équilibré en mode continu pendant 15 s avant le traitement pulsé. La puissance des radiofréquences utilisées est de 15 W pulsé (816 hertz avec un cycle de marche du réacteur de 2%) et la durée du traitement varie entre 2 min et 45 min. Lorsque le temps de traitement désiré est atteint, l'émission des radiofréquences est coupée, alors que le flux de monomère est maintenu pendant 2 min afin de promouvoir la réaction des derniers radicaux restant à la surface du dépôt. Lorsque la pression est redescendue à 5.10^{-4} mbar, la chambre du réacteur est remise à l'atmosphère.

2.3 Analyses de surface

2.3.1 Mouillabilité

Dans ce chapitre, la mesure d'angle de contact nous a permis de déterminer l'évolution de l'énergie de surface du substrat de PDMS en fonction de la durée du traitement par polymérisation plasma.

Principe. Lorsqu'une goutte d'un liquide donné est déposée sur une surface solide plane, l'angle entre la tangente à la goutte au point de contact et la surface solide est appelé angle de contact (θ). La mesure de cet angle apporte plusieurs types d'information :

- Si on utilise l'eau comme liquide sonde, on peut déduire le caractère hydrophobe (angle élevé, énergie de surface faible) ou hydrophile (angle faible, énergie de surface élevée) de la surface.
- Si on utilise différents liquides de référence, on peut accéder à l'énergie libre de la surface, tout en discriminant les composantes polaires ou apolaires de cette énergie en utilisant un modèle.¹¹
- Si on mesure l'hystérèse entre l'angle à l'avancée et au retrait de la goutte on obtient des renseignements sur la non homogénéité physique (rugosité) ou chimique de la surface.

Mesure et analyse. Les angles de contact à l'avancée et au retrait ont été déterminés à l'aide d'un goniomètre KRUSS équipé d'une chambre de mesure à atmosphère contrôlée et d'un dispositif de caméra vidéo. Chaque résultat est la moyenne de 3 mesures réalisées sur différentes zones du substrat. L'équilibre thermodynamique d'une goutte de liquide déposée sur une surface est décrit par l'équation de Young¹² :

$$\gamma_s - \gamma_{sl} = \gamma_l \cos \theta \quad \text{Équation 2.1}$$

Différentes méthodes sont couramment utilisées afin de déterminer l'énergie libre de surface à partir des mesures d'angle de contact. Cependant, ces méthodes ne sont pas satisfaisantes car elles conduisent à des résultats différents. Selon la théorie de Fowkes, le travail d'adhésion solide-liquide W_{sl} est la somme d'une composante dispersive W_{sl}^d due aux forces de London, et d'une composante non-dispersive W_{sl}^{nd} incluant tous les autres types d'interactions. W_{sl} est calculé en utilisant l'**Equation 2.2** :

$$W_{sl} = W_{sl}^d + W_{sl}^{nd} = \gamma_l (1 + \cos \theta) \quad \text{Équation 2.2}$$

En parallèle, la composante dispersive de l'énergie de surface peut être estimée à partir des mesures d'angle de contact de liquides purement apolaires, pour lesquels $\gamma_l = \gamma_l^d$ en première approximation (i.e. le diiodomethane et le 1-bromonaphtalene dans cette étude). En effet, en raison du caractère universel des forces de London, par de simples considérations de symétrie à l'interface, la composante dispersive du travail d'adhésion solide-liquide est définie comme la moyenne géométrique des composantes dispersives respectives de la tension de surface du liquide et de l'énergie de surface du solide :

$$W_{sl} = W_{sl}^d = \gamma_l^d (1 + \cos \theta) = 2(\gamma_s^d \gamma_l^d)^{0.5} \quad \text{Équation 2.3}$$

En combinant ces deux équations nous pouvons déterminer la composante non-dispersive du travail d'adhésion solide-liquide de liquides polaires (i.e. l'eau dans cette étude) :

$$W_{sl}^{nd} = \gamma_l (1 + \cos \theta) - 2(\gamma_s^d \gamma_l^d)^{0.5} \quad \text{Équation 2.4}$$

Ainsi, dans le but d'estimer les interactions solide-eau, nous avons d'abord évalué la composante dispersive de l'énergie de surface à partir des valeurs d'angle de contact à l'avancée des liquides apolaires, mesurés à différents temps de traitement, en déterminant la pente de la « droite des liquides apolaires » :

$$\cos \theta_{liq.apol} = -1 + 2\gamma_s^d \left(\frac{\gamma_l^{1/2}}{\gamma_l} \right) \quad \text{Équation 2.5}$$

Dans un second temps, nous avons calculé les composantes du travail d'adhésion solide-eau à partir des valeurs d'angle de contact de l'eau en utilisant l'Équation 2.4.

2.3.2 XPS

Dans cette étude, les analyses XPS nous ont permis de déterminer la nature et la proportion relative des groupements chimiques introduits à la surface du substrat de PDMS lors du traitement par polymérisation plasma.

Principe. L'XPS (X-Ray Photoelectron Spectroscopy) est une technique spectroscopique quantitative qui permet de déterminer la composition atomique et la nature des environnements chimiques (liaisons chimiques) de la surface d'un matériau. Les spectres XPS sont obtenus en irradiant l'échantillon avec un faisceau de rayons X tout en mesurant l'énergie cinétique et le nombre de photoélectrons émis par l'échantillon dans une épaisseur comprise entre 1 et 10 nm, ajustable en fonction de l'angle d'incidence du faisceau. L'XPS requiert des conditions d'ultravide.

Mesure et analyse. Les analyses XPS ont été menées sur un spectromètre de type LEYBOLD LHS11, équipé d'une source au magnésium non monochromatée (1253,6 eV), ainsi que d'un analyseur hémisphérique. Les photoélectrons émis sont collectés à un angle de 90° par rapport à la surface. Les spectres XPS sont reconstruits (décomposés) en éléments gaussiens avec des largeurs à mi-hauteur identiques grâce au logiciel CASA XPS. Les facteurs de sensibilité expérimentaux des éléments C(1s) : O(1s) : Si(2p) sont respectivement 1,0 : 0,34, : 1,19.

2.3.3 FTIR-ATR

Dans ce chapitre, la spectroscopie FTIR-ATR nous permet de déterminer la variation relative de la quantité de groupements anhydride au sein du film polymère en fonction de la durée du traitement, en utilisant une bande de vibration du PDMS comme référence interne.

Principe. La spectroscopie infrarouge (IR) exploite le fait que les molécules possèdent des fréquences spécifiques pour lesquelles elles tournent ou vibrent en correspondance avec des niveaux d'énergie discrets (modes vibratoires). Le spectre infrarouge d'un échantillon est établi en faisant passer un faisceau de lumière infrarouge au travers de cet échantillon. L'examen de la lumière transmise indique la quantité d'énergie absorbée à chaque longueur d'onde. On peut le faire avec un faisceau monochromatique, avec une modification de la longueur d'onde dans le temps, ou en utilisant un instrument à transformée de Fourier afin de mesurer toutes les mesures d'onde simultanément. On peut alors obtenir les spectres en absorbance ou en transmittance et déterminer les longueurs d'ondes d'absorption. L'analyse de ces caractéristiques indique les détails de la structure moléculaire de l'échantillon.

La réflexion totale atténuée (ATR) est une technique permettant l'analyse directe d'un échantillon solide (poudre, substrat) ou liquide. Cette technique est non destructive et ne

demande aucune préparation au niveau de l'échantillon, ce qui en fait une analyse de routine. En mode ATR, l'échantillon est plaqué contre un cristal. Dans les conditions de réflexion totale du faisceau infrarouge sur le cristal, il y a formation d'une onde évanescente se propageant dans l'échantillon sur une épaisseur de quelques micromètres. A la sortie du cristal, après une ou plusieurs réflexions selon la taille du cristal et de l'échantillon, le faisceau est collecté par un détecteur.

Mesure et analyse. Les spectres infrarouge des substrats de PDMS modifiés sont réalisés à l'aide d'un spectromètre à transformée de Fourier (Brucker IFS66S) équipé d'un détecteur MCT refroidi par azote liquide et d'un accessoire ATR (réflexion totale atténuée) monoréflexion en germanium. L'ensemble des spectres a été réalisé avec une résolution de 4 cm^{-1} sur 100 scans.

La profondeur de pénétration de l'onde évanescente dans le matériau est donnée par :

$$dp = \frac{\lambda}{2\pi n_1 (\sin^2 \theta - n_{21}^2)^{1/2}} \quad \text{Équation 2.6}$$

où λ est la longueur d'onde du faisceau infrarouge, n_1 est l'indice de réfraction du cristal, n_{21} est le ratio des indices de réfraction de l'échantillon et du cristal, et θ est l'angle d'incidence du faisceau. L'indice de réfraction du cristal de germanium¹³ est de 4,01 tandis l'indice de réfraction du PDMS¹⁴ est de 1,43. Les spectres sont réalisés dans un intervalle de nombre d'onde ($2\pi/\lambda$) compris entre 4000 cm^{-1} et 600 cm^{-1} . En appliquant l'Équation 2.6, la profondeur de pénétration de l'onde évanescente est comprise entre $1 \text{ }\mu\text{m}$ à 4000 cm^{-1} et $6,8 \text{ }\mu\text{m}$ à 800 cm^{-1} .

La quantité relative d'anhydride maléique déposée en fonction du temps de dépôt est évaluée en normalisant l'absorbance de la bande C=O de l'anhydride maléique ($\sim 1780 \text{ cm}^{-1}$) par rapport à l'absorbance de la bande Si-CH₃ ($\sim 845 \text{ cm}^{-1}$) du PDMS utilisée comme référence interne car la variation de l'épaisseur du film liée au dépôt (quelques nanomètres) est négligeable devant l'épaisseur sondée (quelques microns). La **Figure 2.2** présente un spectre infrarouge typique d'un film de PDMS traité par polymérisation plasma.

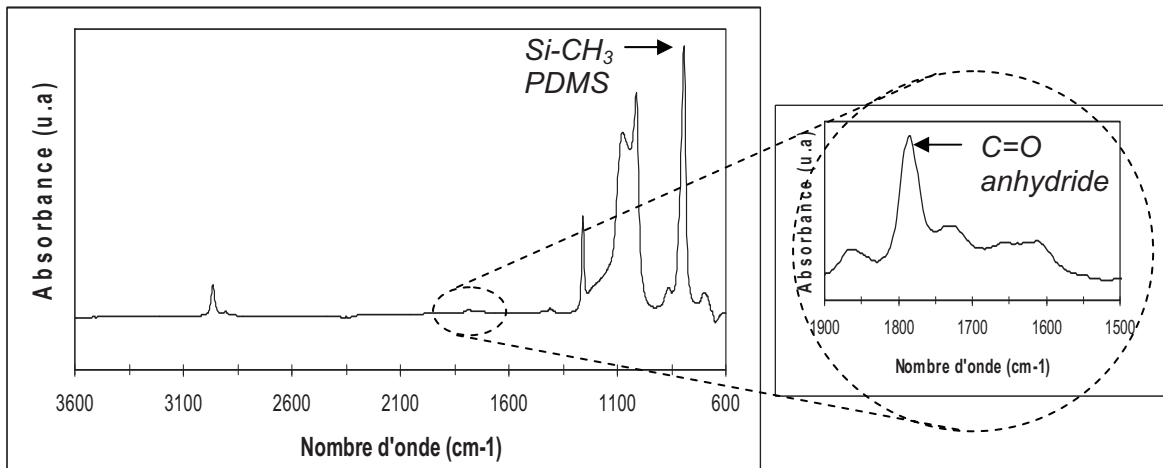


Figure 2.2 : Spectre FTIR-ATR d'un substrat de PDMS traité par polymérisation plasma de l'anhydride maléique. L'absorbance de la bande C=O correspondant aux groupements anhydride est normalisée par l'absorbance de la bande Si-CH₃ du PDMS (référence interne)

2.3.4 MEB

Dans ce chapitre, l'analyse MEB est principalement utilisée afin d'imager la surface du PDMS modifié par polymérisation plasma dans le but de détecter la présence de craquelures sous élongation.

Principe. La microscopie électronique à balayage (MEB ou SEM pour Scanning Electron Microscopy en anglais) est une technique de microscopie électronique basée sur le principe des interactions électrons-matière, capable de produire des images en haute résolution de la surface d'un échantillon. Le principe du MEB consiste en un faisceau d'électrons balayant la surface de l'échantillon à analyser qui, en réponse, réémet certaines particules (électrons secondaires, rétrodiffusés, etc.). Ces particules sont analysées par différents détecteurs qui permettent de reconstruire une image en trois dimensions de la surface d'une part, et d'accéder à la composition élémentaire du matériau d'autre part.

Mesure. Le microscope utilisé est un microscope à pression variable de marque FEI, modèle Quanta 400, permettant de travailler dans trois gammes de vide : haut vide, "low vacuum" (jusqu'à 1 torr de pression dans la chambre) et environnemental (jusqu'à 20 torrs de pression dans la chambre). L'eau est généralement utilisée en raison de son pouvoir amplificateur des électrons secondaires émis par l'échantillon. Le mode haut vide nécessite de travailler sur des échantillons conducteurs, le mode "low vacuum" permet de travailler sur des échantillons isolants, le mode environnemental permet de travailler sur des échantillons hydratés. La résolution du microscope est de 3,5 nm en haut vide, environ 5 nm en "low vacuum" et environ 10 nm en environnemental. Toutes les observations ont été réalisées avec une tension d'accélération de 30 kV. Les expériences de traction sont menées en mode

low vacuum ($P_{H_2O} = 1$ torr), la platine de traction motorisée a été conçue et réalisée par J. Hemmerlé. Les échantillons isolants sont rendus conducteurs par un dépôt d'or dont l'épaisseur est de 15 nm. Le dépôt est réalisé avec un pulvérisateur cathodique de marque Edwards, modèle Scancoat Six.

2.3.5 Imagerie AFM

Dans cette étude l'imagerie AFM nous permet de mesurer l'effet du traitement par polymérisation plasma sur la morphologie de la surface des échantillons de PDMS, à l'état relaxé ou étiré.

Principe. Le microscope à force atomique (ou AFM pour Atomic Force Microscope) est un microscope à sonde locale permettant de visualiser la topographie de la surface d'un échantillon conducteur ou isolant avec une résolution latérale de quelques nanomètres et une résolution verticale inférieure à 0,1 nm. Le principe se base sur les interactions entre l'échantillon et une pointe nanométrique montée sur un microlevier. La pointe balaie (scanne) la surface de l'échantillon, et l'on agit sur sa position verticale selon un paramètre de rétroaction. Un ordinateur enregistre cette hauteur et peut ainsi reconstituer une image de la topographie de la surface.

Soft/hard tapping. L'imagerie d'une surface par AFM en mode tapping (aussi appelé contact intermittent) permet d'accéder à deux types d'informations : la hauteur (rugosité) et la phase. Le contraste de phase dépend des variations de rigidité apparente de l'échantillon à l'échelle de quelques nanomètres. Par exemple, un fort contraste de phase est observé entre des parties plus ou moins rigides de copolymères à bloc.¹⁵ Le contraste de phase dépend également de la consigne d'amplitude à laquelle l'image est réalisée. Ainsi, on parle de « soft tapping » lorsque l'amplitude des oscillations du cantilever est faible, c'est-à-dire que la pointe interagit peu avec la surface. En « hard tapping », la consigne d'amplitude est élevée ce qui se traduit par un fort taux d'appui de la pointe au contact de l'échantillon. Par conséquent, l'image de phase d'une même zone d'un échantillon peut considérablement évoluer entre des conditions de « soft tapping » et de « hard tapping ». En particulier, d'importants contrastes de phase sont généralement observés sur des élastomères chargés, entre les particules inorganiques dures et la matrice polymère molle.¹⁶ Selon le modèle de Hertz, lorsque la pointe sphérique et la surface plane de l'échantillon, entrent en contact, sous l'effet d'une force F , la rigidité S de la surface dépend à la fois des modules de l'échantillon et de la pointe, et de l'aire de contact circulaire¹⁷ :

$$S = \frac{\partial F}{\partial \delta} = \epsilon a E^* \quad \text{Équation 2.7}$$

où δ est la profondeur d'indentation, a est le rayon de l'aire de contact A entre la pointe et la surface, ϵ est une constante et E^* le module effectif :

$$\frac{1}{E^*} = \frac{(1 - \nu_1^2)}{E_1} + \frac{(1 - \nu_2^2)}{E_2} \quad \text{Équation 2.8}$$

où E_1 et E_2 sont les modules d'Young, ν_1 et ν_2 les coefficients de poisson de la pointe et de l'échantillon respectivement. Le contraste de phase mesuré à une fréquence ω_0 est donné par la relation suivante :

$$\Delta\phi(\omega_0) = S \frac{Q}{k} = \varepsilon a E^* \frac{Q}{k} \quad \text{Équation 2.9}$$

où le levier est caractérisé par sa fréquence de résonance ω_0 , sa constante de raideur k , et son facteur de qualité Q . Cette relation indique que le contraste de phase dépend à la fois du module local de l'échantillon et de l'aire de contact entre la pointe et l'échantillon. Or dans le cas de la matière molle, l'aire de contact peut varier en fonction du taux d'appui, ce qui peut être à l'origine de l'inversion du contraste de phase selon que le terme lié à l'aire de contact ou au module prédomine.

Ainsi, sur un élastomère chargé, une inversion de contraste de phase peut être observée entre les conditions de « soft tapping » et de « hard tapping ». Par exemple, les travaux de Clément et col.¹⁸ montrent que, dans des conditions de « soft tapping », l'aire de contact pointe-échantillon est faible et le contraste de phase est dominé par les variations de module local de la surface (les charges « dures » apparaissent en clair). En « hard tapping », l'aire de contact pointe-échantillon est plus élevée dans les zones molles et le contraste de phase est dominé par des changements d'aire de contact entre la pointe et la surface de l'échantillon (les zones molles apparaissent en clair).

L'utilisation d'un levier de constante de raideur faible permet de réduire les interactions pointe-surface, ce qui est utile pour étudier des échantillons sensibles tels que des films organiques. Dans le cas de matériaux à forte pégosité (tack) tels que des PSA (Pressure Sensitive Adhesive) ou le PDMS, il est préférable d'utiliser un levier de constante de raideur élevé afin de compenser les forces d'adhésion entre la pointe et la surface et de favoriser leur séparation.¹⁹ Ainsi, le contraste de phase obtenu par imagerie AFM en mode tapping dépend à la fois des variations locales de module de l'échantillon, de la consigne d'amplitude et de la constante de raideur du levier utilisé. Par conséquent, l'interprétation des variations de contraste de phase mesurées sur une surface polymère peut nécessiter de réaliser des images de la même zone de l'échantillon dans des conditions d'appui variables. L'analyse couplée de l'évolution des images de topographie et de phase en fonction du taux d'appui permet ainsi de mettre en évidence la structure de la surface, voire de l'interface.

Remarquons enfin que la rugosité apparente du matériau polymère estimée par AFM dépend fortement des conditions d'appui. La rugosité réelle de la surface se rapproche de la rugosité apparente de la surface déterminée dans des conditions d'appui modérées.

Mesure et analyse. Les analyses AFM sont réalisées à l'aide d'un microscope atomique Dimension 3000 (Digital Instruments), piloté par un contrôleur Nanoscope IIIA (Digital Instruments). En mode tapping, deux types de leviers, de constante de raideur de 5 N.m^{-1} (Veeco) et 48 N.m^{-1} (Nanoworld), munis d'une pointe en silicium sont utilisés. Les pointes de constante de raideur élevée ($k = 48 \text{ N.m}^{-1}$) permettent de réduire les effets de l'adhésion du substrat et d'augmenter la résolution latérale des images. Celles-ci sont utilisées pour les images du substrat de PDMS traité 6 min.

L'ajustement des gains est réalisé de manière à minimiser les variations d'amplitude. Les conditions de « soft tapping » correspondent aux conditions d'appui les plus modérées (« Amplitude Setpoint » le plus élevé possible) permettant de suivre la topographie de l'échantillon. Les conditions de « hard tapping » correspondent aux conditions d'appui à partir desquelles les contrastes de hauteur et de phase ne présentent plus de changements en augmentant le taux d'appui (i.e diminution de l' « Amplitude Setpoint »).

En mode contact, les images sont réalisées à l'air ou dans l'eau à l'aide d'une pointe en nitrure de silicium (DNP, Veeco) traitée 2 minutes par polymérisation plasma, supportée par un levier de $0,06 \text{ N.m}^{-1}$. Les gains sont ajustés de manière à minimiser les variations de déflexion du levier. Les images minimisant les forces d'interactions sont réalisées dans les conditions d'appui minimales (« Deflexion Setpoint ») permettant de suivre la topographie de l'échantillon.

Les analyses sous étirement uni-axial sont réalisées à l'aide d'un dispositif spécialement conçu par nos équipes. Les images dont les dimensions varient de $30 \mu\text{m} \times 30 \mu\text{m}$ à $400 \text{ nm} \times 400 \text{ nm}$, sont réalisées à une vitesse (scan rate) de 1Hz.

3 Modifications chimiques du substrat au cours du traitement

3.1 Mouillabilité

3.1.1 Evolution de l'angle de contact de l'eau

Les substrats de silicone ont été traités par polymérisation plasma de l'anhydride maléique entre 2 min et 45 min. Pour chaque échantillon, les angles de contact de l'eau à l'avancée et au retrait sont mesurés sur les substrats immédiatement après le traitement. Les résultats sont présentés sur la **Figure 3.1**.

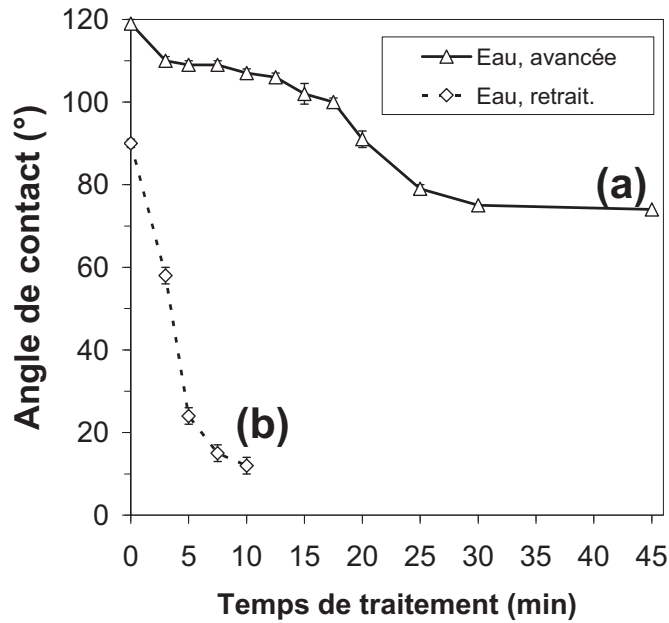


Figure 3.1 : Evolution de l'angle de contact de l'eau en fonction de la durée de traitement.
(a) A l'avancée, (b) Au retrait

L'angle de contact à l'avancée de l'eau sur le PDMS non traité est de 119° . Cette hydrophobicité est liée au caractère apolaire des groupements méthyle ($-\text{CH}_3$) des chaînes siloxane, créant peu d'interactions avec les molécules d'eau. L'angle de contact diminue progressivement en fonction du temps de traitement du substrat de PDMS par polymérisation plasma. Un traitement de 30 min permet de rendre la surface hydrophile puisque l'angle de contact de l'eau est de 75° . Un traitement plus long ne permet pas d'atteindre des valeurs plus faibles. En parallèle, l'angle de contact au retrait décroît de 90° pour le PDMS non traité jusqu'à 12° après 10 min de dépôt. Au-delà, celui-ci n'est plus mesurable, car les valeurs sont inférieures à 10° .

L'eau est un liquide polaire dont la tension de surface ($72,8 \text{ mJ.m}^{-2}$) est la somme d'une composante non-dispersive (51 mJ.m^{-2}) et d'une composante dispersive ($21,8 \text{ mJ.m}^{-2}$). Or les forces dispersives sont universelles, elles existent pour les groupements polaires et apolaires. Par conséquent, les mesures de mouillabilité réalisées avec l'eau nécessitent d'être associées à des mesures avec des liquides purement apolaires tels que le diiodométhane ou le bromonaphtalène, afin de distinguer les composantes dispersives et non-dispersives du travail d'adhésion solide-eau pour chaque durée de traitement.

3.1.2 Evolution de l'angle de contact du diiodométhane

La Figure 3.2 décrit l'évolution des angles de contact à l'avancée et au retrait du diiodométhane en fonction de la durée de traitement. L'angle à l'avancée décroît de 85° pour

un substrat de PDMS non traité jusqu'à une valeur de 50° après 45 min de dépôt. En parallèle, l'angle de contact au retrait décroît de 61° à 15° . Afin de mettre en évidence l'enrichissement de la surface en groupements polaires, nous allons déterminer l'évolution des composantes dispersive et non-dispersive du travail d'adhésion solide-eau. La composante dispersive W_{si}^d traduit les interactions dispersives de l'eau avec les groupements polaires et apolaires de la surface, tandis que la composante non-dispersive W_{si}^{nd} résulte uniquement des interactions avec les groupements polaires.

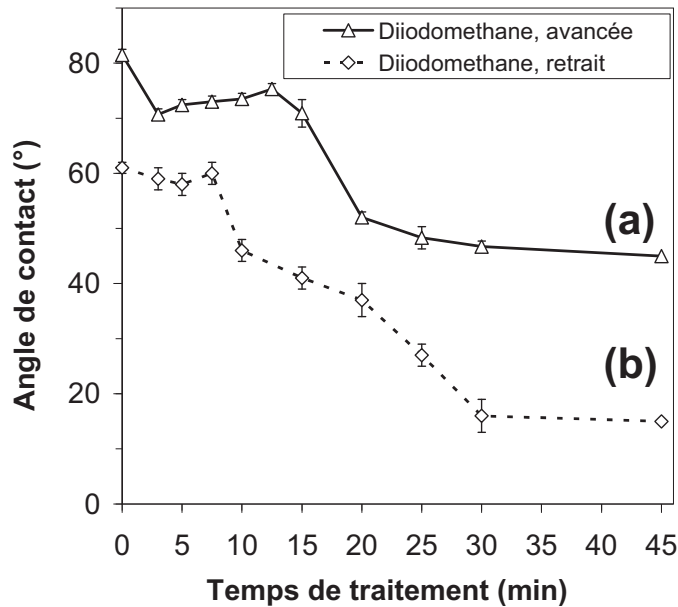


Figure 3.2 : Evolution de l'angle de contact du diiodométhane en fonction de la durée de traitement. (a) A l'avancée, (b) Au retrait

3.1.3 Evolution du travail d'adhésion solide-eau

La **Figure 3.3** présente l'évolution des composantes dispersives W_{si}^d et non-dispersives W_{si}^{nd} du travail d'adhésion solide-eau en fonction de la durée de traitement par polymérisation plasma. La méthode de calcul est détaillée dans la partie matériel et méthodes (partie 2.3.1). Nous observons que les valeurs des composantes dispersive et non-dispersive du travail d'adhésion augmentent avec la durée de traitement. En particulier, l'augmentation de la composante non-dispersive traduit l'enrichissement progressif de la surface en groupements polaires introduits par polymérisation plasma. Les évolutions des composantes dispersive et non-dispersive montrent 4 phases distinctes, liées aux changements progressifs de la composition chimique de l'extrême surface du film.

- Phase I : Aux temps très courts $t < 3$ min, les composantes dispersives et non-dispersive augmentent, attestant de l'introduction d'une faible fraction de groupements polaires sur la surface. Une variation de la rugosité liée à l'ablation de la surface, additionnée

à des effets de nettoyage, pourraient également contribuer aux changements de mouillabilité dans les premiers instants du dépôt.

- Phase II : Aux temps courts ($3 \text{ min} < t < 12 \text{ min}$), la composante non-dispersive augmente progressivement en fonction de la durée de traitement, tandis que la composante dispersive est constante. La composition chimique de la surface s'enrichit progressivement en environnements polaires.

- Phase III : Aux temps intermédiaires ($12 \text{ min} < t < 25 \text{ min}$), les valeurs des composantes dispersive et non-dispersive augmentent de façon plus prononcée comparativement aux phase précédentes : la fraction polaire de la surface devient significative par rapport à la fraction de PDMS non modifiée.

- Phase IV : Aux temps longs, le travail d'adhésion solide-liquide tend à se stabiliser : un film polymère plasma de composition chimique définie recouvre la surface.

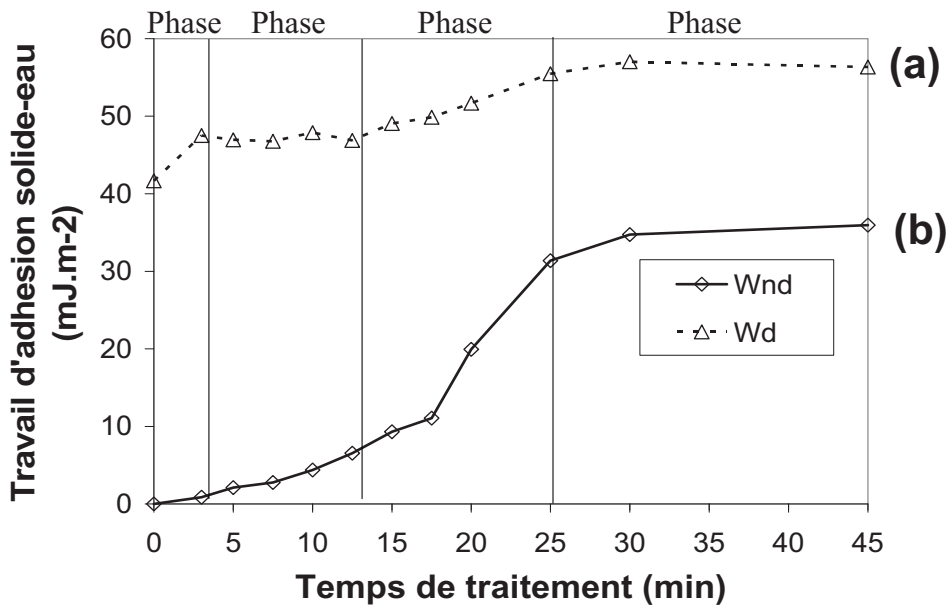


Figure 3.3: Travail d'adhésion solide-eau en fonction de la durée de traitement par polymérisation plasma (a) Composante dispersive W_{sl}^d , (b) Composante non-dispersive W_{sl}^{nd}

3.2 Analyse XPS

Afin de déterminer la nature de la composition chimique de la surface en fonction de la durée du traitement, nous avons réalisé des analyses XPS de la surface au cours des différentes phases du traitement, mises en évidence par mouillabilité. Les temps choisis sont 2 min, 6 min, 12 min 30 et 30 min. Nous décrivons l'évolution de la composition atomique de la surface, avant de nous intéresser à l'environnement chimique de chaque atome entrant dans la composition du film.

3.2.1 Composition atomique de la surface

Le **Tableau 3.1** décrit l'évolution de la composition atomique de la surface en fonction de la durée du dépôt. Nous remarquons que la composition atomique du substrat de PDMS montre un pourcentage de silicium (36%) plus élevé que le pourcentage théorique en considérant la formule chimique du silicone (Si 25% / O 25% / C 50%). Cet écart est probablement lié à la fraction massique élevée de charges de silice au sein du polymère (~50-60% en masse), dont une partie se trouverait à une distance de la surface inférieure à 10 nm (épaisseur sondée par l'analyse XPS en incidence normale). Dès les premières minutes de traitement, la composition atomique du film est enrichie en carbone et en oxygène, tandis que la fraction de silicium diminue pour devenir très faible mais non nulle après 30 min de dépôt. L'ablation et l'oxydation des chaînes siloxane, la formation de radicaux de surface et la croissance du film polymère plasma constituent les principaux phénomènes à l'origine des changements de composition chimique de la surface. Dans la partie suivante, nous analyserons précisément les spectres XPS haute résolution des différents atomes afin de déterminer l'évolution de la nature des groupements de surface en fonction de la durée du dépôt.

| Composition atomique (%) | | | |
|----------------------------|------|------|------|
| | C | O | Si |
| PDMS | 43,8 | 21,6 | 34,6 |
| PDMS / PP 2 min | 52,4 | 22,1 | 25,4 |
| PDMS / PP 6 min | 50,9 | 26,9 | 22,8 |
| PDMS / PP 12 min 30 | 53,4 | 27,8 | 18,8 |
| PDMS / PP 30 min | 65,7 | 29,8 | 4,5 |

Tableau 3.1: Composition atomique du film en fonction de la durée du dépôt. La profondeur d'analyse est de 10 nm

3.2.2 Nature des groupements de surface

Le **Tableau 3.2** présente le résultat des décompositions spectrales des enveloppes C(1s), O(1s) et Si(2p) des analyses XPS réalisées sur les substrats de PDMS après différents temps de traitement. Les énergies de liaison des différentes composantes ont été ajustées en accord avec les données des tables de la littérature.²⁰ La **Figure 3.4** présente les

spectres C(1s) obtenus aux différents temps de dépôt, illustrant notamment l'enrichissement de la composition de surface en groupements d'anhydride maléique.

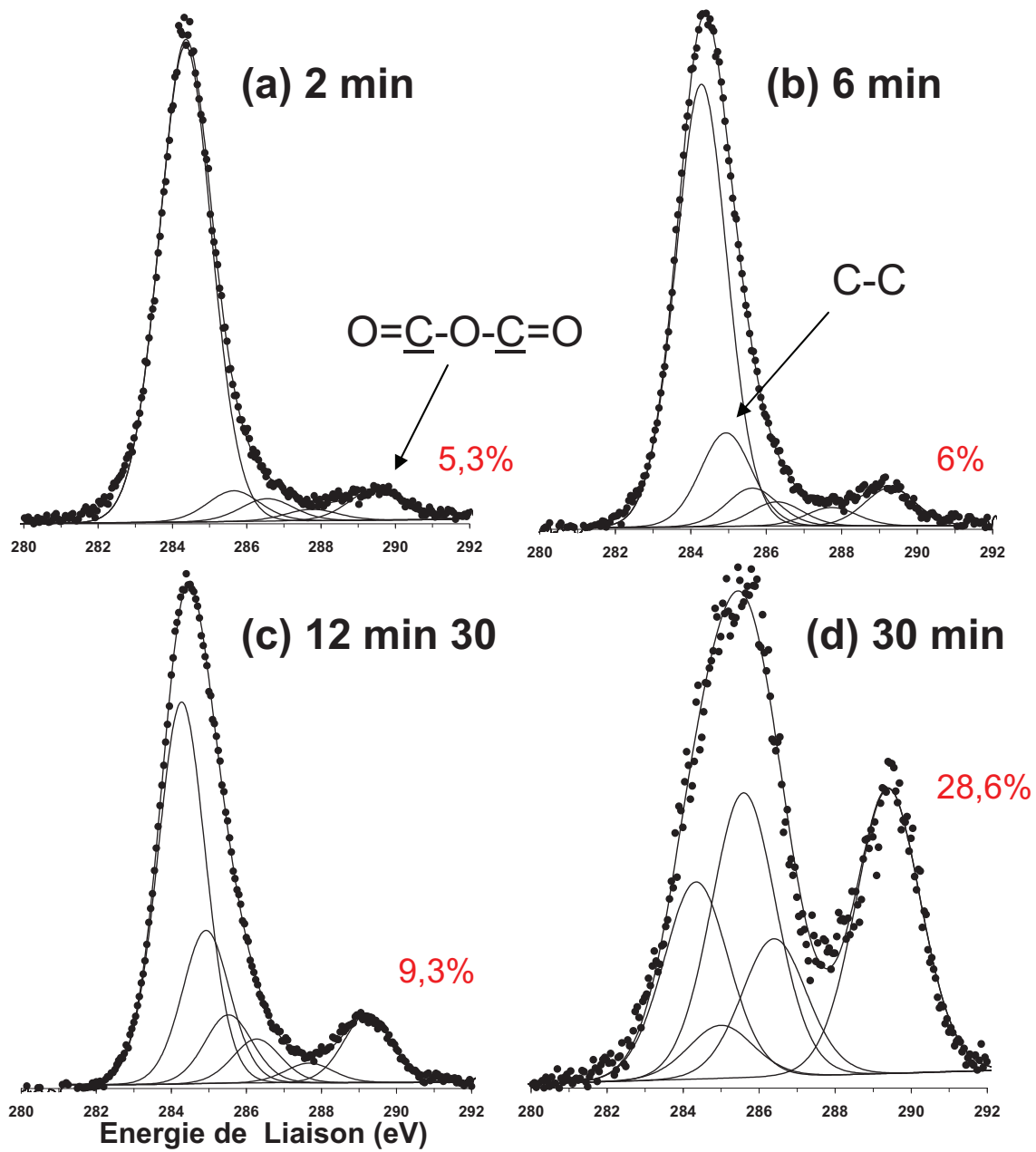


Figure 3.4 : Enveloppes des spectres XPS C(1s) réalisés après différents temps de traitement du substrat de PDMS par polymérisation plasma de l'anhydride maléique (a) 2 min, (b) 6 min, (c) 12 min 30, (d) 30 min

| Composantes | PDMS | | PDMS/PP2min | | PDMS/PP6min | | PDMS/PP12min30 | | PDMS/PP30min | | |
|---------------|---|--------|-------------|-------|-------------|-------|----------------|-------|--------------|-------|------|
| | E.L. (eV) | % At. | E.L. (eV) | % At. | E.L. (eV) | % At. | E.L. (eV) | % At. | E.L. (eV) | % At. | |
| C(1s) | <u>C</u> -Si | 284,35 | 100 | 284,3 | 83,3 | 284,3 | 69,3 | 284,3 | 52 | 284,3 | 21,4 |
| | <u>C</u> -C | - | - | 285 | - | 285 | 12,5 | 285 | 20,8 | 285 | 3,5 |
| | <u>C</u> -C(O)=O | - | - | 285,6 | 5,3 | 285,6 | 6 | 285,6 | 9,3 | 285,6 | 28,6 |
| | <u>C</u> -O | - | - | 286,5 | 3,9 | 286,3 | 3,5 | 286,3 | 5,9 | 286,3 | 15,7 |
| | O- <u>C</u> -O/- <u>C</u> =O | - | - | 287,8 | 2 | 287,7 | 2,6 | 287,7 | 2,7 | 287,8 | 2 |
| | O= <u>C</u> -O- <u>C</u> =O / HO- <u>C</u> =O | - | - | 289,4 | 5,3 | 289,3 | 6 | 289,3 | 9,3 | 289,4 | 28,6 |
| O(1s) | Si- <u>O</u> -Si / <u>O</u> =C-O-C= <u>O</u> | 532 | 100 | 532 | 92,3 | 532 | 88,3 | 532 | 83,4 | 532,4 | 70,9 |
| | O= <u>C</u> - <u>O</u> -C=O / HO- <u>C</u> =O | - | - | 533,8 | 7,7 | 533,7 | 11,7 | 533,7 | 16,6 | 533,6 | 29,7 |
| Si(2p) | <u>Si</u> -O- <u>Si</u> (PDMS) | 101,9 | 91,6 | 101,9 | 99 | 101,9 | 86,1 | 101,7 | 89,3 | 101,6 | 100 |
| | <u>Si</u> (Ox) 2<x<4 | - | - | - | - | 102,8 | 10 | 102,9 | 8,8 | - | - |
| | <u>Si</u> -O ₂ (charges silice) | 103,9 | 8,4 | 103,9 | 1 | 104 | 3,9 | 104 | 1,9 | - | - |

Tableau 3.2: Résultat de la décomposition spectrale des enveloppes C(1s), O(1s) et Si(2p) des analyses XPS, en fonction de la durée de traitement

Les enveloppes C(1s) et O(1s) du PDMS non traité montrent une seule composante à 284,35 eV et 532 eV correspondant respectivement aux liaisons de type C-Si et Si-O-Si, caractéristiques des chaînes siloxane. L'enveloppe Si(2p) présente une composante à 103,9 eV de l'ordre de 8% attribuée aux charges de silice, s'additionnant à la composante O-Si-O du silicone située à 101,9 eV.

Après 2 min de traitement (phase I), l'enveloppe C(1s) montre la présence d'environnements oxygénés de différents types : C-O, O-C-O/-C=O, et O=C-O-C=O/HO-C=O. La composante correspondant aux groupements anhydride à 289,4 eV est la plus importante, elle est de l'ordre de 5%. L'enveloppe O(1s) de l'oxygène montre également une composante à 533,8 eV correspondant aux groupements anhydride. Lorsque le temps de traitement atteint 6 min (phase II), la concentration des groupements polaires augmente sensiblement tandis que nous détectons une composante C-C située à 285 eV dans l'enveloppe C(1s) du carbone, attribuée aux chaînes hydrocarbonées -CH₂-CH₂- du polymère plasma. En parallèle, l'enveloppe Si(2p) présente une nouvelle composante à 102,8 eV caractéristique d'environnements de type SiO_x (2<x<4) attribués à l'oxydation des chaînes de silicone (PDMS «modifié»). Entre 6 min et 12 min 30 (phase II), les concentrations des espèces polaires et hydrocarbonées continuent d'augmenter, tandis que la composition de la surface s'appauvrit en environnement -C-Si de type PDMS. Entre 12 min 30 et 30 min de dépôt (phase III), les changements de composition du film sont plus prononcés: pour un traitement de 30 min, le taux de rétention d'anhydride maléique dans le film est alors de l'ordre de 30%, ce qui est comparable à la valeur obtenue sur un substrat de silicium.⁴⁴ Nous remarquons que la composante SiO_x à 102,9 eV n'est plus détectée, car celle-ci est attribuée au substrat de PDMS oxydé (« modifié »), qui est recouvert par un film épais (quelques dizaines de nanomètres) de polymère plasma à des temps de dépôt élevés.

Les 4% de silicium détectés dans le film présentent alors un environnement C-Si correspondant probablement à des fragments de chaînes de silicone volatilisés lors de l'ablation du substrat, puis redéposés dans le film en cours de croissance. Ces résultats suggèrent que la cinétique de croissance du film polymère plasma subit une transition pour une durée de traitement de l'ordre de 12 min. Afin de vérifier cette hypothèse, nous avons évalué l'augmentation relative de la quantité d'anhydride maléique sur le substrat en fonction de la durée de dépôt, par une analyse FTIR-ATR.

3.3 Analyse FTIR-ATR

La **Figure 3.5** présente l'évolution relative de la quantité d'anhydride maléique déposée sur le substrat en fonction de la durée de dépôt.

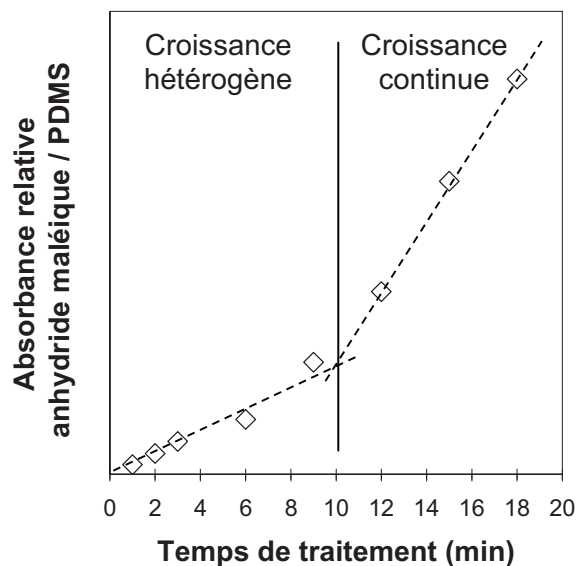


Figure 3.5: Evolution de la quantité relative d'anhydride maléique déposé en fonction de la durée de traitement, déterminée par FTIR-ATR. Les points expérimentaux correspondent à l'absorbance de l'anhydride maléique normalisée par l'absorbance de la bande $-Si-CH_3$ du PDMS, utilisé comme référence interne

Nous observons un changement de régime de croissance (changement de pente de la courbe) après 10-12 min de traitement. Nous avons observé une transition similaire en mouillabilité, au niveau de l'évolution du caractère non-dispersif du travail d'adhésion en fonction de la durée de dépôt (Figure 3.3), traduisant l'enrichissement de la surface en groupements polaires. Dans les temps courts de traitement (i.e. $t < 10-12$ min), les groupements polaires, en majorité des groupements anhydride (cf. analyse XPS section 2.3.2), sont aléatoirement greffés sur la surface à partir de radicaux créés à la surface du PDMS. Pour les temps longs, lorsque la fraction de surface modifiée devient significative, la

majorité des groupements anhydride est greffée à partir de radicaux créés sur la fraction de polymère plasma en cours de croissance. On parle alors de croissance continue. La transition entre les deux modes de croissance se situe vers 10-12 min de traitement.

En d'autres termes, les résultats précédents indiquent que, pour les temps courts de traitement, la composition chimique de la surface est très hétérogène : celle-ci se compose d'une fraction croissante de groupements polaires au sein d'une matrice hydrophobe de PDMS. Dans la partie suivante, l'étude de l'hystérésis de mouillage nous permettra de confirmer cette hypothèse.

3.4 Hystérèse de mouillage

L'hystérèse de mouillage se définit par la différence entre l'angle de contact à l'avancée θ_A et l'angle de contact au retrait θ_R . Pour une surface solide supposée idéale, c'est-à-dire plane, lisse, indéformable et chimiquement homogène, l'hystérèse de mouillage est minimale. L'augmentation de l'hystérèse de mouillage d'un liquide sur une surface peut être attribuée à une augmentation de la rugosité (modèle de Wenzel) ou à la présence d'hétérogénéités chimiques (modèle de Cassie-Baxter).²¹

Dans cette étude, nous comparerons l'hystérèse relative de mouillage ΔH de l'eau et du diiodométhane en fonction du temps de traitement.

$$\Delta H(\%) = \frac{\theta_A - \theta_R}{\theta_A} \times 100 \quad \text{Équation 3.1}$$

Sur le substrat de PDMS non traité, les hystérèses relatives de mouillage de l'eau et du diiodométhane sont similaires et relativement faibles, de l'ordre de 20%. Ce résultat confirme que la surface de PDMS est chimiquement homogène, les différences entre les angles à l'avancée et au retrait sont probablement liées à la rugosité du substrat. Dès les premières minutes de dépôt, l'hystérèse relative de mouillage de l'eau augmente de façon prononcée. Celle-ci est de l'ordre de 50% pour un temps de traitement de 3 min, puis augmente jusqu'à 80% après 6 min de traitement. Au-delà de 10 min de traitement, l'hystérèse n'est plus mesurable car la valeur l'angle de contact de l'eau au retrait ne peut plus être déterminée expérimentalement ($\theta_R < 10^\circ$). Les variations relatives de l'hystérèse de mouillage du diiodométhane diffèrent significativement de celles de l'eau. L'hystérèse demeure constante dans les première minutes de traitement (~20%), puis augmente à partir de 8-10 min pour atteindre une valeur stable de l'ordre de 70% à partir de 30 min. L'importante hystérèse de mouillage de l'eau dans les premiers temps de traitement est caractéristique d'une surface chimiquement hétérogène présentant une faible fraction d'hétérogénéités hydrophiles dans une matrice hydrophobe.²² En parallèle, les variations de l'hystérèse de mouillage du diiodométhane sont quasiment nulles dans les temps courts, ce qui confirme que c'est

l'introduction de groupements polaires sur la surface hydrophobe qui est à l'origine de l'hystérèse de mouillage de l'eau.

A partir de 10 min de traitement environ, l'hystérèse de mouillage du diiodométhane augmente : le liquide est alors sensible à la croissance continue du polymère plasma, à l'origine d'hétérogénéités chimiques de deux ordres : au niveau des fractions couvertes et non-couvertes du substrat d'une part, et au sein de la fraction de polymère plasma en cours de croissance d'autre part. Pour des temps de dépôt longs, lorsque le film polymère plasma est homogène, l'hystérèse de mouillage se stabilise à une valeur liée aux hétérogénéités chimiques du film polymère plasma. Ces résultats attestent du caractère hétérogène de la surface dans les temps courts de dépôt, composée d'une matrice hydrophobe de PDMS, partiellement modifiée (SiO_x) au sein de laquelle sont introduits des groupements polaires.

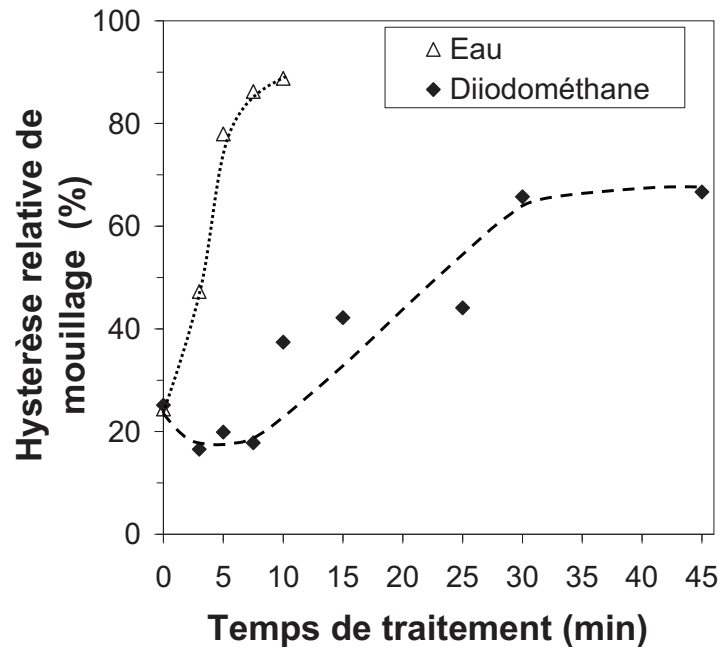


Figure 3.6 : Hystérèse de mouillage de l'eau et du diiodométhane en fonction de la durée de traitement

3.5 Mécanisme et cinétique de croissance du film

Les analyses de mouillabilité, XPS et FTIR-ATR réalisées pour différents temps de traitement nous permettent de décrire les différentes étapes de la modification de la composition chimique du substrat de PDMS en fonction du temps de traitement par polymérisation plasma. La **Figure 3.7** schématise cette évolution.

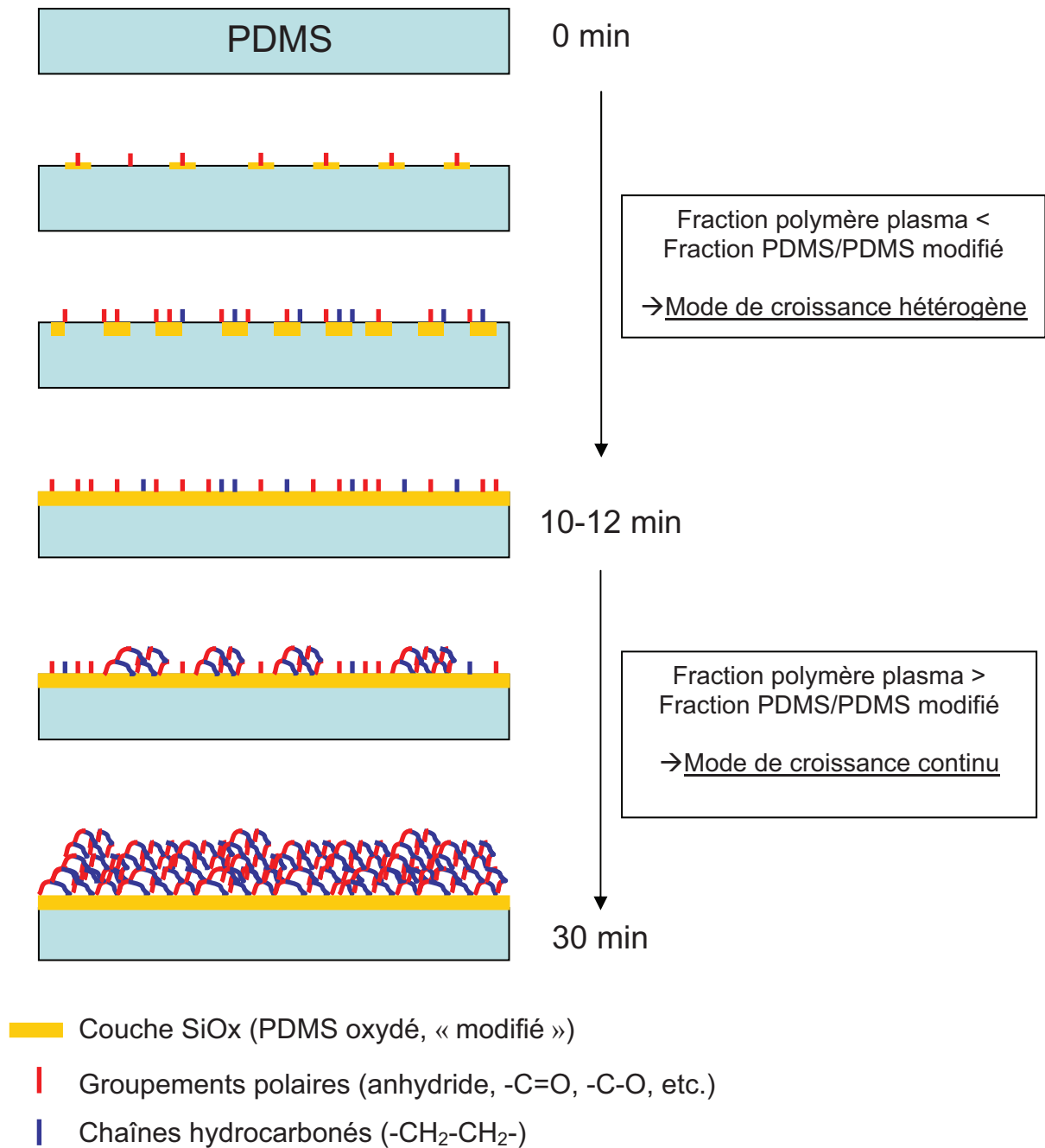


Figure 3.7 : Différentes étapes de la modification de la composition chimique de la surface du substrat de PDMS en fonction de la durée de traitement par polymérisation plasma

Dès les premières minutes de traitement, des groupements polaires, en majorité des groupements anhydride maléique, sont aléatoirement greffés sur la surface, à partir de radicaux formés sur la surface de PDMS. En parallèle, la surface de PDMS est progressivement oxydée sous la forme SiOx. La composition de la surface est hétérogène, celle-ci est constituée d'une matrice de PDMS, s'oxydant peu à peu, sur laquelle viennent se greffer des groupements polaires, évoluant vers un film polymère plasma constitué d'un

mélange réticulé de groupements polaires et de chaînes hydrocarbonées. Ce mode de croissance du polymère sur la surface est qualifié de « croissance hétérogène ». Remarquons que les techniques utilisées jusqu'à présent ne nous permettent d'évaluer ni la taille caractéristique de ces hétérogénéités chimiques, ni leur répartition sur la surface.

A partir de 10-12 min de traitement, la croissance du film polymère présente une transition. La vitesse de dépôt d'anhydride maléique augmente, tandis que la fraction de polymère plasma devient significative par rapport à la fraction de PDMS non modifié. Une part croissante des radicaux de surface est formée sur le polymère plasma en cours de croissance. On parle alors de « croissance continue ». A partir de 25-30 min de dépôt, la composition chimique de la surface se stabilise, le PDMS résiduel non modifié est faible, un film homogène et continu de polymère plasma recouvre la surface.

Rappelons que l'objectif de cette étude cinétique de la croissance du film est de déterminer des conditions de traitement par polymérisation plasma pour lesquelles le substrat ne craquèle pas sous étirement, tout en garantissant l'introduction d'une quantité suffisante de groupements anhydride à la surface. A ce stade, nous avons montré que les traitements aux temps courts conduisent au greffage aléatoire de groupements polaires dans la matrice de PDMS, partiellement oxydée. Les traitements aux temps longs conduisent à la formation d'un film polymère plasma continu et homogène. La prochaine étape de cette étude consistera en l'analyse de la cohésion des films sous élongation.

4 Cohésion des films sous étirement

Les substrats de PDMS ayant subi différents temps de traitement ont été analysés par MEB et par AFM afin de déceler la présence de craquelures sous un taux d'élongation uniaxial de 100%.

4.1 PDMS traité 30 min

4.1.1 Analyses MEB

La **Figure 4.1** présente des images MEB d'un substrat de PDMS traité 30 min par polymérisation plasma, à différents taux d'élongation. Les images montrent que la dimension et la densité des craquelures dépendent du taux d'allongement. En effet, pour un taux d'allongement de 10%, nous observons l'apparition de craquelures perpendiculaires à la direction d'élongation, dont l'espacement moyen est de l'ordre de 5 μm et la largeur de l'ordre du μm . Pour des taux d'allongement de 50% et 100%, nous observons que la densité des craquelures augmente (espacement de l'ordre du μm) tandis que leur largeur diminue (de l'ordre de quelques centaines de nanomètres) En effet, plus le taux d'allongement est

important, plus l'énergie élastique emmagasinée dans le matériau est importante. Localement, au niveau des zones fragiles du substrat, une craquelure est capable de se propager si l'énergie est supérieure à l'énergie critique de propagation de la fissure.^{23, 24} A mesure que le taux d'allongement (i.e. l'énergie emmagasinée) augmente, des zones de fragilité de plus en plus nombreuses vont être soumises à une énergie supérieure à l'énergie critique. Ceci explique l'augmentation de la densité de craquelures en fonction du taux d'allongement. Au final, comme la densité des craquelures augmente, l'allongement est réparti sur davantage de craquelures ce qui conduit à la diminution de leur largeur moyenne.

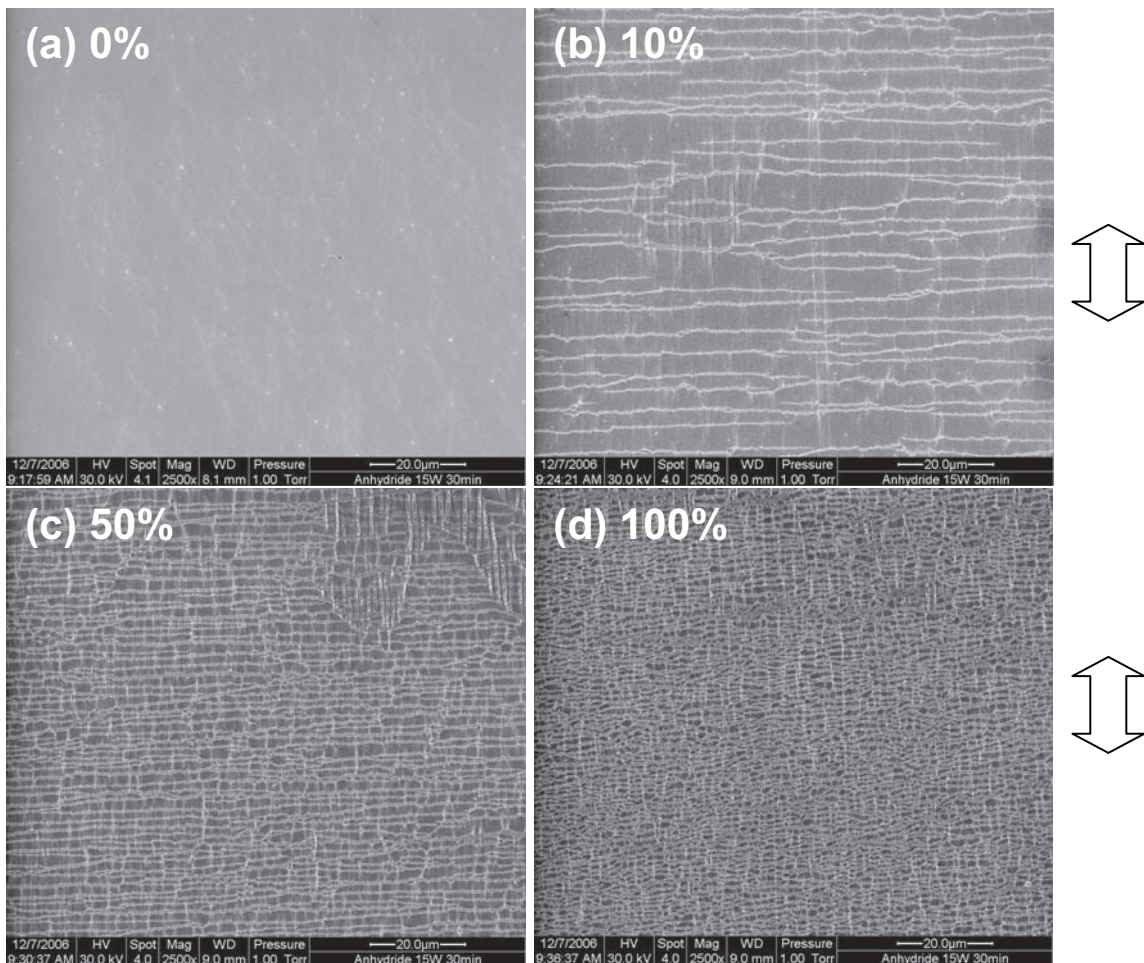


Figure 4.1: Images MEB du substrat de PDMS traité 30 min, réalisées à différents taux d'allongement uni-axial. (a) 0%, (b) 10%, (c) 50%, (d) 100%

Les images présentées Figure 4.1 ont été obtenues à un grossissement de 2500x. Pour obtenir une meilleure résolution, il serait nécessaire de concentrer davantage le faisceau d'électrons ce qui aurait pour effet de dégrader l'échantillon polymère. Une solution consiste à métalliser l'échantillon. Ainsi, un échantillon de PDMS traité 30 min métallisé après étirement a pu être imagé à haut vide à des grossissements plus importants (10 000x et

50 000x). La **Figure 4.2** montre la présence de plis orientés le long de la direction d'élongation. Cet effet, appelé « buckling », est provoqué par la différence de module élastique existant entre le substrat de silicone et l'interface modifiée, de module plus élevée.²⁵ Le relief de ces plis peut être mis en évidence en inclinant l'échantillon. Les images obtenues à haute résolution permettent également de deviner la morphologie du polymère plasma et la présence d'agglomérats de charges de silice dans les craquelures.

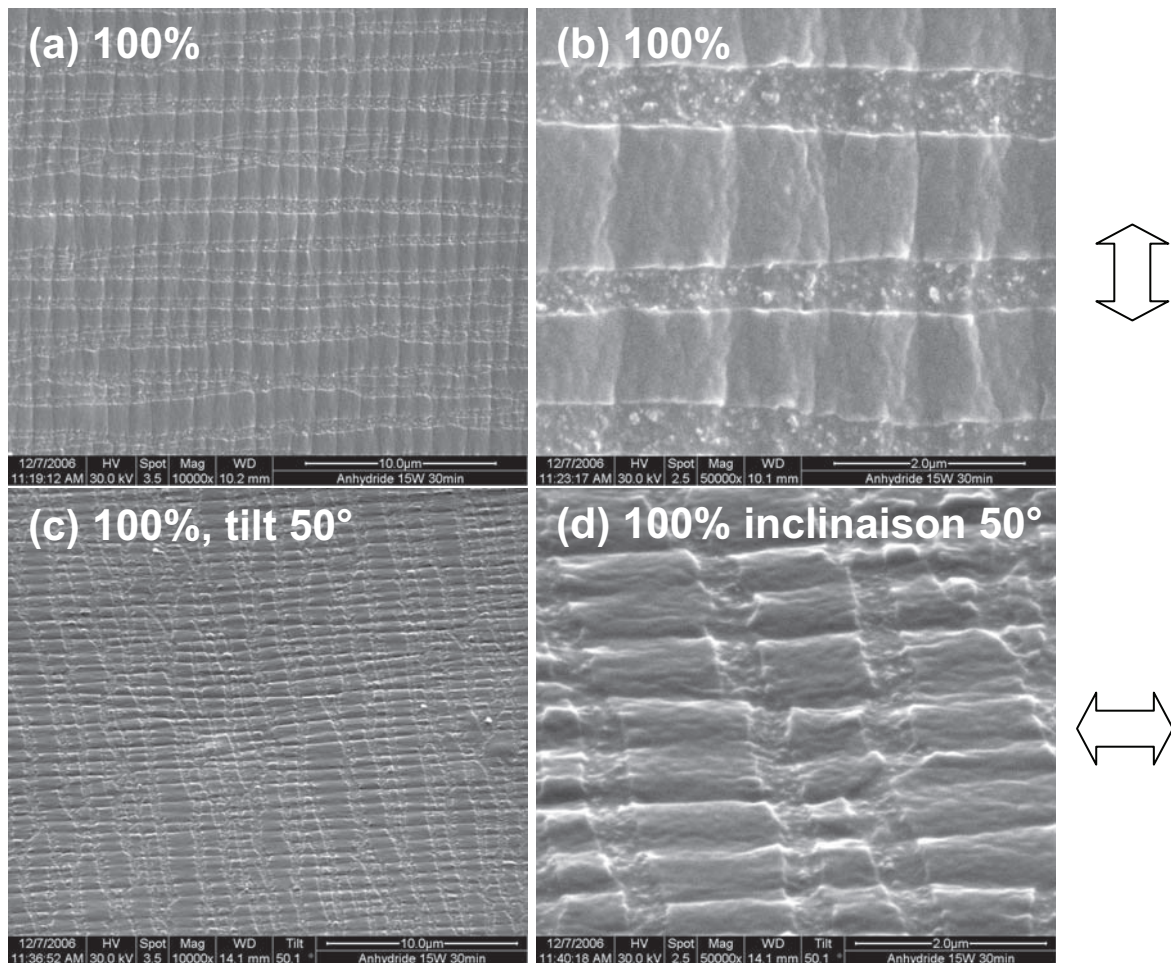


Figure 4.2 : Images de MEB du substrat de PDMS traité 30 min, réalisées à un taux d'allongement de 100%, dans des conditions de haut vide, selon différents degrés d'inclinaison de l'échantillon. (a) et (b) 0°, (c) et (d) 50°

4.1.2 Analyse AFM.

L'analyse de la surface par imagerie AFM apporte des informations complémentaires concernant la morphologie des craquelures, notamment en ce qui concerne leur profondeur. La **Figure 4.3** présente des images AFM obtenues en mode tapping, réalisées sur un échantillon de PDMS traité pendant 30 min par polymérisation plasma, sous étirement (100% d'élongation).

En plus des craquelures dans la direction perpendiculaire à la direction d'élongation, les images de topographie et de phase mettent en évidence des craquelures plus fines et moins étendues, parallèles à la direction d'élongation. Les images de haute résolution réalisées au niveau des craquelures (Figure 4.3(c) et (c')) montrent la présence d'agrégats de charges de silice («filler») du PDMS. En effet la profondeur des craquelures est de l'ordre de 100 nm (Figure 4.4), ce qui est probablement supérieur à l'épaisseur du dépôt qui est de l'ordre de quelques dizaines de nanomètres dans ces conditions (en première approximation, par analogie avec l'épaisseur du film déposé sur un substrat de silicium dans les mêmes conditions). Autrement dit, les craquelures s'étendent au-delà de la couche de polymère plasma, c'est-à-dire dans la couche de PDMS modifiée, fragilisée sous l'effet de l'irradiation du plasma. Nous observons également des « filaments de matière » orientés dans la direction d'élongation au sein de la craquelure. Ces filaments correspondent probablement à du PDMS non fragilisé, étiré à la base de la craquelure.

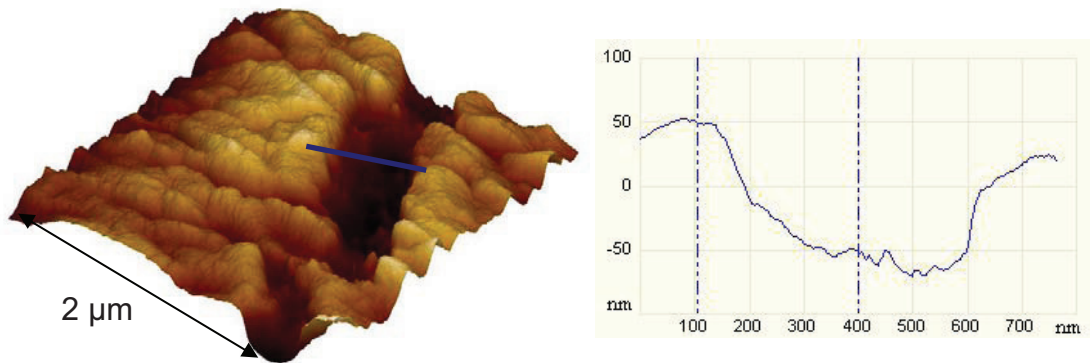


Figure 4.4 : Analyse du profil d'une craquelure (Image présentée Figure 4.3(b))

4.2 Influence du temps de traitement.

La **Figure 4.5** présente des images MEB réalisées sous étirement (100% d'élongation) sur des échantillons de PDMS traités entre 25 et 15 min. Pour les temps de traitement de 18, 20 et 25 min, nous observons des craquelures du même type que celles observées pour des traitements de 30 min. Cependant, pour des traitements inférieurs à 18 min, nous n'observons plus de craquelures par cette technique. En raison de la limitation de résolution verticale du MEB sur ce type d'échantillons (de l'ordre de quelques dizaines de nanomètres), il est nécessaire de vérifier l'absence de craquelures par AFM, technique pour laquelle la résolution verticale est de 0,1 nm.

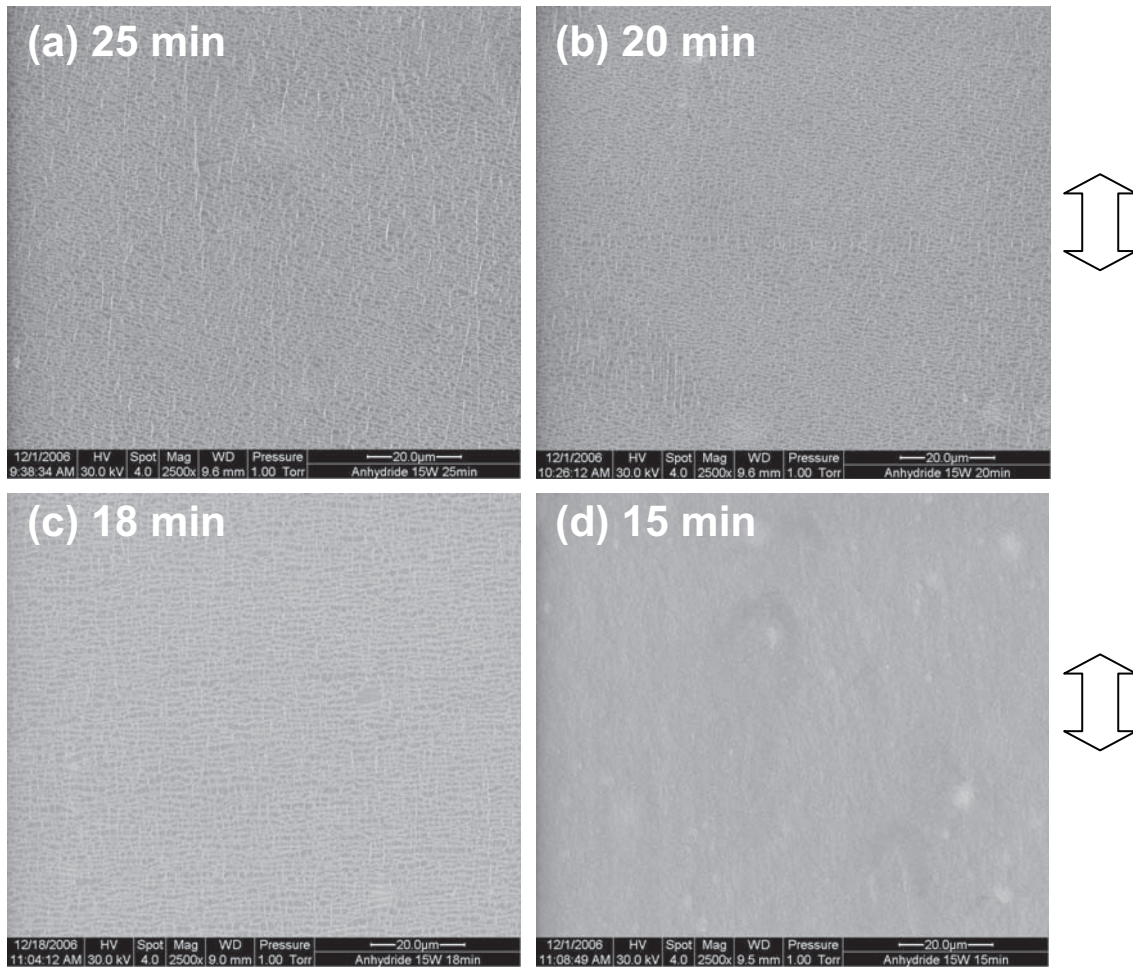


Figure 4.5: Images MEB réalisées pour un taux d'allongement uni-axial de 100% du substrat de PDMS après différents temps de traitement par polymérisation plasma. (a) 25 min, (b) 20 min, (c) 18 min, (d) 15 min

La **Figure 4.6** présente des images AFM obtenues sous étirement en mode tapping pour différents temps de traitement (30 min, 20 min, 8 min). Nous observons que la densité et la taille des craquelures diminuent lorsque le temps de traitement est réduit. Des craquelures de 100 nm de largeur, 20 nm de profondeur sont observées sur des échantillons de PDMS traités pendant 8 min, temps de traitement minimal à partir duquel des craquelures sont décelées sous étirement par AFM. Par exemple, un traitement de 6 min ne présente pas de craquelures sous élongation (Figure 4.6(d)).

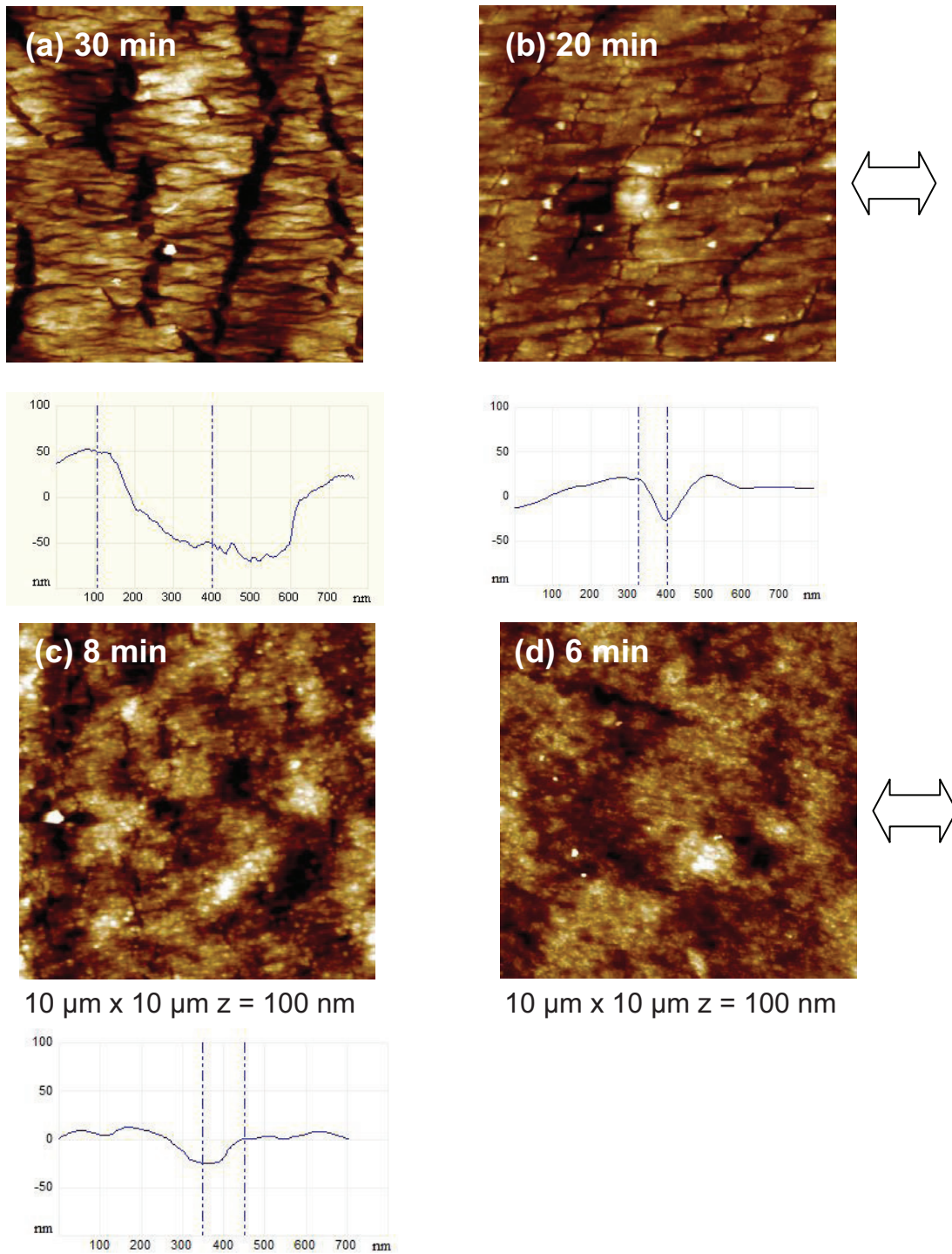


Figure 4.6: Images AFM réalisées en mode tapping, pour un taux d'allongement uni-axial de 100% de substrats de PDMS traités par polymérisation plasma à des temps variables, (a) 30 min, (b) 20 min, (c) 8 min, (d) 6 min

4.3 Choix du temps de traitement

Nous avons montré que pour des temps de traitement très courts (à partir de 2 min), la polymérisation plasma permet d'introduire des groupements d'anhydride maléique à la

surface du PDMS. En parallèle, les craquelures observées sur le substrat sous élongation, caractéristiques de la fragilisation du silicone sous l'effet du traitement énergétique, ne sont plus observées en-dessous de 8 min de traitement dans les conditions de polymérisation plasma utilisées.

Nous avons montré que pour les temps courts de traitement, la composition chimique de la surface est hétérogène. Celle-ci demeure riche en environnements type PDMS, avec des fractions croissantes de groupements anhydride et la présence de l'environnement SiO_x , lié à l'oxydation du silicone. La répartition et la densité surfacique des groupements anhydride demeurent inaccessibles à ce stade de l'étude. Il en est de même de la répartition des fractions SiO_x . Nous pouvons cependant émettre l'hypothèse que ces zones sont discontinues et de dimensions nanométriques, puisque l'analyse locale par AFM ne révèle pas la présence de fissures. Il est également difficile de déterminer si les groupements d'anhydride maléique se greffent de préférence sur des zones SiO_x ou sur des zones de PDMS non modifiées. Probablement la situation réelle correspond à un cas intermédiaire dans la mesure où l'environnement SiO_x n'est pas détecté par XPS pour un temps de traitement de 2 min, tandis que des groupements anhydride sont introduits sur la surface. On peut alors imaginer que l'écartement des groupements anhydride de surface sous l'effet de l'élongation du substrat peut se produire à différentes échelles :

- Dans les zones non oxydées, les groupements s'écartent les uns des autres suivant la direction d'élongation.
- Dans les zones oxydées, les groupements ne s'éloignent pas mais ce sont les zones oxydées qui s'éloignent les unes des autres.

Pour la suite de l'étude, nous avons fixé le temps de traitement à 6 min. Dans la partie suivante, nous caractériserons de manière détaillée les substrats de PDMS traités dans ces conditions. En particulier, nous étudierons les substrats après leur hydrolyse dans l'eau, car leur conditionnement, leur fonctionnalisation et l'étude de leurs propriétés finales seront réalisées en milieux aqueux.

5 Substrat de PDMS traité 6 min

5.1 Hydrolyse

5.1.1 Généralités

L'hydrolyse des groupements anhydride conduit à la formation d'acide dicarboxylique ou acide maléique, comme le montre la **Figure 5.1** décrivant l'ouverture du cycle par une molécule d'eau. L'hydrolyse de films polymère plasma d'anhydride maléique déposés sur

une surface peut être réalisée à l'air²⁶ ou par immersion des échantillons dans l'eau. L'immersion des films dans une solution basique permet également d'accélérer ce processus.

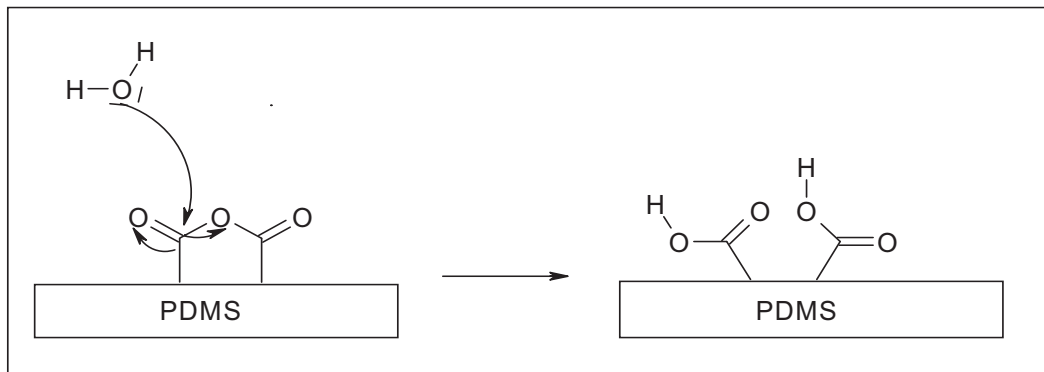


Figure 5.1 : Mécanisme d'hydrolyse des groupements anhydride

Förch et al^{27,28} ont montré que l'immersion de films polymère plasma d'anhydride maléique déposés sur des substrats de silicium conduit à un gonflement des films se manifestant par une augmentation de leur épaisseur optique. Le gonflement est lié à l'état de réticulation (i.e. conditions de dépôt) des films. Les films faiblement réticulés gonflent d'avantage que les films fortement réticulés. De plus, le gonflement augmente également avec la concentration en sel et le pH de la solution. La **Figure 5.2** schématise une structure probable d'un film polymère plasma d'anhydride maléique en solution aqueuse.

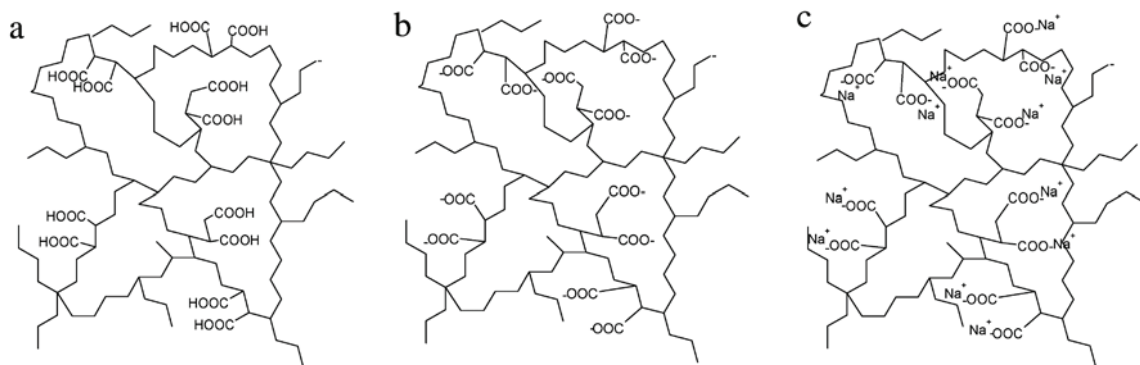


Figure 5.2 : Hypothèse de structure d'un film polymère plasma d'anhydride maléique en solution aqueuse (a) Etat compact avec association de groupements $-COOH$ à faible pH, (b) Etat gonflé avec dissociation des groupements $COOH$ à pH élevé, (c) Incorporation de contre ions Na^+ dans le réseau polymère (d'après la référence 28)

Remarquons que la stabilité du film est fortement liée à la nature chimique du substrat. Par exemple, des films polymère plasma déposés sur des substrats de polyéthylène²⁹

délaient en milieu aqueux dans des conditions de concentration en sel et de pH élevé. Le phénomène de gonflement des films est à l'origine de contraintes conduisant à leur séparation du substrat lorsque la résistance interfaciale n'est pas suffisante. Par analogie, les travaux de Gent et al³⁰ portant sur le gonflement de films élastomères sur un substrat montrent que le détachement des films se produit lorsque l'énergie élastique emmagasinée dans le film est supérieure à l'énergie interfaciale entre le film et le substrat. Par conséquent, il est parfois nécessaire de modifier chimiquement le substrat préalablement au dépôt du polymère plasma en introduisant une sous-couche d'accroche sur laquelle le film adhère en milieu aqueux.³¹ Dans les conditions de dépôt utilisées dans cette étude, les films déposés sur des wafers de silicium tendent à se séparer du substrat dans des conditions de pH et de concentration en sel élevées. Le prétraitement des wafers de silicium par le dépôt d'une monocouche de diènes permet d'augmenter l'adhésion interfaciale des films, qui sont alors stables quelles que soient les conditions de concentration en sel et de pH.³² Ainsi, nous avons pu mettre en évidence les effets de l'hydrolyse sur la morphologie de films de 6 min déposés sur un wafer de silicium. Les **Figure 5.3(a)** et **Figure 5.3(b)** présentent les images AFM d'un dépôt polymère plasma, respectivement avant et après hydrolyse dans l'eau. Nous observons que la rugosité du film augmente après hydrolyse, ce qui traduit le gonflement de la structure du film polymère plasma. Remarquons que les images sont réalisées à l'air ce qui indique qu'au moins une partie des changements de morphologie du film liés à son gonflement dans l'eau est conservée après séchage sous flux d'azote. Si les effets de l'hydrolyse de films polymère plasma de faible épaisseur déposés sur un wafer de silicium peuvent être mis en évidence par AFM ou par des méthodes optiques par réflexion telles que l'ellipsométrie ou le guide d'onde optique, de faibles modifications d'épaisseur ou de rugosité sont très difficiles à mettre en évidence sur des substrats de PDMS, en raison de leur nature polymère et de leur rugosité. Dans la suite, nous nous intéresserons aux propriétés des substrats de PDMS traités 6 min par polymérisation plasma, puis hydrolysés. En particulier, nous évaluerons l'effet de l'hydrolyse sur la composition du film et analyserons en détail la morphologie de la surface.

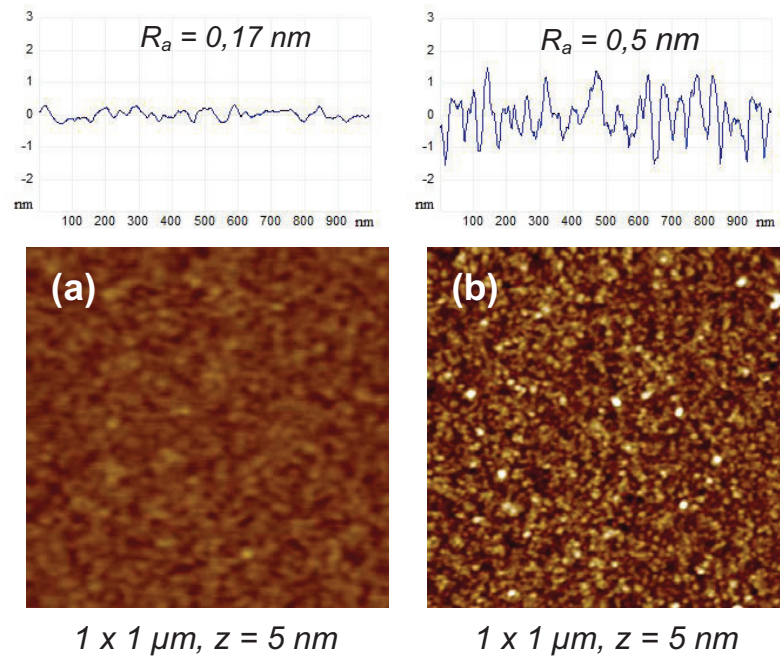


Figure 5.3 : Images AFM réalisées en mode tapping d'un substrat de silicium traité par polymérisation plasma (a) Avant hydrolyse, (b) Après hydrolyse

5.1.2 Analyse FTIR-ATR.

Nous avons montré qu'un traitement de 6 min d'un substrat de PDMS par polymérisation plasma permet d'introduire des groupements d'anhydride maléique à la surface. L'hydrolyse de l'anhydride maléique conduit à la formation d'acide dicarboxylique ou acide maléique. La **Figure 5.4** présente les spectres FTIR obtenus en mode ATR sur des échantillons de PDMS traités 6 min avant et après hydrolyse du film dans l'eau pendant 12 heures.

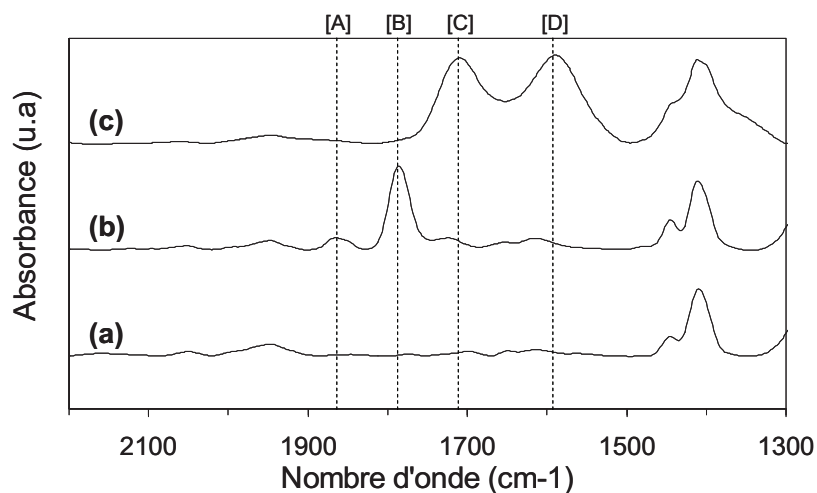


Figure 5.4. Spectres FTIR-ATR. (a) PDMS non traité. (b) PDMS traité par polymérisation plasma de l'anhydride maléique. (c) PDMS traité par polymérisation plasma puis hydrolysé dans l'eau pendant 12 heures

Le spectre d'un échantillon de PDMS obtenu immédiatement après le traitement (figure b) montre la présence des bandes C=O caractéristiques de l'anhydride maléique à 1860 cm^{-1} (élongation C=O asymétrique [A]) et 1780 cm^{-1} (élongation C=O symétrique [B]). Après hydrolyse, nous observons la disparition des bandes de l'anhydride maléique et l'apparition de bandes C=O caractéristiques des acides carboxyliques et des formes ionisées carboxylates à 1710 cm^{-1} [C] et 1590 cm^{-1} [D] respectivement.

5.1.3 Analyse XPS

Le **Tableau 5.1** décrit la composition atomique obtenue à partir des spectres XPS de survol réalisés sur les films avant et après hydrolyse. La composition atomique ne varie pas significativement sous l'effet de l'hydrolyse, nous observons une légère augmentation de la concentration en oxygène, probablement liée à l'hydrolyse des groupements d'anhydride maléique (ajout d'une molécule d'eau par groupement anhydride).

| Composition atomique (%) | | | |
|--------------------------|------|------|------|
| | % C | % O | % Si |
| PDMS/PP6min | 53,6 | 22,2 | 24,2 |
| PDMS/PP6min hydro | 53,5 | 24,2 | 22,3 |

Tableau 5.1 : Compositions atomiques du film avant et après hydrolyse, déterminées à partir des spectres XPS de survol

La **Figure 5.5** présente les spectres XPS C1s de substrats de PDMS traités 6 min par polymérisation plasma, non hydrolysé (Figure 5.5 (a)) et après hydrolyse dans l'eau (Figure 5.5 (b)). La décomposition spectrale présentée **Tableau 5.2** indique que la composante correspondant aux groupements anhydride située à $289,3\text{ eV}$ est décalée vers une valeur plus faible après hydrolyse, située à 289 eV . Cette énergie de liaison est attribuée aux groupements acides carboxyliques formés lors de l'hydrolyse du film. Ce résultat confirme les résultats obtenus par FTIR-ATR.

Les autres composantes de l'enveloppe C1s ne montrent pas de déplacement d'énergie de liaison et les contributions de chaque composante ne varient pas significativement au cours de l'hydrolyse.

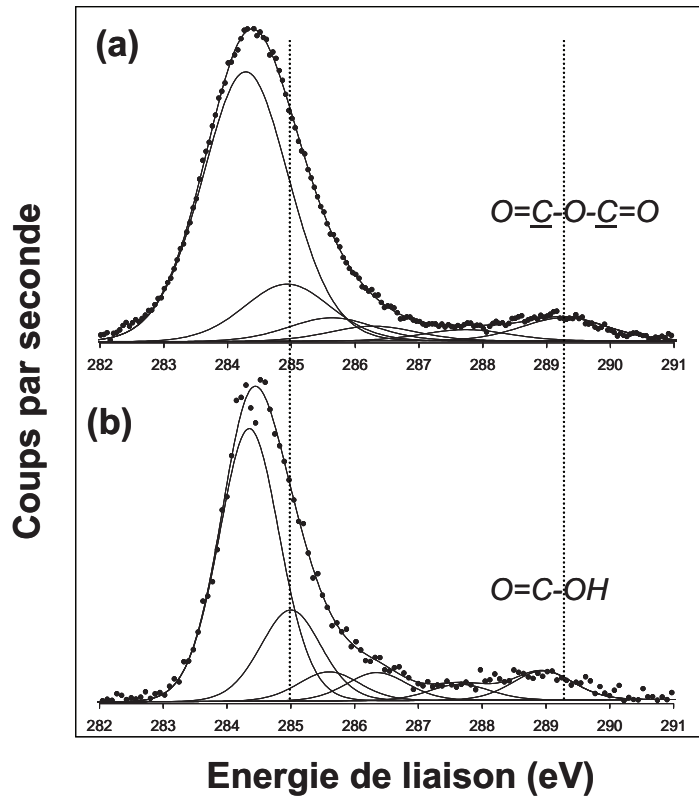


Figure 5.5 : Enveloppes C(1s) de l'analyse XPS d'un dépôt (6min) de polymère plasma (a) avant hydrolyse, (b) après hydrolyse dans l'eau

| C(1s) | Composante | PDMS/PP6min | | PDMS/PP6min hydro | |
|-------|---------------------|--------------|------------|-------------------|------------|
| | | Energie (eV) | % Atomique | Energie (eV) | % Atomique |
| | C-Si | 284,3 | 67,6 | 284,3 | 58,5 |
| | C-C | 285 | 14,3 | 285 | 19,5 |
| | C-C(O)=O | 285,6 | 5,8 | 285,6 | 6,2 |
| | C-O | 286,3 | 3,7 | 286,3 | 6 |
| | O-C-O/C=O | 287,7 | 2,8 | 287,7 | 3,4 |
| | O=C-O-C=O / -C(O)=O | 289,3 | 5,8 | 289 | 6,2 |

Tableau 5.2 : Composantes de l'enveloppe C(1s) déduites des analyses XPS de dépôts polymère plasma avant et après hydrolyse

L'ensemble de ces résultats indique que l'effet principal de l'immersion du film dans l'eau est d'induire la formation de groupements diacides carboxyliques par l'ouverture des groupements anhydride maléique. Par ailleurs, la composition du film ne varie pas significativement, ce qui indique que le film n'est pas altéré et que les éventuels effets de lavage sont négligeables. En conséquence, le film polymère plasma est stable dans l'eau. Nous avons également vérifié la stabilité de la composition chimique du film ayant subi des étapes de rinçage en alternant des solutions de KCl 1M à pH faible et à pH élevé.

5.1.4 Mouillabilité

L'angle de contact à l'avancée de l'eau sur une surface de PDMS traitée 6 min par polymérisation plasma est de $108 \pm 2^\circ$. Après hydrolyse du film, celui-ci est de l'ordre de $100 \pm 2^\circ$. En parallèle, les angles de contact des liquides purement dispersifs ne changent pas après l'hydrolyse du film. Qualitativement cette différence est due à la plus grande affinité de l'eau pour les groupements acides comparativement aux anhydrides. En effet, il existe un nombre plus important de possibilités d'interactions de type donneur-accepteur d'électrons entre l'eau et les groupements acides (interactions acide-base de Lewis) De plus, ces groupements sont ionisables et les liaisons hydrogène de type ionique avec des espèces chargées sont plus fortes que les liaisons hydrogène entre espèces neutres. Il en résulte une diminution de l'énergie interfaciale entre l'eau et la surface. Ainsi, dans sa globalité, le travail d'adhésion solide-eau augmente après hydrolyse, ce qui indique qu'un film hydrolysé augmentera son affinité pour des systèmes (molécules, macromolécules, substrats, etc...) capables d'interagir par liaison hydrogène.

Remarque : Cette tendance est vérifiée pour l'ensemble des temps de dépôt : La **Figure 5.6** présente les composantes dispersives et non-dispersives du travail d'adhésion solide-eau des substrats traités à différents temps, puis hydrolysés. Quel que soit le temps de traitement, les valeurs des composantes dispersives des substrats traités et non traités sont similaires, tandis qu'à partir de 3-5 min de traitement, la composante polaire du travail d'adhésion est plus importante sur les films hydrolysés. En parallèle, la composante dispersive du travail d'adhésion ne change pas après hydrolyse, quel que soit le temps de traitement.

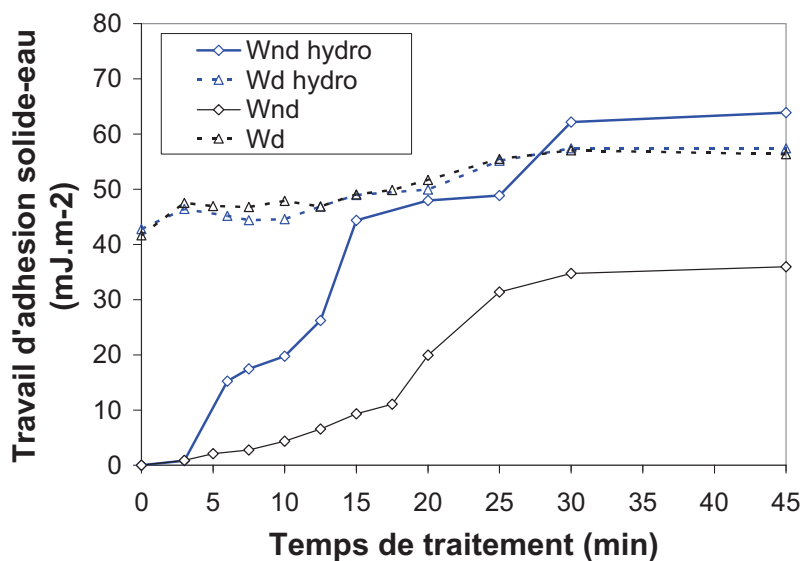


Figure 5.6 : Effet de l'hydrolyse sur les valeurs des composantes du travail d'adhésion solide-eau en fonction du temps de traitement par polymérisation plasma

5.1.5 Stabilité des films

La recouvrance d'hydrophobicité (« hydrophobic recovery ») est un problème couramment rencontré lors des traitements du silicone par des procédés physiques (décharge corona,³³ plasma oxygène,⁷ plasma air,³⁴ etc.). Ce phénomène se manifeste expérimentalement par une augmentation de l'angle de contact de l'eau mesuré sur les substrats au cours du temps, sur des périodes de l'ordre de quelques heures à quelques semaines, suivant la nature du silicone et du traitement de surface. Ces phénomènes sont généralement attribués à des phénomènes de réorientation des groupements de surface et à la migration de chaînes de silicone de faible masse vers la surface au cours du temps.⁷ Hilborg et al³⁵ ont montré que la recouvrance d'hydrophobicité est accélérée lorsque le substrat est soumis à une contrainte mécanique faible (10%), les craquelures formées au niveau de l'interface SiO_x fragile favorisent alors la migration des chaînes hydrophobes vers la surface. Enfin, les travaux d'Owen et al³³ indiquent que ce sont principalement les chaînes de faible masse formées lors de l'irradiation du silicone qui sont à l'origine de la recouvrance d'hydrophobicité (Figure 5.7).

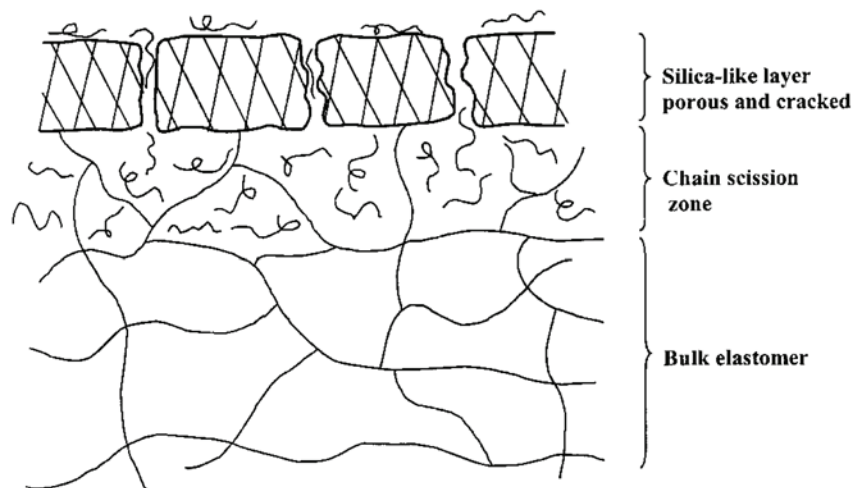


Figure 5.7 : Schéma présentant les diverses zones résultant du traitement d'un élastomère de silicone par une décharge électrique (d'après la référence 33)

En général, la recouvrance d'hydrophobicité est accélérée par augmentation de la température (mécanisme de diffusion activé thermiquement).³³ Le phénomène est ralenti en conservant les échantillons dans l'eau,³⁴ voir éliminé en fonctionnalisant le substrat traité avec une couche « barrière » par salinisation^{36,37} ou par adsorption de polyélectrolytes.³⁸

La **Figure 5.8** présente l'évolution de l'angle de contact à l'avancée de l'eau en fonction du temps de conservation des films dans différents milieux.

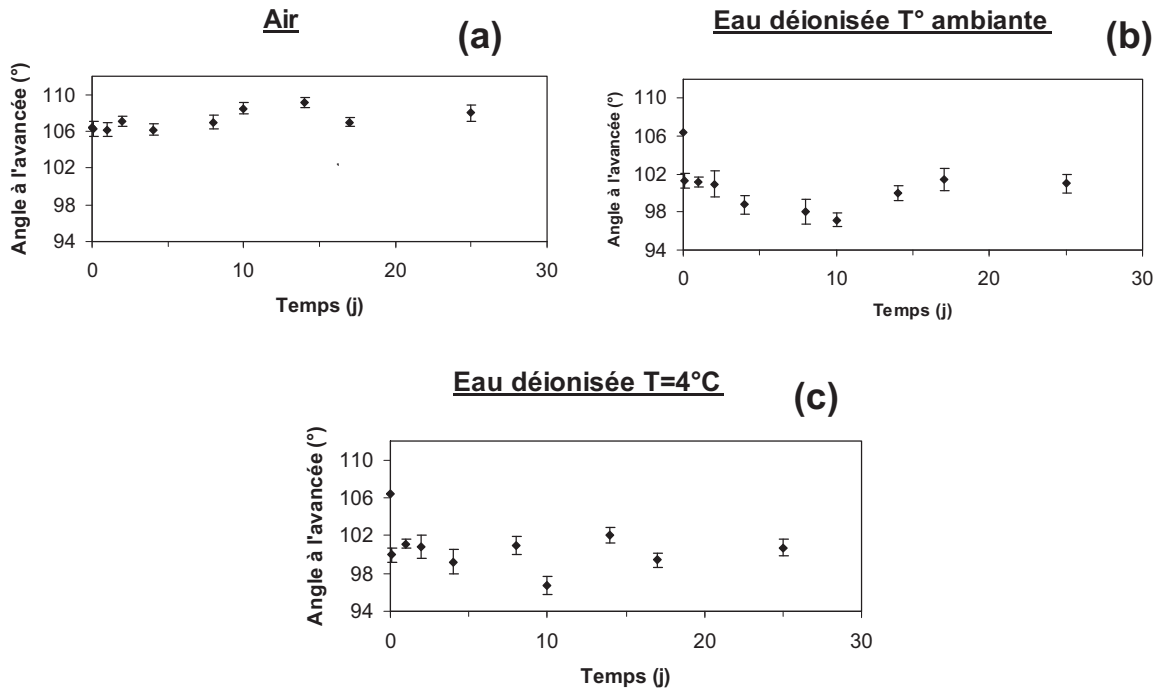


Figure 5.8 : Stabilités des substrats de PDMS traités 6 min en fonction du temps et du milieu de conservation (a) Air ; (b) Eau déionisée (pH ~5), T° ambiante ; (c) Eau déionisée, T=4°C

Les films conservés à l'air et à température ambiante (Figure 5.8 (a)) ne présentent pas d'évolution significative de l'angle de contact en fonction du temps de conservation, sur une période de 25 jours. Les films conservés dans l'eau déionisée à température ambiante (Figure 5.8 (b)) présentent une diminution de l'angle de contact de 106° à 100° pendant les premières 24h, liée à l'hydrolyse du film. L'angle de contact demeure ensuite stable en fonction du temps de conservation des films. Il en est de même lorsque les films sont conservés dans l'eau à 4°C Figure 5.8 (c). Ces résultats montrent que les films sont stables pendant au moins 25 jours, et que leur hydrolyse à l'air est très lente, ce qui est probablement lié à l'environnement hydrophobe des groupements anhydride du film dans ces conditions. La stabilité des films peut être attribuée à l'effet « barrière » du traitement plasma, à la fois par la surréticulation du substrat et par le dépôt d'un film mince polymère. L'absence de craquelures dans ces conditions de traitement de courte durée est également un facteur permettant d'expliquer la stabilité des films. En modifiant des substrats de PDMS par polymérisation plasma de l'acide acrylique, V. Barber et al³⁹ ont également obtenus des substrats de PDMS montrant une surface hydrophile stable pendant plusieurs jours.

Cette propriété de stabilité des films est intéressante dans la mesure où ceux-ci peuvent être utilisés plusieurs jours après leur préparation, car les groupements acides carboxyliques sont généralement réputés pour conserver leur réactivité chimique dans ce laps de temps (contrairement aux amines qui ont tendance à s'oxyder).⁴⁰

D'après ces résultats et pour la suite de ce travail, les substrats de PDMS traités 6 min par polymérisation plasma seront conservés dans l'eau déionisée à 4°C et utilisés au cours des 3 semaines suivantes.

5.2 Morphologie

5.2.1 Substrats relaxés

5.2.1.1 PDMS non traité

La **Figure 5.9** présente les images AFM obtenues en « soft tapping » (Figure 5.9(a) et Figure 5.9(a')) et en « hard tapping » (Figure 5.9(b) et Figure 5.9(b')) dans la même zone d'un échantillon de PDMS non traité. Les profils des images de topographie obtenues en soft tapping et en hard tapping diffèrent : la rugosité moyenne apparente de l'échantillon est plus élevée en hard tapping ($R_a = 21,4$ nm) qu'en soft tapping ($R_a = 16,2$ nm). Cet écart est lié à la différence de taux d'appui de la pointe au contact de l'échantillon dans les deux conditions : en hard tapping l'amplitude élevée des oscillations permet à la pointe de s'enfoncer d'avantage dans les parties molles de l'échantillon, riches en polymère. Les zones dures correspondent à des zones riches en charges inorganiques de silice.

En parallèle, l'image de phase obtenue en hard tapping montre un fort contraste : les charges apparaissent en clair tandis que les zones sombres correspondent au polymère. En soft tapping, le contraste de phase est inversé et moins prononcé : les interactions pointe-surface ne sont pas suffisantes pour révéler la présence des charges au sein de la matrice polymère. L'épaisseur de la couche de polymère recouvrant les particules de silice les plus proches de la surface est difficile à déterminer mais doit probablement être de l'ordre de quelques nanomètres. Notons que le diamètre des charges est de l'ordre de 50-100 nm, celle-ci sont généralement réparties en agglomérats dont la taille varie de 200 à 600 nm en moyenne.

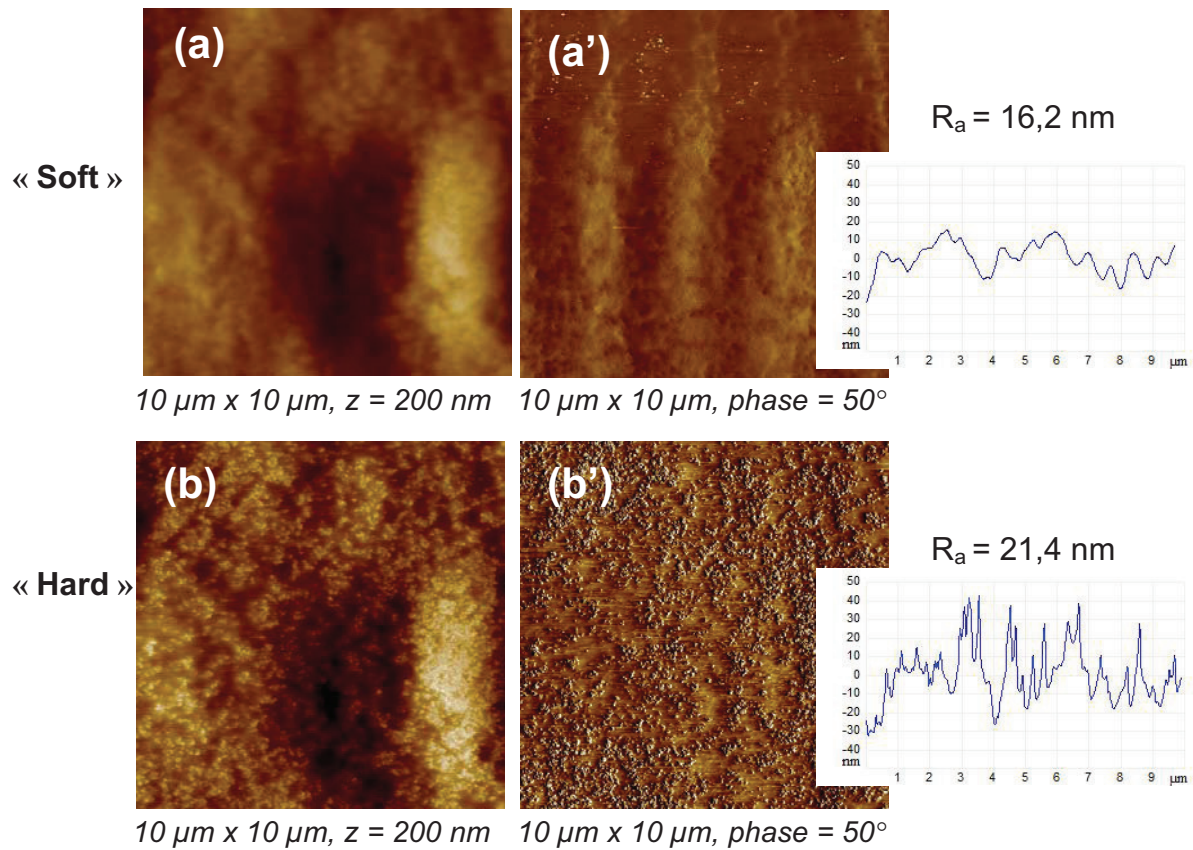


Figure 5.9 : Images AFM réalisées en mode tapping d'un échantillon de PDMS non traité. « Soft tapping », (a) Hauteur, (a') Phase; « Hard tapping », (b) Hauteur, (b') Phase. Les sections et les rugosités moyennes R_a déterminées à partir des images de profil sont également représentées pour chaque condition d'imagerie

Indiquons ici que dans leurs travaux, Clément et al.¹⁸ ont observé des contrastes de phase à l'opposé de nos résultats : dans les conditions de hard tapping les charges apparaissent en clair tandis qu'en soft tapping les charges apparaissent en sombre. Ces différences sont probablement liées au fait que ces auteurs ont utilisé des leviers de faible constante de raideur, le contraste de phase étant alors gouverné par les zones molles en hard tapping. En effet, la **Figure 5.10** présente les contrastes de phase inverses obtenus dans des conditions de hard tapping sur une surface de PDMS non traité, à l'aide d'une pointe de constante de raideur faible de 5 N.m^{-1} (Figure 5.10(a)) et d'une pointe de constante de raideur élevée de 48 N.m^{-1} (Figure 5.10(b)). Remarquons également que la rugosité apparente du substrat est plus faible ($R_a = 4 \text{ nm}$) lorsqu'elle est évaluée à partir des images réalisées avec un levier de constante de raideur faible, comparativement à l'utilisation du levier de constante de raideur élevée ($R_a = 14,6 \text{ nm}$). Dans la suite, nous étudierons la morphologie des surfaces de PDMS traitées en utilisant un levier de constante de raideur élevée afin d'augmenter la résolution latérale des images, en particulier au niveau du

contraste de phase. Par conséquent, les changements de rugosité apparente observés dans ces conditions seront uniquement qualitatifs. L'imagerie de la surface en mode contact, en milieu liquide nous permettra d'estimer la rugosité réelle des surfaces.

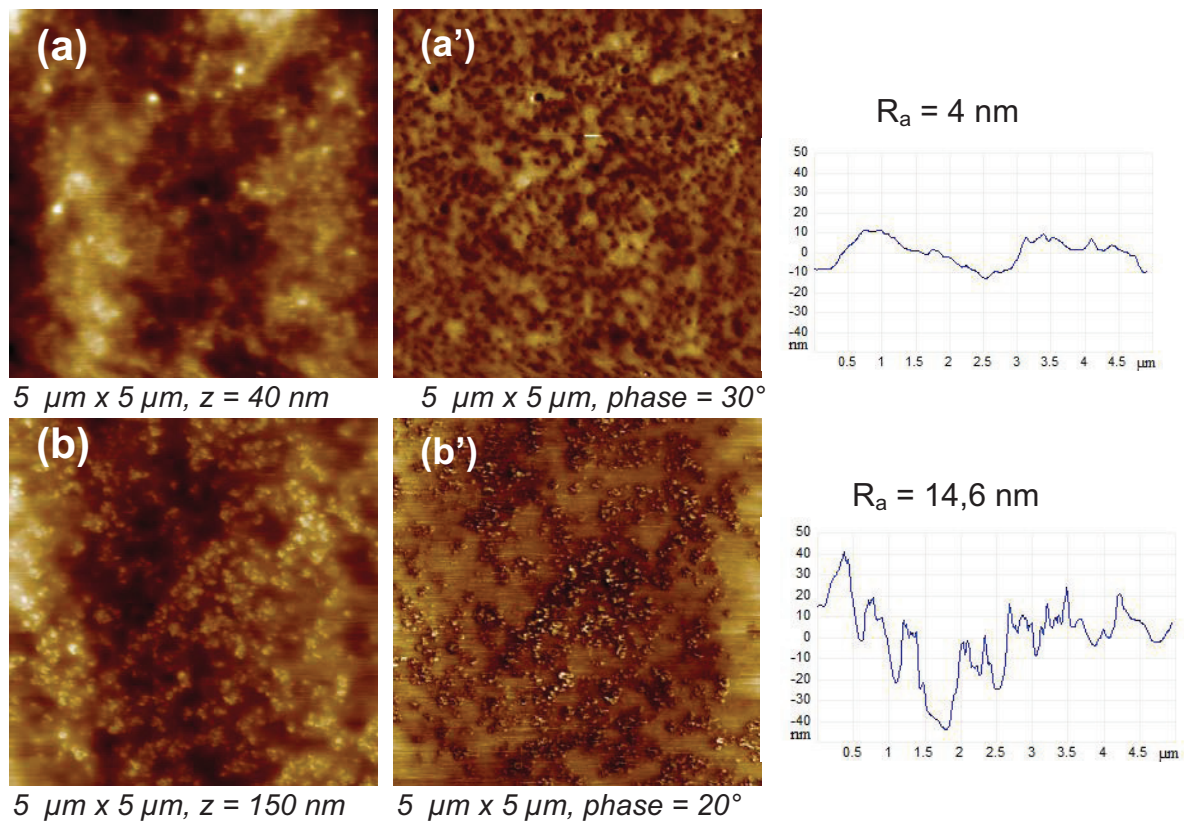


Figure 5.10 : Images AFM réalisées en « hard tapping » d'un échantillon de PDMS non traité, à l'aide d'un levier de constante de raideur faible (5 N.m^{-1}) (a) hauteur, (a') phase et de constante de raideur élevée (48 N.m^{-1}) (b) hauteur, (b') phase

5.2.1.2 PDMS traité 6 min, hydrolysé

La Figure 5.11 présente les images AFM obtenues en « soft tapping » (Figure 5.11 (a) et Figure 5.11(a')) et en « hard tapping » (Figure 5.11(b) et Figure 5.11(b')) dans la même zone d'un échantillon de PDMS traité 6 min puis hydrolysé. Nous remarquons que les rugosités moyennes apparentes de la surface de PDMS traité mesurées à partir des images réalisées en soft et en hard tapping sont plus faibles que les rugosités correspondantes mesurées sur le PDMS non traité. Comme dans le cas du PDMS non traité, la rugosité moyenne apparente est plus faible en soft tapping ($R_a = 5,5 \text{ nm}$) qu'en hard tapping ($R_a = 8,1 \text{ nm}$). Nous attribuons les différences de rugosité apparente entre les substrats traités et non traités à la surréticulation du PDMS sous l'effet du traitement par polymérisation plasma. Ainsi, à taux d'appui comparables, la pointe AFM s'enfonce moins dans les zones riches en polymère lorsque le substrat est traité par rapport à un échantillon non traité. Il en résulte

une diminution de la rugosité apparente du substrat. Dans le même sens, nous remarquons également qu'une partie des charges inorganiques sont révélées en soft tapping (Figure 5.11(a')), alors que celles-ci ne sont pas révélées sur un substrat de PDMS non traité analysé dans des conditions similaires (Figure 5.9(a')). Cet effet peut être attribué au durcissement de la surface mais également à une diminution de l'épaisseur de polymère recouvrant les charges induite par l'ablation de la surface pendant la première phase du dépôt. Il est cependant extrêmement difficile d'évaluer l'importance relative des différents phénomènes associés au traitement du PDMS par polymérisation plasma : ablation, surréticulation et dépôt d'une couche organique. Dans tous les cas, à l'échelle micrométrique, la rugosité du substrat de PDMS traité 6 min est majoritairement liée à la présence des charges. La rugosité réelle ne peut pas être évaluée dans ces conditions car elle dépend à la fois du taux d'appui et de la rigidité locale de la surface. Afin de déterminer d'éventuelles modifications de la surface liées au traitement par plasma, il est nécessaire de réaliser des images de petite taille dans des zones de la surface riches en polymère, ne comportant pas de charges.

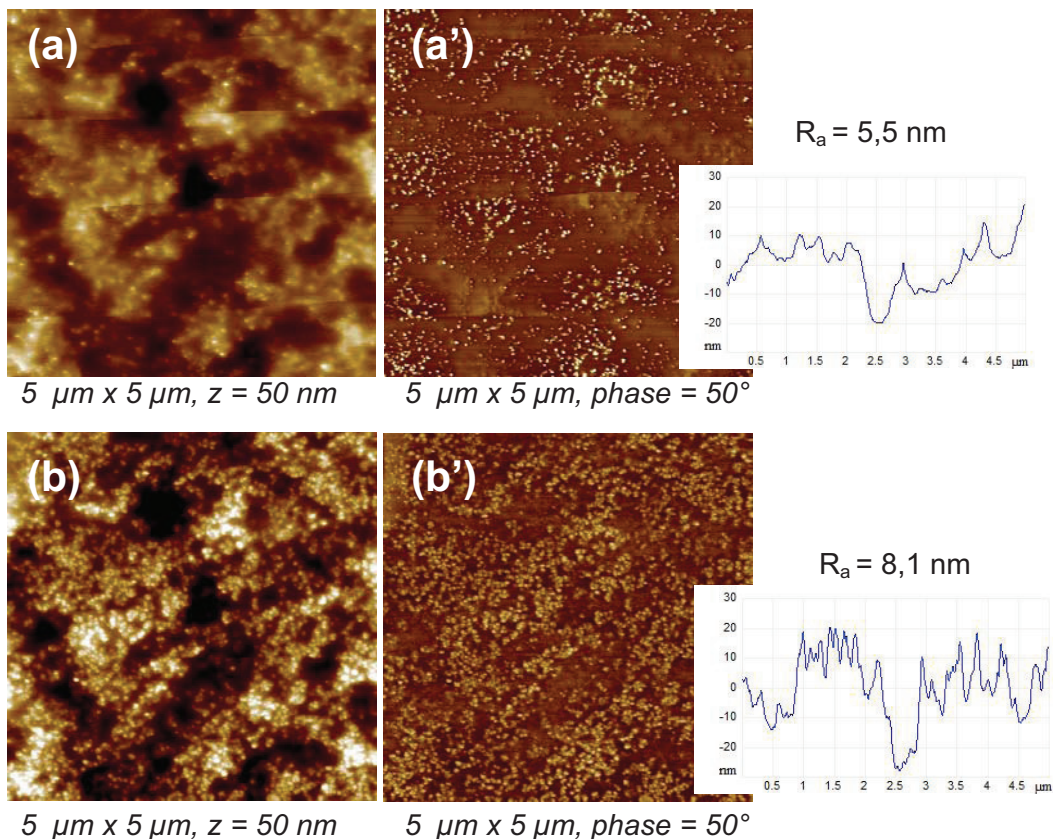


Figure 5.11: Images AFM en mode tapping d'un échantillon de PDMS traité 6 min. « Soft tapping », (a) Hauteur, (a') Phase; « Hard tapping », (b) Hauteur, (b') Phase. Les sections et les rugosités moyennes R_a déterminées à partir des images de profil sont également représentées pour chaque condition d'imagerie

La **Figure 5.12** présente les images AFM réalisées en « hard tapping » d'un échantillon de PDMS traité 6 min puis hydrolysé. Les Figure 5.12(b) et Figure 5.12(b') représentent les images de hauteur et de phase réalisées avec une résolution latérale de 500 nm x 500 nm dans une zone de la surface ne comportant pas de charges (zones encadrées Figure 5.12(a) et Figure 5.12(a')). La Figure 5.12(b') indique deux types de contrastes de phase : Les zones les plus claires, dont les dimensions latérales sont supérieures à 50 nm, sont attribuées aux charges tandis que des éléments moins contrastés présentent un diamètre de l'ordre de 20 nm. Ce contraste intermédiaire n'apparaissant pas pour un échantillon de PDMS non traité, nous pouvons attribuer son origine au traitement plasma. Ces éléments peuvent correspondre à des zones d'oxydation et de surréticulation du PDMS ou à des îlots correspondant au dépôt polymère plasma contrastant avec du PDMS non modifié. Probablement ces zones correspondent elles à un cas intermédiaire : des zones de PDMS irradiées, surréticulées, sur lesquelles un film polymère plasma a commencé à croître.

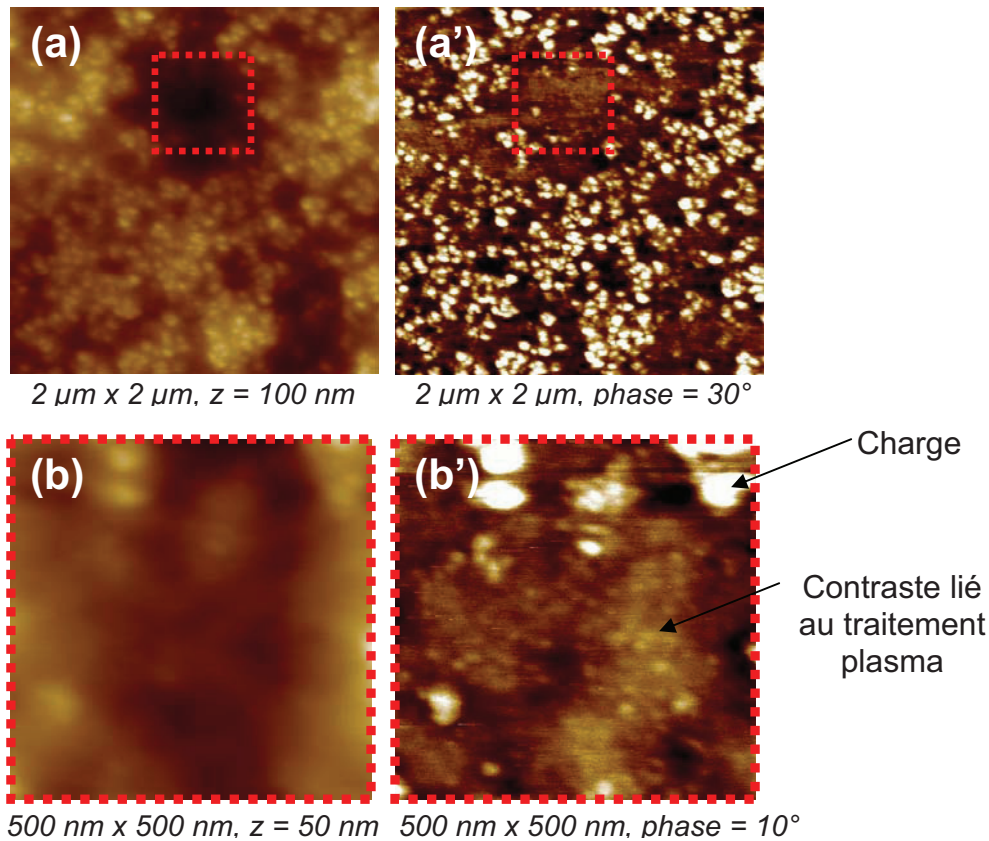


Figure 5.12 : Images AFM obtenues en « hard tapping » d'un échantillon de PDMS traité 6min. Image $2 \mu\text{m} \times 2 \mu\text{m}$ (a) Hauteur, (a') ; Image $500 \text{ nm} \times 500 \text{ nm}$ (b) Hauteur, (b') Phase

A titre de comparaison, la **Figure 5.13** présente la morphologie d'un dépôt de 6 min sur un wafer de silicium. La rugosité moyenne est très faible ($R_a = 0,46 \text{ nm}$). Le polymère plasma montre une morphologie nodulaire, dont les dimensions latérales (diamètre) sont de

l'ordre de 20 nm, ce qui est comparable aux dimensions des nodules observés sur le PDMS traité dans les mêmes conditions.

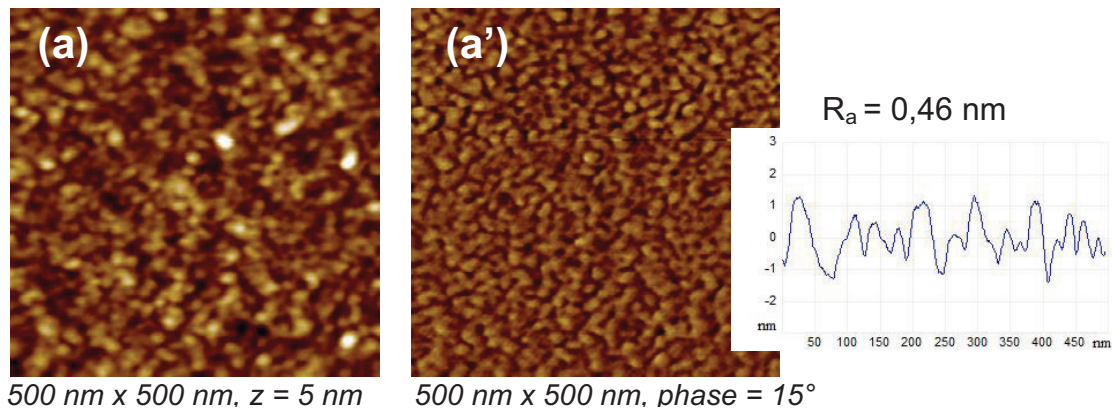


Figure 5.13: Images AFM d'un wafer de silicium traité 6 min puis hydrolysé
(a) Hauteur, (a') Phase

Nous avons vu que dans ces conditions, l'estimation de la rugosité réelle de l'échantillon est complexe car la rugosité apparente mesurée n'est pas indépendante des conditions de mesure et des variations locales de rigidité de la surface. Dans le but d'approcher la rugosité réelle de l'échantillon, nous avons analysé la surface en mode contact, en milieu liquide, dans des conditions où les interactions pointe-surface sont minimales. Les mesures de topographie ainsi obtenues pourront être couplées aux contrastes de phase obtenus en hard tapping.

5.2.1.3 Imagerie en mode contact, en milieu liquide

En général, l'imagerie d'une surface polymère en mode contact est moins performante qu'en mode tapping. En mode contact, la pointe touche constamment la surface : si les forces d'attraction et d'adhésion entre la pointe et la surface sont élevées, il est difficile de suivre la topographie de la surface en maintenant une force constante et par conséquent la résolution latérale des images n'est pas satisfaisante. Cependant, un moyen de réduire les interactions pointe-surface est de réaliser les images dans un liquide permettant de réduire les interactions et de fonctionnaliser la pointe avec des groupements spécifiques. Nous verrons dans le chapitre 3 (partie 4.3) que les forces d'adhésion entre une pointe AFM hydrophile et le substrat de PDMS sont plus faibles dans l'eau que dans l'air. Ici nous avons utilisé cette propriété afin d'imager les substrats de PDMS traités et non traités en minimisant les interactions pointe-surface. La **Figure 5.14** compare les images AFM obtenues dans l'eau sur une surface de PDMS traitée 6 min et non traitée. Ces images ont été réalisées à l'aide d'une pointe AFM traitée 2 min par polymérisation plasma, supportée par un levier de faible constante de raideur ($0,06 \text{ N}\cdot\text{m}^{-1}$). Nous remarquons en premier lieu que les images

sont mieux résolues sur les substrats de PDMS traités, étant donné que les forces d'interactions attractives et adhésives sont plus faibles sur les substrats non traités (chapitre 3, partie 4.3). De plus, la rugosité apparente du substrat augmente après le traitement : la distance verticale entre les charges (contraste clair) et le polymère (contraste sombre) est plus grande après le traitement. Les sections correspondantes indiquent que cette augmentation est de l'ordre de quelques nanomètres, ce qui est probablement lié aux effets d'ablation du traitement, et à la contraction du polymère surréticulé.

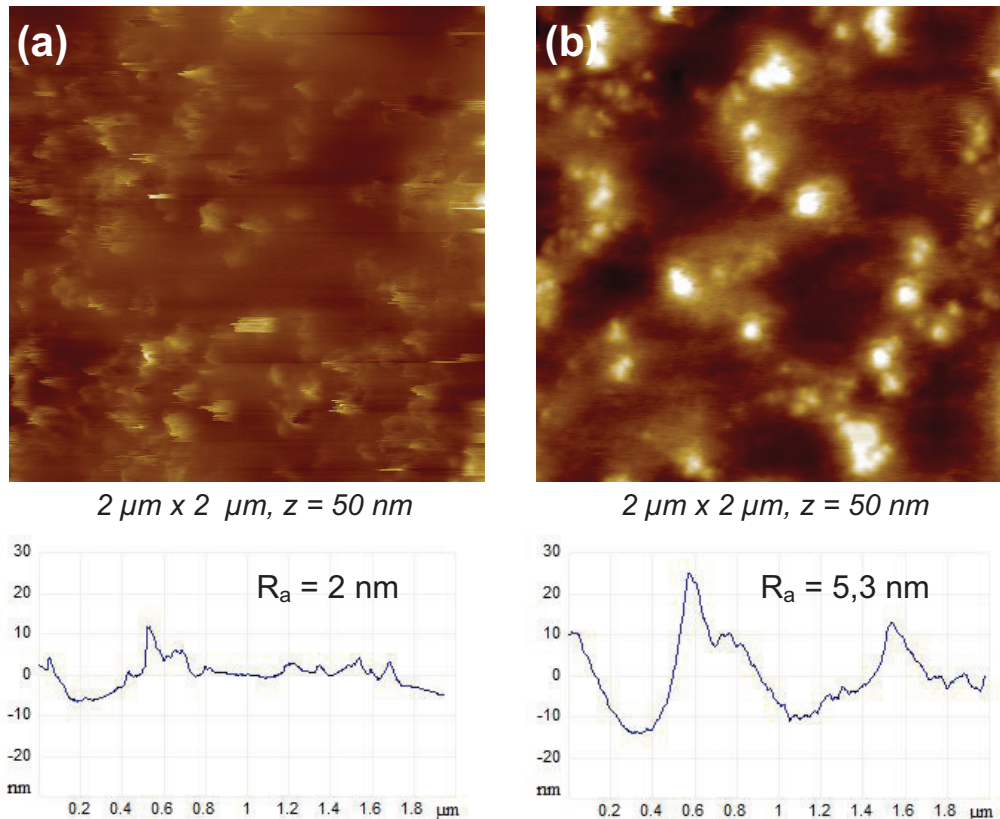


Figure 5.14 : Images AFM (topographie) réalisées en mode contact, dans l'eau. (a) PDMS non traité, (b) PDMS traité 6 min par polymérisation plasma

Comme nous l'avons montré précédemment en mode tapping, nous pouvons également analyser les modifications de la surface au niveau des zones riches en polymère entre les agglomérats de charges. La **Figure 5.15** présente les images avec une résolution latérale de 500 nm x 500 nm réalisées dans l'eau en mode contact au niveau de zones riches en polymère. Nous observons clairement que la rugosité est augmentée sur le substrat traité comparativement au substrat non traité. Cette observation confirme et complète les analyses réalisées en mode tapping. Les changements locaux de rigidité de la surface observés en mode tapping (Figure 5.12(b')), contraste de phase) sont accompagnés par des changements locaux de rugosité mis en évidence en mode contact en milieu liquide (Figure 5.15(b)).

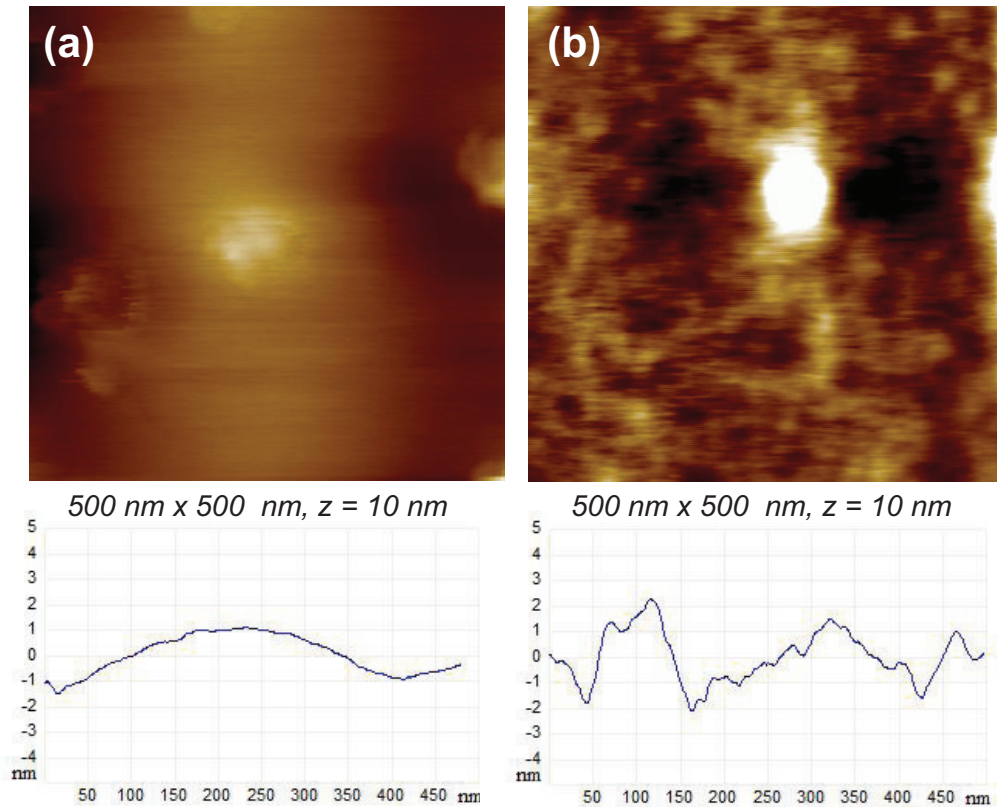


Figure 5.15 : Images AFM (topographie) réalisées en mode contact, dans l'eau. (a) PDMS non traité, (b) PDMS traité 6 min par polymérisation plasma. Le profil correspondant a été réalisé dans une zone ne comportant pas de charges de silice

5.2.2 Substrats étirés

5.2.2.1 PDMS non traité

La Figure 5.16 présente les images AFM réalisées en hard tapping d'un substrat de PDMS à l'état relaxé (Figure 5.16(a) et Figure 5.16(a')) et sous un taux d'allongement uniaxial de 100% (Figure 5.16(b) et Figure 5.16(b')). Nous observons que la rugosité apparente du substrat augmente sous étirement. Le contraste de phase entre les charges et le polymère est plus prononcé. De plus, le nombre de charges détectées semble également augmenter sous étirement. Ce résultat est paradoxal dans la mesure où l'élongation du substrat doit tendre à éloigner les charges au sein de la matrice polymère. Mais l'élongation du substrat est également à l'origine d'une diminution de son épaisseur (le volume reste constant dans le cas de matériaux incompressibles tels que les élastomères). Ainsi, des charges « invisibles » pour la pointe AFM car recouvertes d'une épaisseur suffisante de polymère dans l'état non étiré peuvent être détectées lorsque le substrat est étiré.

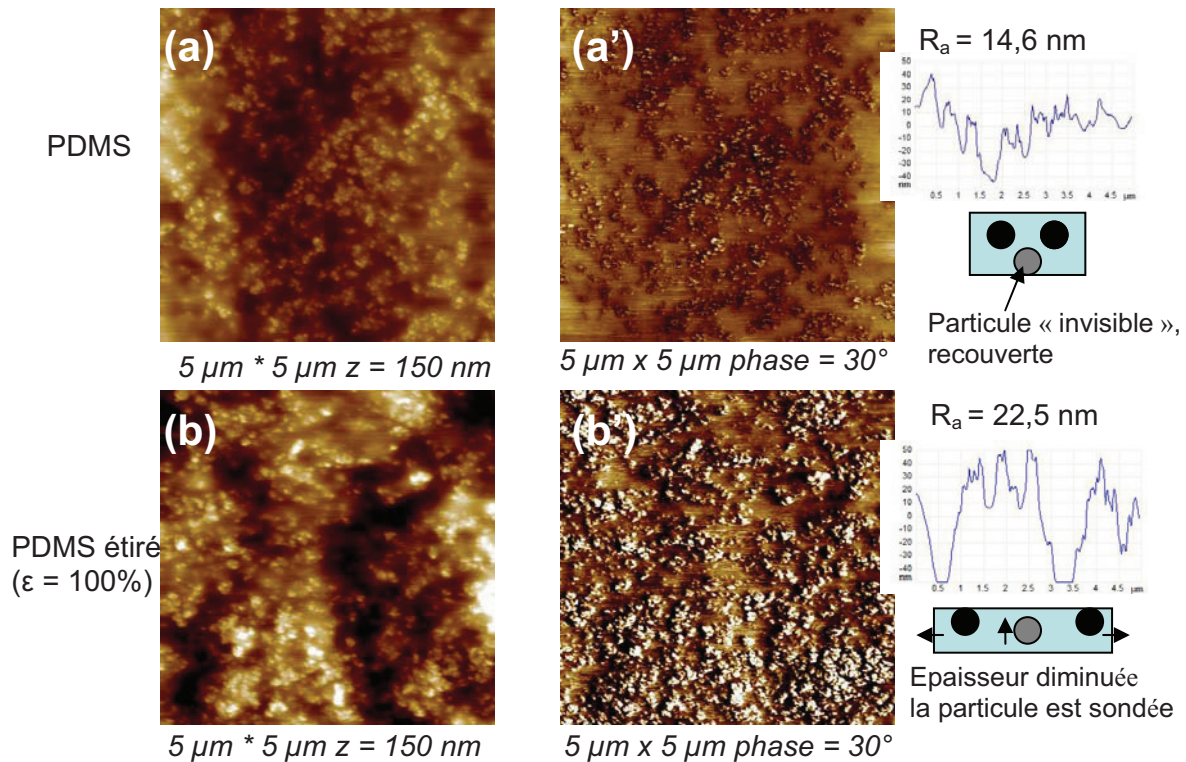


Figure 5.16 : Images AFM réalisées en « hard tapping » sur un substrat de PDMS à l'état relaxé (a) Hauteur, (a') Phase, et à l'état étiré (b) Hauteur, (b') Phase

Ces observations indiquent que les conditions d'imagerie utilisées dans cette étude ne permettent pas de mettre en évidence les modifications de densité de charges de silice en fonction du taux d'allongement du substrat. Ce type d'étude a été réalisé par Clément et al.⁴¹ en utilisant des leviers de faible constante de raideur. Ces travaux montrent que les agrégats de charges de silice ne présentent pas un déplacement proportionnel à la déformation macroscopique. La déformation de la structure est plus importante dans les zones pauvres que dans les zones riches en charges. De plus, l'allongement de la matrice de silicone conduit à la rupture et au détachement des chaînes au niveau des charges, en particulier dans les zones riches en agrégats. Cet effet couramment observé dans les élastomères chargés est appelé effet Mullins. Il se manifeste par une modification des propriétés mécaniques après une première extension, entraînant une perte de rigidité pour les déformations suivantes et une déformation rémanente.⁴² Ces phénomènes sont à prendre en compte pour la réalisation des matériaux répondant à des stimuli mécaniques car ils peuvent nuire à la séparation homogène des groupements de surface lors de l'élongation macroscopique du substrat d'une part, et à la réversibilité du processus d'autre part.

5.2.2.2 PDMS traité 6 min, hydrolysé

La Figure 5.17 présente les images réalisées en hard tapping d'un substrat de PDMS traité 6 min à l'état étiré.

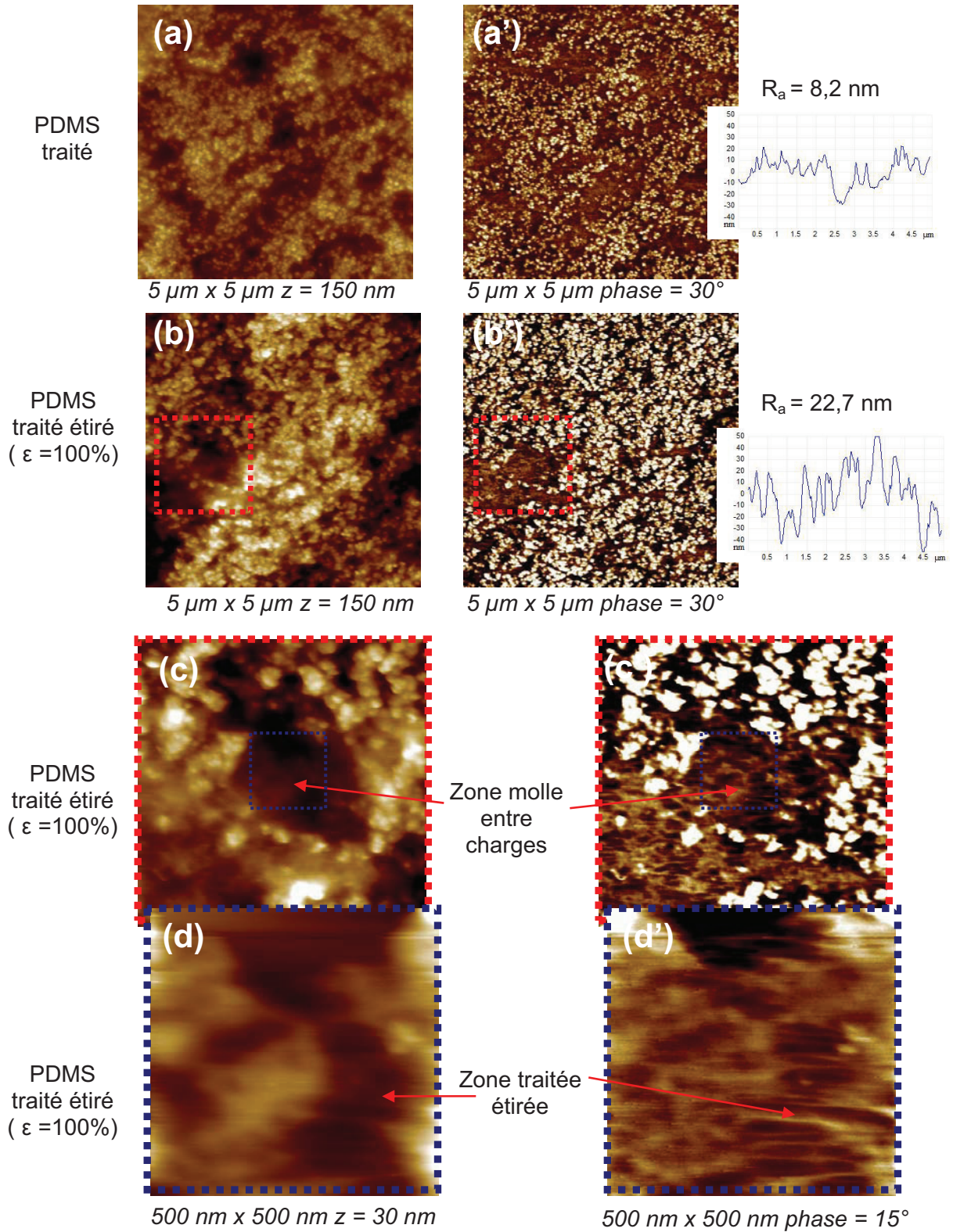


Figure 5.17: Images AFM obtenues en « hard tapping » d'un échantillon de PDMS traité 6 min, à l'état relaxé (a) et (a') et étiré (b), (b'), (c), (c'), (d) et (d')

Comme dans le cas du PDMS non traité, la rugosité apparente du substrat augmente sous étirement. Le contraste de phase lié aux charges est également plus intense et la densité de charges détectées plus importante. Remarquons que ces effets liés à la diminution d'épaisseur du substrat sous étirement sont amplifiés comparativement au PDMS non traité à cause des effets de durcissement de la surface sous l'effet du traitement, discutés précédemment. Les Figure 5.17 (d) et (d') présentent les images de hauteur et de phase réalisées dans une zone de la surface ne comportant pas de charges (zones encadrées Figure 5.17 (b) et (b')). L'image de phase montre que les zones de contraste intermédiaire attribuées aux zones traitées se présentent sous la forme de « filaments » orientés parallèlement à la direction d'élongation. Ce type de morphologie est uniquement observé sous étirement sur les substrats traités. Cette observation confirme que dans ces conditions, les zones traitées conservent leur cohésion sous étirement. Remarquons que des morphologies similaires, de type « filaments » ont également été observés au sein des craquelures formées lors de l'élongation de substrats de PDMS traités 30 min (Figure 4.3 (c) et (c')). Dans les deux cas, ces morphologies peuvent être attribuées à du PDMS modifié de type SiO_xC_y avec $2 < x < 4$, partiellement oxydé mais conservant sa capacité à s'étirer dans la direction d'élongation.

5.2.3 Bilan

En conclusion, le traitement de la surface de PDMS par polymérisation plasma durant 6 min conduit à des changements de rugosité de la surface à deux échelles.

A l'échelle micrométrique, la surface de PDMS non traitée est constituée d'une matrice de silicone dans laquelle se trouve une quantité importante de charges inorganiques de silice. Ces charges sont probablement recouvertes par une couche de polymère de quelques nanomètres à quelques dizaines de nanomètres. L'analyse de la surface de PDMS par AFM en tapping permet de mettre ces charges en évidence (Figure 5.9(b'), contraste de phase). Le traitement de la surface par polymérisation plasma a pour effet d'augmenter la rugosité du substrat, ce qui est attribué à des phénomènes d'ablation et de surréticulation de la matrice de silicone. Ces effets se manifestent expérimentalement par une augmentation du contraste de phase lié aux charges (Figure 5.11) et par une augmentation de la rugosité de la surface, car les zones entre les charges subissent l'ablation sur une distance plus profonde qu'au niveau des charges (Figure 5.14).

Entre les charges de silice, les zones riches en PDMS montrent une rugosité locale très faible avant traitement, tandis que ces zones montrent une augmentation de rugosité (Figure 5.15, contact liquide) accompagnée de contrastes du module local de surface après traitement (Figure 5.12, phase hard tapping). Ces modifications sont une fois encore la

résultante des mécanismes d'ablation, de surréticulation et de dépôt engendrés par le traitement par polymérisation plasma.

L'élongation uni-axiale du substrat est accompagnée d'une diminution de son épaisseur, se manifestant par une augmentation du contraste de phase lié aux charges de silice, qui sont alors recouvertes par une couche de polymère moins épaisse. Dans les conditions de cette étude, la répartition des charges dans la matrice de silicone n'a pas pu être mise en évidence, mais celle-ci doit probablement jouer un rôle important sur l'élongation du polymère à l'échelle locale. Aucune fissure n'est observée lors de l'élongation tandis que l'orientation et l'allongement de zones polymères modifiées dans la direction d'élongation ont été mis en évidence par AFM en hard tapping, attestant du transfert de l'élongation macroscopique du substrat à l'échelle locale.

6 CONCLUSION

La première étape de l'élaboration de la surface adaptative répondant à un stimulus mécanique consiste à mettre au point un support élastique et chimiquement réactif. Dans cet objectif, notre stratégie a consisté à modifier le substrat de PDMS par polymérisation plasma de l'anhydride maléique dans des conditions permettant de conserver les propriétés élastiques du substrat à l'échelle locale tout en garantissant le greffage de groupements anhydride.

L'étude de l'évolution de la composition chimique de la surface en fonction de la durée de traitement par polymérisation plasma nous a permis de distinguer les différentes étapes de la croissance du film polymère. En particulier, nous avons mis en évidence la transition entre un mode de croissance « hétérogène » et un mode de croissance « continu » vers 10-12 min de dépôt. Les craquelures liées à la fragilisation du silicone ne sont plus observées sur les substrats étirés pour des temps de traitement inférieurs à 8 min, ce qui indique que la cohésion des substrats est conservée. Pour ces temps de traitement, la surface modifiée demeure hydrophobe. Celle-ci se compose d'une matrice de PDMS partiellement oxydée sur laquelle sont introduits des groupements polaires, principalement des groupements anhydride. Un temps de traitement de 6 min permettant d'introduire environ 5 % (XPS) d'anhydride maléique à la surface du substrat a été choisi pour la suite de l'étude. L'hydrolyse du film conduit à la formation de groupements diacide carboxylique de surface et la modification est stable dans le temps.

Dans le chapitre suivant, nous mettrons en évidence les propriétés acide-base de Brønsted de ces groupements diacides. Nous montrerons que l'introduction de ces groupements à la surface du PDMS est à l'origine de propriétés d'adhésion dépendantes du

pH. Nous tirerons ainsi profit des propriétés spécifiques d'adhésion des groupements acide du polymère plasma afin de mettre en évidence leur « dilution » sous l'effet de l'élongation du substrat de PDMS.

7 Références

- ¹ H. Yasuda, *Plasma Polymerization*, **1985** Academic Press, Orlando, FL.
- ² V. Roucoules, C. A. Fail, W. C. E. Schofield, D. O. H. Teare, J. P. S. Badyal *Diels–Alder Chemistry on Alkene Functionalized Films*, *Langmuir*, **2005**, 21, 1412-1415.
- ³ A. N. Chifen, R. Förch, W. Knoll, P. J. Cameron, H. L. Khor, T. L. Williams, A. T. A. Jenkins, *Attachment and Phospholipase A2-Induced Lysis of Phospholipid Bilayer Vesicles to Plasma-Polymerized Maleic Anhydride/SiO₂ Multilayers*, *Langmuir*, **2007**, 23, 6294-6298.
- ⁴ F. Siffer, A. Ponche, P. Fioux, J. Schultz and V. Roucoules *A chemometric investigation of the effect of the process parameters during maleic anhydride pulsed plasma polymerisation*, *Analytica Chimica Acta*, **2005**, 539, 289-299.
- ⁵ J. Hemmerlé, V. Roucoules, G. Fleith, M. Nardin, V. Ball, Ph. Lavalley, P. Marie, J.C. Voegel, P. Schaaf, *Mechanically Responsive Films of Variable Hydrophobicity Made of Polyelectrolyte Multilayers*, *Langmuir*, **2005**, 23, 10328-10331.
- ⁶ V. Roucoules, A. Ponche, A. Geissler, F. Siffer, L. Vidal, S. Ollivier, M. F. Vallat, P. Marie, J. C. Voegel, P. Schaaf, J. Hemmerlé, *Changes in Silicon Elastomeric Surface Properties under Stretching Induced by Three Surface Treatments*, *Langmuir*, **2007**, 23, 13136-13145.
- ⁷ M. J. Owen, P. J. Smith, *Plasma Treatment of Polydimethylsiloxane*, *J. Adhesion Sci. Technol.*, **1994**, 8, 1063-1075.
- ⁸ J.-J. Villenave, *Assemblage par Collage*, L'usine Nouvelle série Mécanique et Matériaux, Dunod, **2005**, Paris
- ⁹ H. Yasuda, *The competitive ablation and polymerization (CAP) principle and the plasma sensitivity of elements in plasma polymerization and treatment*, *J. Polym. Sci. A*, **2000**, 38, 943-953.
- ¹⁰ H. Yasuda, T. Hsu, *Some aspects of plasma polymerization investigated by pulsed R.F. discharge*, *J. of Polym. Sci.: Polym. Chem. Ed.* **1976**, 15, 81 - 97
- ¹¹ J. Berg, *Wettability*, CRC; 1 edition (April 20, 1993)
- ¹² *Contact Angle, Wettability and Adhesion 1993*: Festschrift in honor of Professor Robert J. Good / ed.:K.L. Mittal.-Utrecht : VSP.
- ¹³ *Matériaux optiques pour la Spectroscopie*, Catalogue eurolabo, p60.
- ¹⁴ F. Schneider, J. Draheim, R. Kamberger, U. Wallrabe, *Process and material properties of polydimethylsiloxane (PDMS) for Optical MEMS*, *Sensors and Actuators A: Physical* **2009**, 151, 95-99.

- ¹⁵ R. S. McLean, B. B. Sauer, *Tapping-Mode AFM Studies Using Phase Detection for Resolution of Nanophases in Segmented Polyurethanes and Other Block Copolymers*, *Macromolecules*, **1997**, 30, 8314-8317.
- ¹⁶ D. T. Van Haeringen, H. Schönherr, G.J. Vansco, L. Van Der Does, J.W.M. Noordermeer, P.J.P. Janssen, *Atomic Force Microscopy of Elastomers: Morphology, Distribution of filler Particles, and Adhesion using Chemically Modified Tips*, *Rubber Chem. Techn.* **1999**, 72, 862-874.
- ¹⁷ S.N. Magonov, V. Elings, M.-H. Whangbo, *Phase Imaging and Stiffness in Tapping-mode Atomic Force Microscopy*, *Surface Science* **1997**, 375, L385-L391.
- ¹⁸ F. Clément, A. Lapra, L. Bokobza, L. Monnerie, P. Ménez, *Atomic Force Microscopy Investigation of filled Elastomers and Comparison with Transmission Electron Microscopy – Application to Silica-filled Silicone Elastomers*, *Polymer* **2001**, 42, 6259-6270
- ¹⁹ J. Mallécol, O. Dupont, J. L. Keddie, *Obtaining and Interpreting Images of Waterborne Acrylic Pressure-Sensitive Adhesives by Tapping-Mode Atomic Force Microscopy*, *Langmuir* **2001**, 17, 7022-7031.
- ²⁰ G. Beamson, D. Briggs, *High Resolution XPS of Organic Polymers*. The Scienta ESCA300 Database, **1992**, John Wiley & Sons.
- ²¹ P.-G. de Gennes, F. Brochard-Wyart, D. Quéré, *Gouttes, bulles, perles et ondes*, **2005** Chap. 9, p 189-200. Collection échelles, édition Belin.
- ²² J.N. Israelachvili, M.L.Gee, *Contact Angles on Chemically Heterogeneous Surfaces*, *Langmuir* **1989**, 5, 288-289.
- ²³ H.D. Bui, *Mécanique de la rupture fragile*, **1978**, Masson.
- ²⁴ S.L. Bazhenov, A.L. Volynski, V.M. Alexandrov, N.F. Bakeev, *Two Mechanisms of the Fragmentation of Thin Coatings on Rubber Substrates*, *J. of Pol. Sci. Part B Pol. Phys.* **2002**, 40, 10-18.
- ²⁵ H. Jiang, Y. Sun, J.A. Rogers, Y. Huang, *Mechanics of precisely controlled thin film buckling on elastomeric substrate*, *App. Phys. Lett.* **2007**, 90, 133119 1-3.
- ²⁶ F. Siffer, *La fonctionnalisation de surfaces par polymerisation plasma : une nouvelle stratégie d'élaboration de matériaux à pouvoir adhésif réversible*, Thèse de l'Université de Haute-Alsace **2006**, chap 3, p 91-93.
- ²⁷ R. Förch, Z. Zhang, W. Knoll, *Soft Plasma Treated Surfaces: Tailoring of Structure and Properties for Biomaterial Applications*, *Plasma Process. Polym.* **2005**, 2, 351-372.
- ²⁸ L.-Q. Chu, R. Förch, W. Knoll, *Pulsed Plasma Polymerized Maleic Anhydride Films in Humid Air and in Aqueous Solutions Studied with Optical Waveguide Spectroscopy*, *Langmuir* **2006**, 22, 2822-2826.
- ²⁹ J. Drews, H. Launey, C.M. Hansen, K. West, S. Hvilsted, P. Kingshott, K. Almdal, *Hydrolysis and Stability of Thin Pulsed Plasma Polymerized Maleic Anhydride Coatings*, *Applied Surface Science* **2008**, 254, 4720-4725.

- ³⁰ A.N. Gent, W.J. Hung, M.F. Tse, *Swelling of constrained rubber layers: effect on free energy of detachment*, Rubber chemistry and technology **2001**, 74, 89-99.
- ³¹ A.N. Chifen, A.T.A. Jenkins, W. Knoll, R. Förch, *Adhesion Improvement of Plasma-Polymerized Maleic Anhydride Films on Gold Using HDMSO/O₂*, Plasma Process. Polym. **2007**, 4, 815-822.
- ³² S. Schiller, J. Hu, A. T. A. Jenkins, R. B. Timmons, F. S. Sanchez-Estrada, W. Knoll, R. Förch, *Chemical Structure and Properties of Plasma-Polymerized Maleic Anhydride Films*, Chem. Mater. **2002**, 14, 235–242.
- ³³ J. Kim, M. K. Chaudhury, M. J. Oweny *Hydrophobic Recovery of Polydimethylsiloxane Elastomer Exposed to Partial Electrical Discharge*, J. Coll. and Interface Sci. **2000**, 226, 231–236
- ³⁴ I-J. Chen, E. Lindner, *The Stability of Radio-Frequency Plasma-Treated Polydimethylsiloxane Surfaces*, Langmuir **2007**, 23, 3118-3122.
- ³⁵ H. Hillborg, U.W. Gedde, *Hydrophobicity Recovery of Polydimethylsiloxane after Exposure to Corona Discharges*, Polymer **1998**, 39, 1991-1998.
- ³⁶ E. Delamarche, C. Donzel, F. S. Kamounah, H. Wolf, M. Geissler, R. Stutz, P. Schmidt-Winkel, B. Michel, H. J. Mathieu, K. Schaumburg, *Microcontact Printing Using Poly(dimethylsiloxane) Stamps Hydrophilized by Poly(ethylene oxide) Silanes*, Langmuir **2003**, 19, 8749-8758.
- ³⁷ B. Wang, L. Chen ; Z. Abdulali-Kanji, J. H. Horton, R. D. Oleschuk, *Aging Effects on Oxidized and Amine-Modified Poly(dimethylsiloxane) Surfaces Studied with Chemical Force Titrations: Effects on Electroosmotic Flow Rate in Microfluidic Channels*, Langmuir **2003**, 19, 9792-9798.
- ³⁸ H. Makamba, Y.-Y. Hsieh, W.-C. Sung, S.-H. Chen, *Stable Permanently Hydrophilic Protein-Resistant Thin-Film Coatings on Poly(dimethylsiloxane) Substrates by Electrostatic Self-Assembly and Chemical Cross-Linking*, Anal. Chem. **2005**, 77, 3971-3978.
- ³⁹ V. Barbier, M. Tatoulian, H. Li, F. Arefi-Khonsari, A. Ajdari, P. Tabeling, *Stable Modification of PDMS Surface Properties by Plasma Polymerization: Application to the Formation of Double Emulsions in Microfluidic Systems*, Langmuir **2006**, 22, 5230-5232.
- ⁴⁰ K. S. Siow, L. Britcher, S. Kumar, H.J. Griesser, *Plasma Methods for the Generation of Chemically Reactive Surfaces for Biomolecule Immobilization and Cell Colonization : A Review*, Plasma Proc. and Pol. **2006**, 3, 392-418.
- ⁴¹ A. Lapra, F. Clément, L. Bokobza, L. Monnerie, *Straining Effects in Silica-filled Elastomers Investigated by Atomic Force Microscopy: from Macroscopic Stretching to Nanoscale Strainfield*, Rubber Chem. Technol. **2003**, 76, 60-81.
- ⁴² F. Clément, L. Bokobza, L. Monnerie, *On the Mullins Effect in Silica-filled Polydimethylsiloxane Networks*, Rubber Chem. Technol. **2001**, 74, 847-870.

CHAPITRE 3

PROPRIETES ACIDE-BASE DE SURFACE

| | | |
|----------|--|------------|
| 1 | INTRODUCTION | 97 |
| 2 | MATERIEL ET METHODES | 97 |
| 2.1 | Mesures d'angle de contact en fonction du pH..... | 97 |
| 2.2 | Analyses FTIR-ATR en fonction du pH..... | 98 |
| 2.3 | Analyses IRRAS en fonction du pH | 98 |
| 2.4 | Mesures de potentiel d'écoulement..... | 99 |
| 2.5 | Mesures de forces par AFM | 99 |
| 2.5.1 | <i>Les courbes de force</i> | <i>99</i> |
| 2.5.2 | <i>Choix du levier et de la pointe AFM.....</i> | <i>101</i> |
| 2.5.3 | <i>Les paramètres dynamiques des mesures de force.....</i> | <i>101</i> |
| 2.5.4 | <i>Mesures de forces en milieux aqueux</i> | <i>102</i> |
| 2.5.5 | <i>Conditions expérimentales</i> | <i>103</i> |
| 3 | TITRATION DE SURFACE | 104 |
| 3.1 | Généralités | 104 |
| 3.1.1 | <i>Interactions acide-base.....</i> | <i>104</i> |
| 3.1.2 | <i>Propriétés acide-base de surface</i> | <i>105</i> |
| 3.2 | Titration par mesures de mouillabilité | 106 |
| 3.3 | Titration de surface par FTIR-ATR | 108 |
| 3.4 | Comparaison des deux méthodes | 113 |
| 3.5 | Conclusion | 114 |
| 4 | PROPRIETES D'ADHESION DEPENDANTES DU PH | 115 |
| 4.1 | Généralités | 115 |
| 4.1.1 | <i>Les mesures de force par microscopie à force atomique</i> | <i>115</i> |
| 4.1.2 | <i>La titration par force chimique</i> | <i>116</i> |
| 4.2 | Fonctionnalisation de la pointe AFM..... | 117 |
| 4.2.1 | <i>Stratégie</i> | <i>117</i> |
| 4.2.2 | <i>Propriétés acide – base de la pointe</i> | <i>118</i> |
| 4.2.3 | <i>Morphologie de la pointe modifiée.....</i> | <i>120</i> |
| 4.3 | Mesures de force | 121 |
| 4.3.1 | <i>Courbes de forces sur PDMS traité et non-traité.....</i> | <i>121</i> |
| 4.3.2 | <i>Conséquences en imagerie</i> | <i>125</i> |
| 4.4 | Titration par force chimique | 126 |

| | | |
|----------|--|------------|
| 4.4.1 | <i>PDMS non traité</i> | 126 |
| 4.4.2 | <i>PDMS traité 6 min</i> | 127 |
| 4.4.3 | <i>pKas de surface</i> | 130 |
| 4.4.4 | <i>Effet de la force ionique</i> | 132 |
| 4.4.5 | <i>Nature des interactions pointe-surface</i> | 132 |
| 4.4.6 | <i>Effet d'un électrolyte divalent</i> | 135 |
| 5 | PROPRIETES ACIDE-BASE DE SURFACE : BILAN | 138 |
| 5.1 | pKas de surface | 138 |
| 5.2 | Propriétés d'adhésion..... | 138 |
| 6 | PROPRIETES SOUS ETIREMENT : EFFET DE « DILUTION » | 139 |
| 6.1 | Mouillabilité | 140 |
| 6.1.1 | <i>Titration sous étirement</i> | 140 |
| 6.1.2 | <i>Composante acide-base du travail d'adhésion</i> | 141 |
| 6.1.3 | <i>« Dilution » des groupements réactifs</i> | 142 |
| 6.2 | Mesure de forces d'adhésion sous étirement..... | 145 |
| 7 | CONCLUSION | 146 |
| 8 | REFERENCES | 148 |

1 Introduction

Dans le chapitre précédent, nous avons montré que le traitement du PDMS par polymérisation plasma de l'anhydride maléique à des temps courts permet d'introduire des groupements anhydride à la surface du substrat tout en limitant la fragilisation du silicone. Nous avons choisi un traitement de 6 min permettant d'introduire environ 6 % d'anhydride maléique (XPS) à la surface du substrat d'une part, et ne conduisant pas à la formation de craquelures sous élévation d'autre part.

Dans ce chapitre, nous étudierons les propriétés acide-base du substrat de PDMS traité et hydrolysé que nous discuterons en termes de pKa de surface et de propriétés d'adhésion dépendantes du pH. Ces propriétés caractéristiques des groupements acides du polymère plasma seront exploitées sous élévation, afin de mettre en évidence la dilution des groupements réactifs de surface sous l'effet de l'élévation macroscopique du substrat.

2 Matériel et méthodes

2.1 Mesures d'angle de contact en fonction du pH

Dans le chapitre précédent, la mesure d'angle de contact a été utilisée afin de mesurer l'évolution du caractère dispersif et non-dispersif de la surface de PDMS en fonction du temps de traitement par polymérisation plasma. Dans ce chapitre, la mesure d'angle de contact en fonction du pH est mise à profit pour évaluer les propriétés acide-base du film, au sens de Brönsted. En effet, l'angle de contact décroît en fonction du taux d'ionisation des groupements de surface, ce qui permet d'évaluer le ou les pKas de surface à partir des courbes $\theta = f(\text{pH})$ appelées courbes de titration par angle de contact.

Les angles de contact à l'avancée sont mesurés à partir de solutions de KCl 10^{-4} M ajustées à différents pH par l'addition de solutions de KOH ou de HCl diluées. Avant chaque mesure dépendante du pH, les substrats sont stabilisés dans la solution correspondante pendant 5 minutes puis séchés sous flux d'azote. Ce protocole permet d'éviter les phénomènes d'étalement réactif.¹ Les mesures d'angle de contact à l'avancée ont été réalisées à partir de 3 gouttes de volume $\sim 2 \mu\text{L}$ à différentes zones du substrat. Deux mesures indépendantes ont été réalisées sur chaque goutte. L'incertitude correspond à l'écart type expérimental des 6 valeurs d'angle de contact mesurées en alternant pH élevé et pH faible afin de s'assurer de la stabilité de la composition chimique du film sous différentes conditions de pH.

Les mesures des angles de contact sous étirement sont réalisées parallèlement à la direction d'élongation, comme le montre la **Figure 2.1**

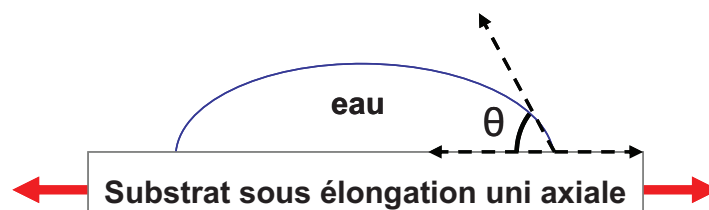


Figure 2.1 : Mesure d'angle de contact sous élongation uni-axiale.

2.2 Analyses FTIR-ATR en fonction du pH

Les mesures de spectroscopie infrarouge sur les substrats de PDMS traités sont réalisées dans les mêmes conditions que celles décrites précédemment dans le chapitre 2. Cette partie décrit le protocole particulier utilisé pour les mesures réalisées en fonction du pH, et la méthode utilisée pour la décomposition des spectres.

Avant chaque mesure dépendante du pH, les substrats sont stabilisés pendant 5 minutes dans la solution de tampon commerciale correspondante (fixanal®) puis séchés sous flux d'azote. Pour chaque valeur de pH, trois spectres sont réalisés à différentes zones du substrat. Chaque spectre est décomposé entre 1500 cm^{-1} et 1900 cm^{-1} à l'aide du logiciel OPUS en utilisant l'algorithme de Levenbergh Marquardt. Les positions respectives des pics sont fixées à partir des maxima de la dérivée seconde du spectre. La largeur et l'intensité des pics sont laissées libres, la forme des pics résulte d'un mélange de fonctions de Gauss et de Lorentz, dont les proportions relatives sont laissées libres.

2.3 Analyses IRRAS en fonction du pH

La spectroscopie infrarouge de réflexion-adsorption (IRRAS) permet de caractériser des films organiques ultra-minces (monocouches) déposés sur des surfaces réfléchissantes à partir de la réflexion d'une onde polarisée p en incidence rasante ($\theta > 80^\circ$).²

Les analyses ont été réalisées sur des films polymère plasma déposés sur des substrats de silicium préalablement recouverts d'une couche d'or par évaporation thermique (10 nm Cr / 30 nm Au). Les mesures sont réalisées avec un spectromètre à transformée de fourrier (Brucker IFS66S) muni d'un détecteur MCT refroidi à l'azote liquide, l'angle d'incidence de l'onde polarisée p sur l'échantillon est de 85° . L'ensemble des spectres est réalisé avec une résolution de 4 cm^{-1} sur 400 scans. Les mesures en fonction du pH et la décomposition des spectres sont réalisées dans les mêmes conditions qu'en mode ATR (voir paragraphe précédent).

2.4 Mesures de potentiel d'écoulement

Les mesures de potentiel d'écoulement ont été réalisées à Strasbourg (Unité INSERM 595, Faculté de Chirurgie Dentaire), avec l'aide de Vincent Ball.

Les mesures sont réalisées à partir de films polymère plasma (dépôt de 30 min) déposés sur des lamelles de verre préalablement recouverte d'une couche d'or par évaporation thermique (10 nm Cr / 30 nm Au). Un dispositif ZetaCad (78690 Les Essarts Le Roi-France, www.cad-inst.com) est utilisé pour les mesures. Deux lamelles de verres fonctionnalisés sont montées en configuration parallèle dans le porte échantillon en plexiglas. Les mesures en fonction du pH ont été réalisées dans une solution de KCl 10^{-4} M et le pH est ajusté à partir de solutions de HCl et de KOH concentrées. Le potentiel d'écoulement est mesuré au moins deux fois pour chaque valeur de pH et les valeurs obtenues sont moyennées. Le potentiel zêta est calculé à partir du potentiel d'écoulement à partir de la relation de Schmolukovski.

$$\zeta = \frac{\Delta E}{\Delta P} \cdot \frac{\eta \cdot \lambda}{\varepsilon \cdot \varepsilon_0} \quad \text{Équation 2.1}$$

où ζ , η , λ et $\varepsilon\varepsilon_0$ représentent respectivement le potentiel zêta, la viscosité de la solution, la conductivité de la solution et la permittivité diélectrique de l'eau. Le rapport $\Delta E/\Delta P$ représente le potentiel d'écoulement, c'est à dire la pente de la courbe décrivant l'évolution de la différence de potentiel en fonction de la différence de pression. La différence de potentiel ΔE est mesurée entre deux électrodes de référence Ag/AgCl situées de part et d'autre de la cellule de mesure. La différence de pression entre les deux compartiments contenant l'électrolyte est variée de manière régulière par des incréments de 10 mbar entre des valeurs comprises entre -250 et 250 mbar. Comme η et $\varepsilon\varepsilon_0$ dépendent de la température, la température de la solution est régulièrement mesurée in situ afin de calculer les valeurs corrigées. La conductivité de la solution est également mesurée in situ et la valeur mesurée est utilisée pour le calcul du potentiel zêta.

2.5 Mesures de forces par AFM

Dans le chapitre précédent, l'AFM a été utilisé afin d'imager les surfaces de PDMS traitées. Dans cette partie, l'AFM est utilisé afin d'évaluer les propriétés d'adhésion des substrats en mesurant les forces d'interaction et d'adhésion entre pointes et substrats fonctionnalisés.

2.5.1 Les courbes de force

L'AFM est une technique extrêmement sensible pour la détection de forces.³ Lors de la mesure de force, la pointe ne balaye pas la surface de l'échantillon, mais elle est mise au

contact de l'échantillon puis retirée. La **Figure 2.2** présente un cycle approche / retrait (courbe de force) typiquement obtenu lors de la mesure de force.

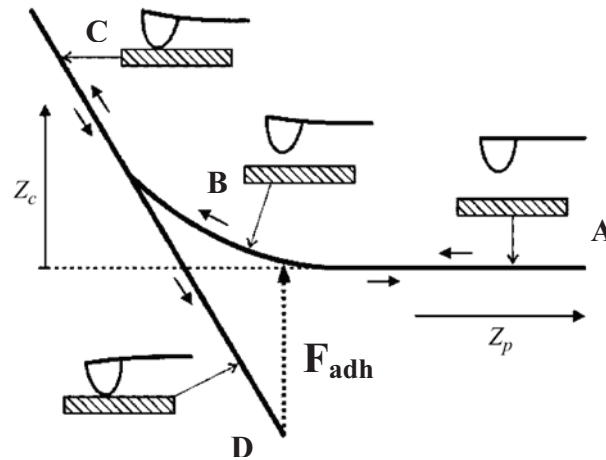


Figure 2.2: Cycle approche/retrait correspondant à la mesure de force par AFM

L'axe horizontal représente le déplacement du piezo (Z_p) tandis que l'axe vertical représente la déflexion du cantilever (Z_c). La pointe AFM est approchée au contact de la surface (A). Lorsque le gradient des forces intermoléculaires est supérieur à la constante de raideur du levier, celui-ci subit une déflexion (positive ou négative) selon la nature des interactions pointe-échantillon (répulsive ou attractive). Dans cet exemple, la déflexion à l'approche est positive : l'interaction est répulsive (B). Au terme de l'approche, la pointe entre en contact avec l'échantillon (C). La pente de la partie linéaire de la courbe dépend du module de surface de l'échantillon et de la constante de raideur du levier. Si le module de surface est supérieur à la constante de raideur du levier, celui-ci subit une déflexion égale au déplacement du piézo (pente égale à 1), l'échantillon ne subissant pas de déformation. Lors de la phase de retrait, la pointe est progressivement retirée de la surface. Le signal de déflexion du levier associé à la force de retrait nécessaire pour séparer la pointe de l'échantillon (du point D au point A, « pull-off ») est lié aux propriétés mécaniques de la zone indentée et au travail d'adhésion entre la pointe et la surface.

Les forces d'attraction sont généralement plus faibles que les forces au retrait, ce qui peut avoir différentes origines :

- La réorganisation interfaciale des groupements de surface peut augmenter le nombre de liaisons pendant le contact.
- L'aire de contact entre la pointe et la surface peut augmenter pendant le contact, en particulier pour des matériaux déformables.
- Les propriétés mécaniques de l'échantillon, telle que la viscoélasticité, peuvent également influencer les forces au retrait.

2.5.2 Choix du levier et de la pointe AFM

La sensibilité de la mesure de force dépend du choix de la constante de raideur du levier utilisé. En effet, les forces mesurées par AFM sont directement liées à la déflexion d du levier par la loi de Hooke ($F=k.d$). Les constantes de raideur des leviers commerciaux varient entre 0,01 et 100 nN.m⁻¹. Les leviers de constantes de raideur élevées sont insensibles aux forces intermoléculaires et sont généralement utilisés pour les mesures de modules. Au contraire, les leviers de faible constante de raideur sont sensibles aux interactions moléculaires mettant en jeu des forces très faibles. Le choix du type de levier dépend de la nature des échantillons et de l'ordre de grandeur des forces mesurées. Le choix d'un levier de très faible constante de raideur permet par exemple de réaliser des mesures d'interactions spécifiques de type récepteur-ligand mais peut nécessiter de travailler en environnement à température contrôlée afin de diminuer le bruit thermique.

En second lieu, le choix de la pointe est également important. Les pointes commerciales sont généralement des pyramides de silicium ou de nitrure de silicium. Le rayon de courbure à l'apex varie de 5 à 10 nm dans le cas de pointes en silicium usuelles, et peut atteindre 20-60 nm pour des pointes en nitrure de silicium. Dans certains cas, c'est une bille micrométrique (10-50 µm de rayon, généralement en verre ou en polystyrène) fixée au cantilever qui fait office de pointe. Ainsi, l'usage d'une pointe de faible rayon de courbure permet d'obtenir une bonne résolution latérale, pour réaliser des cartographies d'adhésion, par exemple, mais l'aire de contact avec la surface est faible ce qui réduit le nombre d'interactions intermoléculaires. Au contraire, l'utilisation d'une bille permet d'augmenter l'aire de contact mais la résolution latérale est très faible.

2.5.3 Les paramètres dynamiques des mesures de force

Les forces mesurées par AFM peuvent dépendre des conditions dynamiques de mesure :

- La vitesse d'approche et de retrait (vitesse de rampe). Celle-ci est ajustable en réglant la distance maximale de déplacement du piézo (rampe) et la fréquence des courbes de force (nombre de cycles approche-retrait par seconde).
- Le temps de contact pointe-échantillon (« ramp delay »). C'est la durée durant laquelle le piezo maintient sa position lorsque la pointe est au contact de l'échantillon.
- La déflexion maximale après le contact (« trigger »).

La force d'adhésion (« pull-off ») dépend fortement des paramètres dynamiques dans le cas de matériaux viscoélastiques tels que les élastomères de silicone. Il est nécessaire de maintenir ces paramètres constants si l'on s'intéresse à l'influence de la nature des groupements chimiques de surface sur la force d'adhésion.

2.5.4 Mesures de forces en milieux aqueux

L'environnement dans lequel sont réalisées les mesures de force est très important. Les mesures à l'air sont très sensibles aux effets de capillarité.⁴ En effet, en prenant l'exemple d'une pointe et d'une surface hydrophiles, celles-ci ont tendance à adsorber de l'eau provenant de l'humidité ambiante. Le confinement de la pointe et de la surface lors de leur mise en contact provoque alors la condensation des molécules d'eau et la formation de ponts capillaires. Les forces mesurées au retrait sont alors sensibles à la rupture de ces ponts, autrement dit à la formation d'interfaces eau-air. En travaillant en milieu liquide, dans l'eau par exemple, on s'affranchit de ces effets de capillarité et les forces mesurées reflètent davantage les interactions moléculaires spécifiques entre les groupements de la pointe et ceux de la surface. Les forces mesurées dépendent de la nature du liquide : en effet, la force d'adhésion F_{adh} est reliée au travail thermodynamique d'adhésion qui inclue des termes liés à la création des interfaces surface-liquide et pointe-liquide lors de la séparation de la pointe et de la surface.

$$F_{adh} \propto W_{se} = (\gamma_{sl} + \gamma_{tl}) - \gamma_{ts} \quad \text{Équation 2.2}$$

γ_{sl} et γ_{tl} représentent les énergies interfaciales surface/liquide et pointe/liquide, respectivement, et γ_{ts} représente l'énergie interfaciale entre la pointe et la surface. Le terme $W_{se} = \gamma_{sl} + \gamma_{tl}$ représente le travail dû à l'exclusion de solvant.

Par exemple, les travaux réalisés sur des monocouches auto-assemblées⁵ montrent que dans l'eau, les forces d'adhésion mesurées entre pointe et surface hydrophobes ($-CH_3$) sont généralement plus élevées que les forces d'adhésion mesurées entre pointe et surfaces hydrophile ($-COOH$) car la tension interfaciale surface hydrophobe-eau est plus élevée que la tension interfaciale surface hydrophile – eau. Ce type d'interaction entre deux objets hydrophobes dans un milieu polaire est communément appelé interaction hydrophobe.

En conséquence, les forces d'adhésion mesurées entre pointe et surface hydrophiles sont généralement plus faibles dans l'eau que dans l'air : dans l'air, la rupture de ponts capillaires nécessite de créer deux interfaces eau-air de forte énergie ($\gamma_{eau} = 72 \text{ mJ.m}^{-2}$). De ce fait, la réalisation de courbes de force dans l'air ne permet pas de rendre compte de l'influence des interactions spécifiques entre la pointe et la surface sur la force d'adhésion.

Dans le cas présent, les spectres FTIR-ATR obtenus sur les surfaces de PDMS traitées par polymérisation plasma puis séchées attestent de la présence d'eau adsorbée dans le film, ce qui compromet toute tentative de mesures de forces d'adhésion dans l'air sur ce type de surface.

2.5.5 Conditions expérimentales

Les mesures de force sont réalisées en mode contact, à l'aide d'un microscope à force atomique D3000 (Digital Instrument) fonctionnant avec un contrôleur Nanoscope IIIA (D.I). Des pointes contact commerciales pyramidales en nitrure de silicium (DNP, Veeco), avec un levier triangulaire de constante de raideur nominale de 0,32 N/m sont utilisées. Les pointes sont modifiées par un traitement de 30 min par polymérisation plasma de l'anhydride maléique dans les mêmes conditions de dépôt que pour le traitement du PDMS. Dans ces conditions, l'épaisseur du dépôt déterminée par ellipsométrie sur un substrat de silicium est d'environ 40 nm. Avant utilisation, les pointes sont hydrolysées dans l'eau pendant 24h.

Les valeurs des constantes de raideur des leviers modifiés sont évaluées par la méthode de Cleveland⁶ après l'étape d'hydrolyse. Les constantes de raideur sont de l'ordre de $0,25 \pm 0,03$ N/m, leur valeur restant inchangée après la mesure.

Des solutions de KCl et de CaCl_2 de différents pH sont préparées en ajustant le pH avec des solutions diluées de HCl et de KOH. Les mesures de force en milieu aqueux sont réalisées à l'aide d'une cellule liquide (Veeco). Avant chaque mesure de force dépendante du pH, pointe et échantillon sont stabilisés pendant 15 min dans la solution d'électrolyte correspondante. Pour une concentration de KCl ou de CaCl_2 donnée, l'ensemble des mesures de forces sont réalisées avec la même pointe et le même échantillon. 25 courbes de force par valeur de pH sont réalisées à différentes zones du substrat. Les mesures sont réalisées en alternant pH élevé et pH faible afin de s'assurer de la stabilité de la composition chimique du substrat et de la pointe à différentes conditions de pH. La pointe et le substrat sont rincés avec de l'eau déionisée puis séchés sous flux d'azote entre chaque changement de pH. Les courbes de forces sont réalisées à une fréquence de 9,3 Hz (nombre de cycles approche-retrait par seconde). Le paramètre « ramp delay » (temps durant lequel le piezo maintient sa position au contact de l'échantillon) a été fixé à 0 s, c'est-à-dire que lors de la mesure de force, le piézo s'étend (courbe d'approche) et se rétracte (courbe de retrait) continuellement.

La taille de la rampe (déplacement maximal du piézo) est fixée ($Z_{\text{max}} = 500$ nm) afin de maintenir les vitesses d'approche et de retrait constantes. La déflexion maximale du cantilever après contact (relative trigger) est fixée à 150 nm afin de maintenir le temps de contact pointe-échantillon constant. Les valeurs expérimentales des forces de pull-on et de pull-off correspondent à la différence entre la valeur minimale de déflexion et la ligne de déflexion nulle déterminée respectivement à partir des courbes de forces à l'approche et au retrait. Les valeurs de forces reportées sur les courbes de titration par force chimique représentent la moyenne de 25 mesures, les barres d'erreur correspondent aux écarts moyens expérimentaux. Les mesures de forces sur les substrats étirés sont réalisées en

mode « Force Volume », ce qui permet de réaliser automatiquement un grand nombre de courbe de forces dans différentes zones du substrat. Chaque distribution de forces d'adhésion représente une population de 500 courbes de forces au retrait.

3 Titration de surface

3.1 Généralités

3.1.1 Interactions acide-base⁷

Au sens de Lewis, un acide est une espèce capable d'accepter une paire d'électrons, tandis qu'une base de Lewis est une espèce capable de fournir une paire d'électrons ($A + :B \rightarrow A:B$). En fonction de la nature des espèces acides et basiques, les interactions acide-base sont de nature covalente ou ionique. Selon le principe HSAB (Hard-Soft acide base principe), un acide dur interagit de façon ionique avec une base dure tandis qu'un acide mou interagit de façon ionique avec une base molle. Selon ce principe, l'adjectif « dur » se rapporte à une espèce de densité de charge élevée et de petite taille, tandis que « mou » est associé aux espèces de faible densité de charge et de grande taille. En général, les interactions acide-base correspondent à un cas intermédiaire. Selon cette approche, le traitement à quatre paramètres de Drago permet d'évaluer l'enthalpie ΔH_{AB} de l'interaction acide-base entre une espèce acide A et une espèce basique B en fonction de paramètres empiriques électrostatiques E_A et E_B , et de paramètres covalents C_A et C_B du couple acide-base, mesurant la force et la nature (covalente ou électrostatique) des sites d'interaction.

$$-\Delta H^{AB} = E_A E_B + C_A C_B \quad \text{Équation 3.1}$$

Les nombres de donneur DN et d'accepteur AN de Guttman permettent d'estimer le caractère acide ou basique au sens de Lewis de liquides sonde utilisés en mouillabilité. En général les liquides sont amphotères, c'est-à-dire qu'ils possèdent à la fois des propriétés acides et basiques. Par exemple, le **Tableau 3.1** présente les valeurs de AN et de DN de liquides couramment utilisés en mouillabilité. Ainsi, la détermination de l'énergie de surface d'un solide par mouillabilité dépend fortement du liquide sonde utilisé et de sa capacité à interagir avec les sites de la surface. Par conséquent, la détermination de l'énergie de surface totale d'un solide par mouillage est uniquement qualitative. Cependant, les différences de mouillage mesurées en tenant compte du caractère donneur et accepteur des liquides utilisés peuvent apporter des informations sur le caractère donneur ou accepteur de la surface.

| Composé bipolaire | AN (kcal.mol ⁻¹) | DN (kcal.mol ⁻¹) |
|--------------------|---------------------------------|---------------------------------|
| eau | 15,1 | 18 |
| formamide | 9,3 | 26,6 |
| Dymethyl sulfoxyde | 3,1 | 29,8 |

Tableau 3.1: Nombre d'accepteur (AN) et de donneur (DN) de liquides polaires

Les acides de Brönsted sont des acides de Lewis dont la composante acide est un proton H⁺. En ce sens, l'acidité de Brönsted est un cas particulier de l'acidité de Lewis. Dans la suite, la détermination des propriétés acide-base de surface des films seront discutées en termes de propriétés acide-base au sens de Brönsted, dépendantes du pH.

3.1.2 Propriétés acide-base de surface

Nous avons montré que le traitement par polymérisation plasma conduit au greffage de groupements d'anhydride maléique à la surface du PDMS, dont l'hydrolyse en milieux aqueux conduit à la formation d'acide dicarboxylique. Ce type d'espèce se caractérise par les propriétés acide-base de Brönsted, c'est-à-dire la capacité à donner ou à accepter des protons, en fonction du pH du milieu. L'équilibre acido-basique des acides au sens de Brönsted est défini par la constante d'acidité K_a.



En pratique, on utilise le pKa défini par pKa = -log₁₀K_a, ou constante de dissociation des acides. Lorsque le pH est égal au pKa du couple acide-base, il y a autant d'espèces A⁻ que d'espèces HA dans le milieu. Un acide est d'autant plus fort qu'il cède facilement son proton H⁺. En conséquence, la force des acides croît lorsque le pKa du couple acide-base décroît. Dans le cas de fonctionnalités acide-base greffées en surface, on parle de pKa de surface, autrement dit du pH auquel la surface comporte autant d'espèces sous les formes ionisées et non-ionisées.

La connaissance du ou des pKas de surface permet de prédire la présence de charges de surface en fonction du pH. Par exemple, une surface comportant des acides carboxyliques (-COOH) est chargée négativement lorsque le pH est supérieur au pKa de la surface (carboxylates -COO⁻ majoritaires). Dans le cas d'une surface comportant des groupements amines (-NH₂), la surface est chargée positivement pour des valeurs de pH inférieures au pKa de la surface (espèces NH₃⁺ majoritaires). La connaissance de la charge de surface d'un matériau en fonction du pH permet de prédire sa capacité à se lier par interactions

électrostatiques avec des espèces chargées telles que des particules colloïdales⁸, des polyélectrolytes⁹, des protéines¹⁰, pour ne citer que quelques exemples.

3.2 Titration par mesures de mouillabilité

Les travaux de Whitesides¹¹ ont permis de montrer qu'il est possible d'étudier l'ionisation des surfaces par des mesures de mouillabilité de l'eau en fonction du pH. Les premiers travaux de ce type ont été réalisés sur des substrats de polyéthylène traités par l'acide chromique et présentant des groupements acide carboxylique de surface. Ces travaux montrent que l'angle de contact de l'eau sur la surface décroît lorsque la surface est ionisée car il existe une meilleure affinité entre les molécules d'eau et les espèces ionisées (formation de liaisons hydrogène ioniques fortes¹²). Ainsi, la courbe présentant l'évolution de l'angle de contact en fonction du pH, appelée courbe de titration, ressemble à une courbe de titration classique avec un point d'inflexion attribué au pKa de la surface.

En général, les pKas de surface diffèrent des valeurs de pKa des molécules en solution. Pour des surfaces fonctionnalisées avec des acides carboxyliques, le pKa de la surface est généralement plus élevé que le pKa de l'espèce correspondante en solution. Cette tendance est généralement attribuée à l'effet de confinement des molécules sur la surface et à une diminution de la constante diélectrique locale au niveau de l'interface, défavorisant les échanges de protons H⁺.¹³ En général, l'ionisation de la surface s'étale sur une plage de pH relativement large comparativement à l'ionisation d'une espèce en solution, car les groupements de surface sont plus ou moins faciles à ioniser selon leur environnement (encombrement stérique, liaisons hydrogène intermoléculaires, environnement hydrophobe, etc.).

La **Figure 3.1** présente l'évolution de l'angle de contact de l'eau en fonction du pH sur un substrat de PDMS non traité et sur un même substrat traité 6 min par polymérisation plasma, puis hydrolysé.

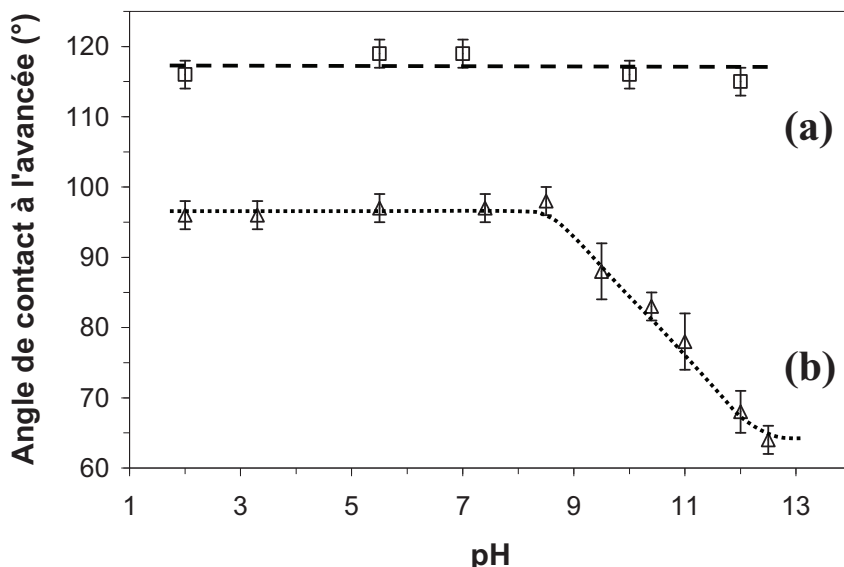


Figure 3.1: Angle de contact de l'eau en fonction du pH de la goutte. (a) PDMS non traité. (b) PDMS traité 6 min par polymérisation plasma de l'anhydride maléique, puis hydrolysé

Aucune variation de l'angle de contact en fonction du pH n'est observée sur le PDMS de référence. Dans le cas du substrat de PDMS traité, l'angle de contact ne varie pas ($\sim 98^\circ$) entre pH = 2 et pH = 9 puis décroît graduellement jusqu'à atteindre une valeur de 64° à pH = 13. Les mesures d'angle de contact ont été reproduites en alternant pH faible et pH élevé, ce qui montre que les variations observées ne sont pas liées à des phénomènes d'hydrolyse ou de dégradation de la surface sous l'effet du pH.

En conséquent, nous pouvons attribuer la dépendance en pH de l'angle de contact à l'ionisation des groupements diacides de la surface. Cependant, la courbe de titration ne montre qu'une seule étape d'ionisation entre pH = 9 et pH = 12. Or les groupements introduits sur la surface sont des acides dicarboxylique et devraient en principe présenter deux états d'ionisation. En effet, l'acide maléique en solution possède deux pKas ($pK_{a1} = 1,92$ et $pK_{a2} = 6,07$).¹⁴ La **Figure 3.2** décrit les deux étapes d'ionisation d'une molécule d'acide maléique. La différence importante entre les deux valeurs de pKa est due à la formation d'une liaison hydrogène intramoléculaire stabilisante entre l'espèce chargée et non chargée ce qui a pour effet de diminuer l'acidité du second proton comparativement au premier.¹⁵

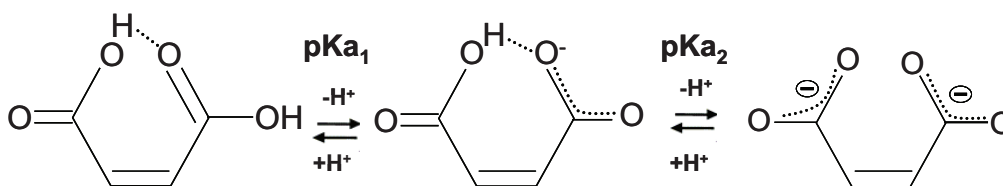


Figure 3.2: Ionisation en deux étapes de la molécule d'acide maléique

A ce stade, nous pouvons émettre l'hypothèse que l'étape d'ionisation mise en évidence par les mesures de mouillabilité est liée à la seconde étape d'ionisation des groupements diacide de surface. En effet, la liaison hydrogène interne stabilisante entre l'espèce non chargée et chargée pourrait rendre l'eau « insensible » à la première ionisation : la liaison hydrogène interne masque la charge et réduit les possibilités de liaisons hydrogène ioniques entre les molécules d'eau et le diacide partiellement ionisé.

Peu de travaux décrivent l'ionisation de groupements diacide greffés sur une surface. Sur des surfaces de silicium fonctionnalisées avec des films de copolymères alternés acide maléique / polymère hydrophobe, C. Werner et al¹⁶ ont réalisé des mesures d'angle de contact en phase inverse (bulle d'air en milieu aqueux) à différents pH. Les auteurs n'ont observé qu'une seule transition à pH>7 mais le peu de points expérimentaux présentés ne permet pas une détermination précise du pH auquel la transition apparaît. En revanche, les deux étapes de la dissociation de ces films copolymères d'acide maléique ont été mises en évidence par des mesures de potentiel d'écoulement.¹⁷

3.3 Titration de surface par FTIR-ATR

Afin de mettre en évidence l'ionisation en deux étapes de la surface, nous avons réalisé la titration de surface du film par spectroscopie infra-rouge en mode ATR (FTIR-ATR). Cette méthode, décrite par Whitesides et al¹⁸ pour la caractérisation de films de polyéthylène oxydé, consiste à stabiliser la surface dans une solution tampon à un pH donné, à la sécher, avant de réaliser le spectre FTIR-ATR. L'inconvénient de cette méthode est que le substrat doit être sec lors de la mesure et on ne peut pas totalement exclure d'éventuelles modifications de l'état d'ionisation de la surface à l'atmosphère. Cependant, les résultats obtenus par cette technique sont généralement validés par d'autres techniques de titration de surface. Il est également possible de réaliser des titrations FTIR-ATR in situ, mais cette technique nécessite une cellule liquide et de travailler en milieu deutéré, afin de s'affranchir du signal de l'eau dans la zone 1600-1700 cm⁻¹.¹⁹

La **Figure 3.3** présente les bandes C=O des spectres FTIR obtenus à partir de substrats de PDMS traités stabilisés à différents pH puis séchés sous flux d'azote. Dans un premier temps, nous pouvons remarquer que l'allure des spectres obtenus dépend du pH. Nous observons un déplacement de la bande principale comprise entre 1740 cm⁻¹ et 1680 cm⁻¹ (élongation C=O des acides carboxyliques) pour des faibles valeurs de pH dans un domaine compris entre 1530 cm⁻¹ et 1650 cm⁻¹ (élongation C=O des ions carboxylates) pour des valeurs de pH plus élevées. Ce déplacement de la bande C=O en fonction du pH atteste de la formation d'espèces ionisées lorsque le pH augmente.

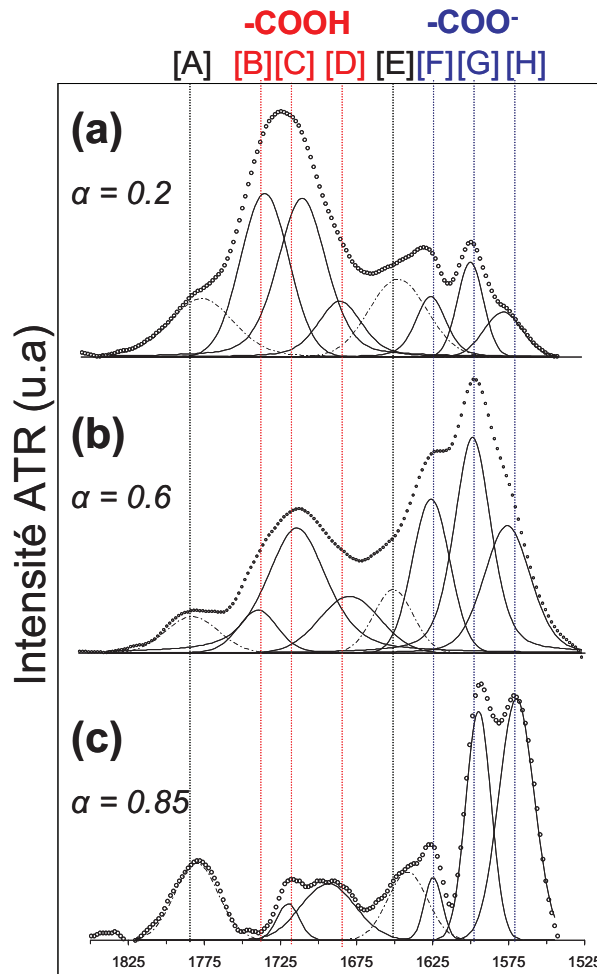


Figure 3.3 : Spectres FTIR-ATR de PDMS traité par polymérisation plasma, hydrolysé, puis stabilisé à différents pH. (a) pH = 2, (b) pH = 7, (c) pH = 11

Les bandes C=O des acides carboxyliques et des ions carboxylates sont larges et peuvent être décomposées afin de mettre en évidence les diverses formes de liaisons C=O, liées ou non liées par liaisons hydrogène. Le système étudié est particulier car il s'agit de fonctionnalités de surface dont le confinement peut générer des interactions par liaisons hydrogène intermoléculaires et la nature dicarboxylique est à l'origine de liaisons hydrogènes intramoléculaires. Le **Tableau 3.2** présente l'assignation des différents pics obtenus par décomposition spectrale.

| | Nombre d'onde | Assignment | Réf. |
|-----|-----------------------|--|------|
| [A] | 1780 cm ⁻¹ | C=O / anhydride maléique | 20 |
| [B] | 1740 cm ⁻¹ | C=O / COOH libre | 19 |
| [C] | 1720 cm ⁻¹ | C=O / COOH lié inter-moléculaire | 19 |
| [D] | 1685 cm ⁻¹ | C=O / COOH lié intra-moléculaire | 21 |
| [E] | 1644 cm ⁻¹ | eau | 20 |
| [F] | 1625 cm ⁻¹ | C=O / COO ⁻ lié intra-moléculaire | 21 |
| [G] | 1595 cm ⁻¹ | C=O / COO ⁻ lié inter-moléculaire | 21 |
| [H] | 1575 cm ⁻¹ | C=O / COO ⁻ libre | 21 |

Tableau 3.2: Assignment des pics obtenus par décomposition des spectres FTIR-ATR

Pour chaque type d'espèce, acide carboxylique ou ion carboxylate, la décomposition permet de distinguer trois types de liaisons C=O : libre, lié intermoléculaire et lié intramoléculaire. La **Figure 3.4** représente ces différents types de liaisons.

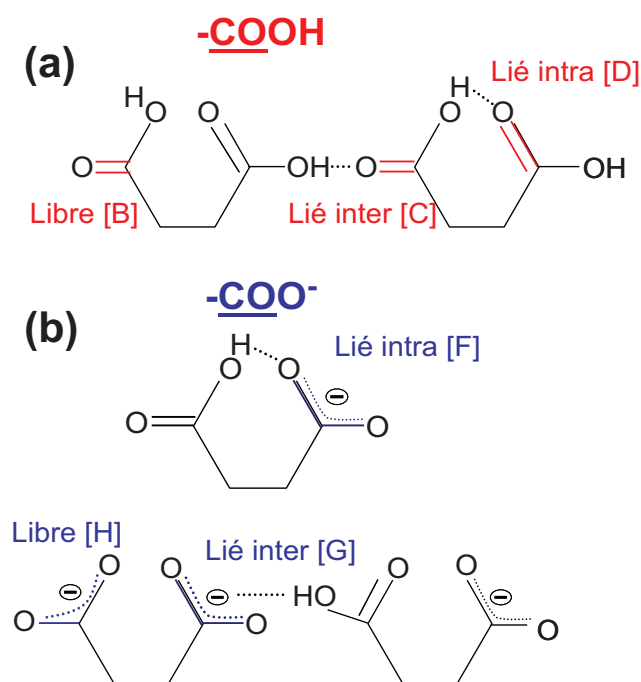


Figure 3.4: Représentation des liaisons C=O non liées et liées par liaison hydrogène des groupements diacides à l'état protoné (a) et ionisé (b)

L'attribution des pics est en accord avec la littérature. Deux tendances sont remarquables : plus un ion carboxylate -COO⁻ est lié, plus la bande C=O correspondante est déplacée vers les nombres d'onde élevés tandis que plus un acide carboxylique -COOH est lié, plus la bande C=O correspondante est déplacée vers les nombres d'onde faibles. Ces

mêmes tendances ont été observées lors de la titration FTIR de monocouches d'acides carboxyliques ou de copolymères d'acide maléique en solution.²¹

Qualitativement, nous remarquons également (Figure 3.3) que les espèces -COOH libres [B] tendent à s'ioniser à des pH plus faibles que les espèces -COOH liées [C] et [D] dont la proportion relative augmente avec le pH. Cette tendance s'explique par le fait que les espèces -COOH libres sont les moins stables et sont par conséquent déprotonées à des valeurs de pH plus faibles. Dans le cas des -COO⁻, nous remarquons que la proportion relative de la forme liée intramoléculaire [F] est maximale à des valeurs intermédiaires de pH, puis diminue fortement pour des valeurs de pH élevées, car les deux acides d'une molécule diacide sont déprotonés. Cependant, à pH élevé, il reste une forte proportion de COO⁻ liés de façon intermoléculaire [G], probablement avec d'autres types de fonctions insensibles au pH entrant dans la composition du film (-C-OH, -C-OR, ...) et donneuses de liaisons hydrogène.

A partir de la décomposition et de l'intégration des spectres FTIR obtenus à des pH compris entre 1 et 13, nous pouvons définir le ratio $R(pH)$ de l'aire des pics correspondant aux fonctions de type -COO⁻ par rapport à l'aire totale de la bande C=O correspondant aux fonctions -COOH et -COO⁻ :

$$R(pH) = \frac{A_{COO^-}}{A_{COO^-} + A_{COOH}} = \frac{(A_{1625} + A_{1595} + A_{1575})}{(A_{1625} + A_{1595} + A_{1575}) + (A_{1740} + A_{1720} + A_{1685})} \quad \text{Équation 3.4}$$

En émettant l'hypothèse que la surface est complètement protonée à pH = 1 et complètement ionisée à pH = 13, nous pouvons normaliser le ratio $R(pH)$ afin d'obtenir le degré d'ionisation $\alpha_i(pH)$:

$$\alpha_i(pH) = \frac{R(pH) - R(pH = 1)}{R(pH = 13) - R(pH = 1)} \quad \text{Équation 3.5}$$

Cette normalisation revient à négliger la contribution des -COO⁻ à pH faible et la contribution des COOH à pH élevé car ces contributions sont probablement liées à des réactions du film avec l'atmosphère (humidité à un pH différent du pH de stabilisation), à des fonctionnalités du film n'ayant pas réagi, ou au signal d'autres types de fonctionnalités (par exemple, -COOR proche de 1740 cm⁻¹) insensibles au pH.

La **Figure 3.5** présente l'évolution du degré d'ionisation en fonction du pH. L'allure de la courbe est semblable à une courbe de titration acide-base classique obtenue par dosage d'un diacide en solution. La courbe présente un comportement sigmoïdal avec deux points d'inflexion, que nous attribuons à l'ionisation en deux étapes des diacides carboxyliques greffés à la surface du substrat de PDMS. Par définition, le premier pKa de surface correspond au pH auquel 50% d'un des acides de la molécule d'acide maléique sont ionisés,

autrement dit le pH auquel 25% de la totalité des acides sont ionisés. Graphiquement, $pK_{a1} \sim 3,2$. De même, le second pK_a de surface correspond au pH auquel 50% des seconds acides de la molécule d'acide maléique sont ionisés, c'est-à-dire le pH auquel 75% de la totalité des acides sont ionisés. Graphiquement, $pK_{a2} \sim 10,5$.

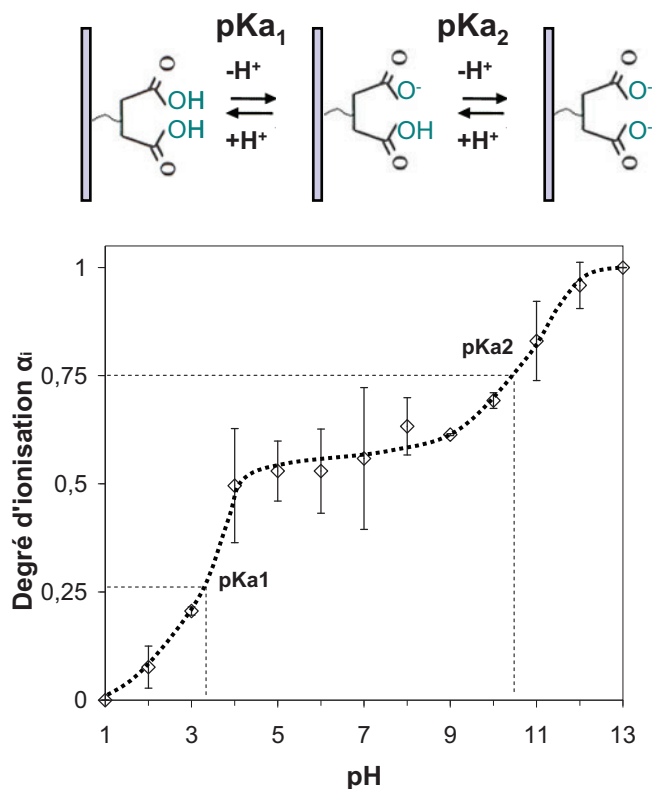


Figure 3.5: Evolution du degré d'ionisation de la surface de PDMS traitée par polymérisation plasma déterminé par FTIR-ATR, en fonction du pH

Dans le cas de l'acide maléique en solution, la différence entre le pK_{a1} et le pK_{a2} est liée au fait que la deuxième ionisation conduit à la formation de deux anions adjacents, ce qui est défavorable, alors que le premier anion est stabilisé par une liaison hydrogène interne avec l'acide carboxylique adjacent.

Nous observons également un écart important entre les pK_a s de surface, mais les valeurs sont plus élevées que les valeurs des pK_a s de la molécule d'acide maléique en solution. Ce résultat est en accord avec les études de systèmes modèles de monocouches auto-assemblées présentés dans la littérature. Des monocouches d'alcane à terminaison acide carboxylique montrent un pK_a de surface plus élevé que l'acide en solution ce qui est attribué au confinement surfacique des fonctions acides défavorisant la formation de charges.²² De plus, dans le cas de monocouches auto-assemblées mixtes acide carboxylique / alcane, des travaux montrent que le pK_a de surface augmente avec la

fraction molaire et la longueur des chaînes alcanes, c'est-à-dire en augmentant l'hydrophobicité de l'interface.²³ Cette tendance a été attribuée au changement de microenvironnement des groupements acides au sein des monocouches.

Dans le cas présent, des fonctionnalités d'anhydride maléique sont greffées au sein d'une matrice hydrophobe de PDMS modifié. L'environnement hydrophobe et le confinement interfacial des diacides liés à la structure du polymère plasma peuvent être à l'origine de l'important décalage des pKas de surface par rapport aux pKas de l'acide maléique en solution.

3.4 Comparaison des deux méthodes

La titration de surface par FTIR nous a permis de mettre en évidence les deux étapes d'ionisation de la surface. La titration par mouillabilité ne met qu'une seule étape en évidence entre pH = 9 et pH = 11. En ne considérant que la partie sigmoïdale de l'évolution de l'angle de contact en fonction du pH correspond à la seconde étape d'ionisation, nous pouvons calculer le taux d'ionisation entre pH = 8,5 et pH = 12,5 en émettant l'hypothèse que la première ionisation est complète à pH = 8,5 ($\alpha_i = 0,5$) et que la seconde ionisation est complète à pH = 12,5 ($\alpha_i = 1$).

$$\alpha_i(\text{pH}) = 0,5 + \frac{1}{2} \times \frac{\theta(\text{pH}) - \theta(\text{pH} = 8,5)}{\theta(\text{pH} = 12,5) - \theta(\text{pH} = 8,5)} \quad \text{Équation 3.6}$$

La **Figure 3.6** présente l'évolution du degré d'ionisation entre pH = 8,5 et pH = 12,5 déterminé à partir des mesures d'angle de contact en fonction du pH. Nous pouvons déterminer le pKa₂ de surface qui correspond au pH auquel $\alpha_i = 0,75$. Graphiquement, pKa₂ ~ 10,5. Ce résultat est en parfait accord avec la valeur du pKa₂ de surface déterminée par la méthode de titration FTIR-ATR, bien que les deux techniques ne sondent pas la même épaisseur du film : La mesure d'angle de contact à l'avancée est sensible aux groupements chimiques d'extrême surface « visibles » par la goutte tandis que la mesure infrarouge en mode ATR sonde une épaisseur de l'ordre du µm, bien supérieure à l'ordre de grandeur de l'épaisseur modifiée par le traitement plasma (de l'ordre de quelques nanomètres).

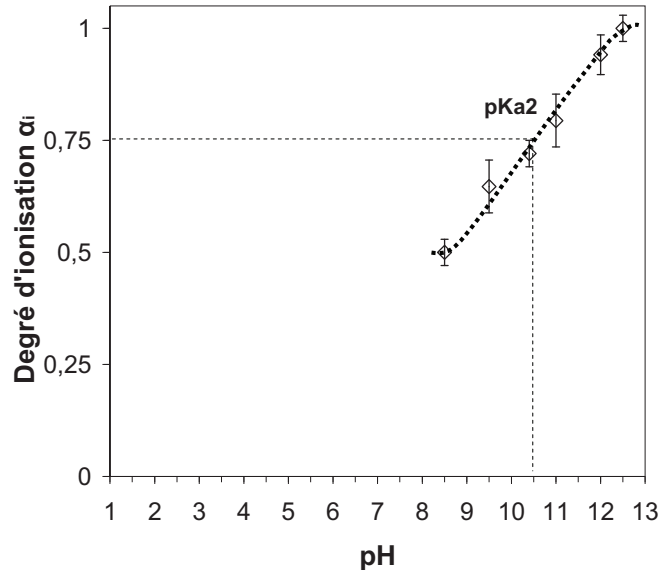


Figure 3.6 : Evolution du degré d'ionisation de la surface de PDMS modifiée par polymérisation plasma déterminé par les mesures d'angle de contact en fonction du pH

Des travaux récents montrent que des polyacides formant des peignes sur une surface plane présentent deux pKas : Un pK_a^{bulk} déterminé par FTIR et un pK_a^{surf} , plus faible, déterminé par mouillabilité. Ce résultat implique que dans ce type de système, dense et épais (quelques dizaines de nanomètres d'épaisseur), les groupements de surface sont plus faciles à ioniser que les groupements du volume, ce qui est attribuable à la densité plus importante de fonctions dans le volume et à une meilleure accessibilité des ions à la surface du film.

Dans le cas présent, il n'est pas nécessaire de faire la distinction entre le pK_a_2 du volume du film et celui de l'extrême surface. Dans la suite, nous montrerons par AFM que le pK_a_1 ne varie pas non plus selon la profondeur sondée. Rappelons toutefois que le traitement court du PDMS par polymérisation plasma conduit au greffage de groupements hydrophiles dans une matrice hydrophobe de silicone modifié, où la notion d'épaisseur est ambiguë.

3.5 Conclusion

Nous avons montré que la surface de PDMS traitée 6 min par polymérisation plasma puis hydrolysée présente des fonctions diacides carboxyliques de surface. Ces groupements sont à l'origine des propriétés acide-base de surface qui ont été mises en évidence par des mesures de mouillabilité et des mesures de spectroscopie FTIR-ATR en fonction du pH. En particulier, nous avons montré que l'ionisation de la surface se déroule en deux étapes en raison de la nature diacide des groupements d'acide maléique. Les pKas de surface (pK_a_1

$\sim 3,2$; $pK_{a2} \sim 10,5$) sont plus élevés que les pK_a s de l'acide maléique en solution. Ce décalage est attribué au confinement surfacique des groupements et au micro-environnement apolaire de la matrice de PDMS modifié, deux facteurs défavorables à l'ionisation des groupements de surface. Ces deux techniques de titration de surface ont cependant une limite : elles sont réalisées à l'air et ne tiennent pas compte de facteurs tels que les phénomènes de réorganisation aux interfaces ou la concentration en sel dans un milieu aqueux.

Dans la partie suivante, nous étudierons les propriétés acide-base de la surface in-situ, par une méthode de titration par force chimique, à l'aide d'un AFM. Nous irons bien au-delà de la détermination des pK_a s de surface puisque nous examinerons l'influence du caractère acido-basique sur les propriétés d'adhésion du film, en fonction de paramètres tels que le pH, la force ionique et la nature des sels présents dans le milieu.

4 Propriétés d'adhésion dépendantes du pH

4.1 Généralités

4.1.1 Les mesures de force par microscopie à force atomique

Depuis son invention en 1986 par Binnig et al²⁴, le microscope à force atomique (AFM) est utilisé pour déterminer la topographie de surface, mais aussi pour étudier les propriétés mécaniques et les interactions moléculaires à l'échelle locale en réalisant des mesures de force. En raison de son importante sensibilité verticale (quelques Å) et latérale (quelques nm) et de la possibilité de travailler en environnements contrôlés (liquide, température,...), l'AFM a été très rapidement développé pour la mesure de forces d'interactions intra ou inter moléculaires de macromolécules et d'objets biologiques.

Pour les mesures de forces intramoléculaires, une macromolécule est fixée à la fois sur la pointe et la surface : lors de leur séparation, la déflexion du cantilever reflète les propriétés mécaniques (élasticité, rupture, etc.) et structurales (conformation, enchevêtrement, etc.) de la macromolécule étirée.²⁵ Cette technique permet par exemple d'étudier les propriétés de polymères naturels ou de l'ADN.

Dans le cas de mesures de force intermoléculaires, pointe et surface sont fonctionnalisées.²⁶ L'acquisition des courbes force-déplacement permet de mesurer les forces d'interactions spécifiques entre la pointe et la surface. Cette technique permet d'étudier des systèmes biologiques de type ligand-récepteur entre une pointe fonctionnalisée avec le ligand et une surface fonctionnalisée avec le récepteur, et vice-versa.²⁷ Ainsi, des

phénomènes de reconnaissance moléculaire activés in-situ par des stimuli environnementaux peuvent être mis en évidence.²⁸

En microscopie à force chimique (CFM)²⁹, la pointe AFM est fonctionnalisée avec des groupements chimiques spécifiques, généralement par le greffage de monocouches auto-assemblées (SAMs). En faisant varier la nature des groupements chimiques de la pointe et le milieu de la mesure (solvant polaire ou apolaire par exemple), on peut corrélérer les forces d'adhésion pointe-surface aux interactions moléculaires spécifiques (électrostatique, liaison hydrogène, etc.).

Cette technique permet de déterminer la distribution spatiale d'hétérogénéités chimiques de surface avec une résolution latérale de quelques dizaines de nanomètres en réalisant des cartographies de forces d'adhésion³⁰ ou de friction.³¹

4.1.2 La titration par force chimique

La titration par force chimique consiste à mesurer les forces d'adhésion entre pointes et surfaces fonctionnalisées, en fonction du pH. Cette technique permet d'étudier in situ des surfaces montrant des caractéristiques acide-base au sens de Brønsted en corrélant l'évolution des interactions pointe-surface au taux d'ionisation des groupements chimiques.³² Les premiers travaux de titration par force chimique ont été appliqués à des systèmes modèles de SAMs : pointes et surfaces recouvertes d'or ont été fonctionnalisées avec des alcanes-thiol à fonctionnalité acide carboxylique (-COOH), acide phosphorique (-PO₃H₂) et amine (-NH₂).^{10,33} L'utilisation des SAMs présente l'avantage d'obtenir une chimie identique sur la pointe et la surface ce qui permet une détermination précise du ou des pK_as de surface car la pointe et la surface ont le même taux d'ionisation, quel que soit le pH.

Au-delà de l'étude de systèmes modèles, la technique de titration par force chimique a également été appliquée à l'étude de substrats polymères fonctionnalisés. Wang et al³⁴ ont réalisé des expériences de titration par force chimique sur des surfaces de PDMS présentant des groupements amines ou acide sulfonique. Dans cette étude, la surface de PDMS est traitée par plasma air afin de créer des sites silanols capables de réagir avec un dérivé trialkoxysilane à fonctionnalité variable. Les pointes AFM ont également été fonctionnalisées à partir de silanes. Récemment, des substrats de PDMS modifiés par traitement UV/ozone ont été étudiés à l'aide de pointes fonctionnalisées par des SAMs à terminaison -OH, ne montrant pas de dépendance en pH lors des mesures de force.³⁵

Il existe très peu de travaux présentant ce type de caractérisation sur des substrats modifiés par polymérisation plasma : Schönherr et al³⁶ ont déterminé le pK_a de surface de films polymère plasma d'allylamine en utilisant une pointe fonctionnalisée à l'aide de SAM's -OH. Valsesia et al³⁷ ont réalisé des mesures de forces d'adhésion entre une pointe

fonctionnalisée avec des monocouches –COOH et un film polymère plasma microstructuré de poly(acide acrylique) et poly(allylamine). Un bon contraste est obtenu entre les deux types de polymères plasma mais la détermination des pKas de surface est approximative car l'évolution de la courbe force d'adhésion en fonction du pH reflète également le taux d'ionisation de la pointe, différent de celui de la surface pour un pH donné.

Nous avons montré par mouillabilité et par spectroscopie FTIR-ATR que la surface de PDMS traitée par polymérisation plasma présente une ionisation en deux étapes liée à la présence de groupements diacides. Dans cette partie, nous utiliserons la titration par force chimique afin d'examiner l'influence des caractéristiques acide-base de la surface sur ses propriétés d'adhésion, en milieux aqueux, en fonction du pH, de la force ionique et de la nature des ions en présence.

4.2 Fonctionnalisation de la pointe AFM

4.2.1 Stratégie

Dans le but d'estimer les pKas de surface, il est souhaitable d'utiliser une pointe possédant les mêmes caractéristiques acide-base que l'échantillon. Dans cette situation, les variations de force d'adhésion liées à l'ionisation des groupes fonctionnels sont amplifiées. Par exemple, pointe et surface fonctionnalisées avec des groupements –COOH adhèrent à faible valeur de pH (par liaison hydrogène), mais se repoussent (répulsion électrostatique) à pH élevé sous leur forme ionisée –COO⁻. L'analyse des courbes de titration représentant la force d'adhésion en fonction du pH permet dans ce cas de déterminer précisément le pKa de surface de la pointe et de l'échantillon. Lorsque les propriétés acide-base de la pointe et de l'échantillon sont différentes, l'évolution des forces d'adhésion en fonction du pH reflètent à la fois l'ionisation de la pointe et de la surface. Le pKa de surface mesuré expérimentalement est alors intermédiaire entre le pKa de la pointe et le pKa de l'échantillon.

L'utilisation de pointes « neutres » qui ne montrent pas de dépendance au pH (une pointe à fonctionnalité –OH, par exemple), est une bonne alternative lorsque la chimie de surface de l'échantillon ne peut être transposée sur la pointe, mais les variations des forces d'adhésion sont moins exaltées comparativement à l'utilisation de pointes ionisables. Dans certains cas, l'utilisation d'une pointe montrant un pKa très différent du pKa de la surface à analyser permet d'étudier la surface dans des intervalles de pH pour lesquels le taux d'ionisation de la pointe est constant. Par exemple, une pointe –COOH de pKa ~ 3 peut permettre d'analyser un échantillon montrant des groupements –NH₂ de pKa ~ 8.

Dans le cas présent, nous avons choisi de fonctionnaliser la pointe AFM en nitrure de silicium par polymérisation plasma, en émettant l'hypothèse que les propriétés acide-base de la pointe sont identiques aux propriétés des substrats de PDMS modifiés. Les pointes sont

traitées dans les mêmes conditions que les substrats de PDMS mais avec un temps de traitement de 30 min, conduisant à un dépôt d'une épaisseur de l'ordre de 40 nm.

4.2.2 Propriétés acide – base de la pointe

Afin d'estimer les pKas de surface de la pointe, nous avons déterminé les pKas de surface de dépôts polymère plasma de 30 min sur des surfaces d'or préparées par évaporation thermique (Silicium / Cr 10 nm / Au 30 nm, polymère plasma). Nous émettons ici l'hypothèse que le film déposé sur une surface d'or possède les mêmes propriétés qu'un film déposé à la surface de la pointe en nitrure de silicium, ce qui est raisonnable dans la mesure où le temps de dépôt long permet d'obtenir un film suffisamment épais pour s'affranchir des propriétés du substrat. La **Figure 4.1(a)** présente la courbe de titration obtenue par IRRAS (Spectroscopie Infrarouge de Réflexion-Adsorption), réalisée selon la même méthodologie que pour la titration FTIR-ATR des substrats de PDMS traités 6 min. Les variations du taux d'ionisation en fonction du pH et les pKas de surface sont similaires aux valeurs obtenues sur les substrats de PDMS ($pK_{a1} \sim 3,2$ et $pK_{a2} \sim 10,5$).

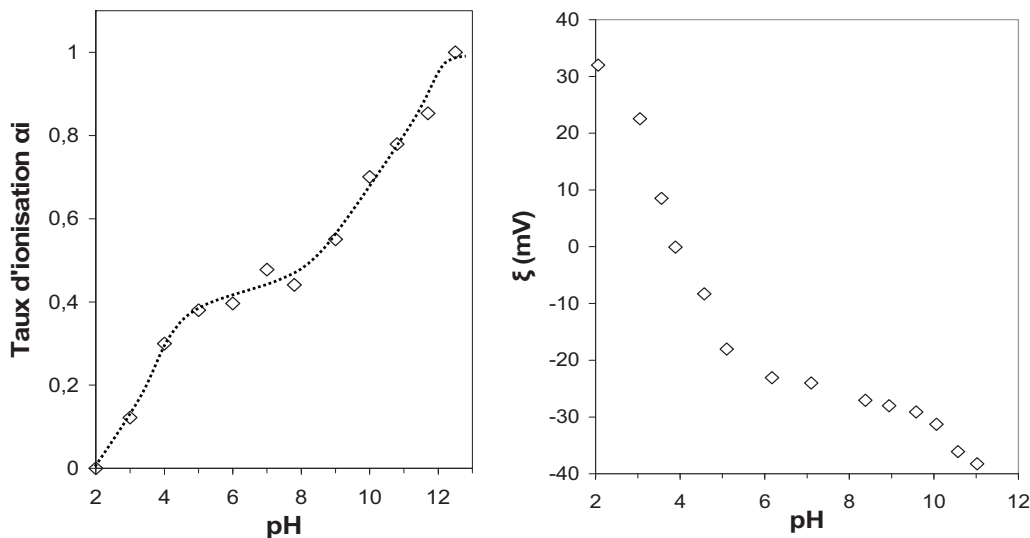


Figure 4.1: (a) Courbe de titration obtenue par IRRAS d'un film de polymère plasma déposé sur une surface d'or. (b) Evolution du potentiel zeta ξ (pH) dans une solution de $KCl 10^{-4} M$ en fonction du pH d'un film polymère plasma déposé sur une surface d'or

Nous avons également mis en évidence ces deux étapes d'ionisation in-situ par des mesures de potentiel d'écoulement en fonction du pH réalisées sur les surfaces d'or traitées par polymérisation plasma (Verre / Cr, 10 nm / Au, 30 nm / polymère plasma). La mesure de potentiel d'écoulement est une mesure indirecte de la charge de surface consistant à faire circuler un électrolyte entre deux surfaces planes de même nature. En fonction de la charge de surface, les contre-ions positifs ou négatifs forment une couche diffuse pour assurer

l'électroneutralité. Il en résulte un déséquilibre de la concentration en contre-ions dans la solution, ce qui crée une différence de potentiel entre des électrodes situées de part et d'autre de la cellule de mesure. Ce potentiel d'écoulement dépend de la compétition entre la pression de l'électrolyte dans la cellule qui tend à entraîner les contre-ions et la charge de la surface qui tend à les attirer. Ainsi, en faisant varier la différence de pression de l'électrolyte entre les deux compartiments des électrodes on a accès à la charge apparente de la surface, le potentiel zêta ξ (pH).³⁸ Lorsque le potentiel zêta est positif, la charge apparente de la surface est positive tandis que lorsque le potentiel zêta est négatif celle-ci est négative. Au point isoélectrique ou point de charge nulle de la surface, le potentiel zêta est égal 0. Le potentiel zêta traduit le déséquilibre de la concentration de contre-ions au voisinage de la surface. Ce déséquilibre provient généralement de la charge de surface, mais il peut également provenir de phénomènes d'adsorption non symétrique des contre-ions sur des sites de surface non chargés. Ce phénomène a été observé par C. Werner et al.¹⁷ sur des copolymères d'acide maléique et d'octadécène (hydrophobe).

La **Figure 4.1(b)** présente les variations du potentiel zêta ξ (pH) de la surface à faible force ionique (10^{-4} M KCl) en fonction du pH. Nous observons dans un premier temps que la courbe ξ (pH) = f (pH) présente deux zones de décroissance séparées par un plateau. Cette évolution confirme l'ionisation de la surface en deux étapes. Des variations similaires de la courbe ξ (pH) = f (pH) ont été observé par C. Werner et al.¹⁷ sur des surface fonctionnalisées avec des copolymères d'acide maléique. Nous remarquons que le potentiel zêta est positif pour de faibles valeurs de pH, le point de charge nulle étant situé à pH \sim 4. Ce résultat est surprenant car il n'y a pas de raison que la surface fonctionnalisée avec des groupements diacides soit chargée positivement, quel que soit le pH.

Dans l'hypothèse que les effets d'adsorption non symétriques sont indépendants du pH, nous pouvons considérer que la décroissance en deux étapes du potentiel zêta en fonction du pH reflète l'ionisation des groupements diacides du film polymère plasma. De plus, les deux intervalles de pH où une forte décroissance du potentiel zêta est observée sont corrélés aux domaines de pH pour lesquels de fortes variations du taux d'ionisation sont relevées par titration FTIR-IRRAS.

Ces résultats permettent donc de valider l'hypothèse selon laquelle les propriétés acide-base de la pointe AFM traitée par polymérisation plasma sont similaires à celles d'un substrat de PDMS modifié dans les mêmes conditions. Nous allons à présent discuter de la morphologie et de la stabilité du dépôt sur la pointe.

4.2.3 Morphologie de la pointe modifiée.

La **Figure 4.2** présente les images MEB d'une pointe AFM non modifiée et d'une pointe AFM traitée par polymérisation plasma pendant 30 min après utilisation, c'est-à-dire après immersions dans des solutions salines de pH variables lors des expériences de titration. Les deux types de pointe ont été recouvertes d'une couche d'or d'environ 50 nm afin d'augmenter la résolution des images MEB.

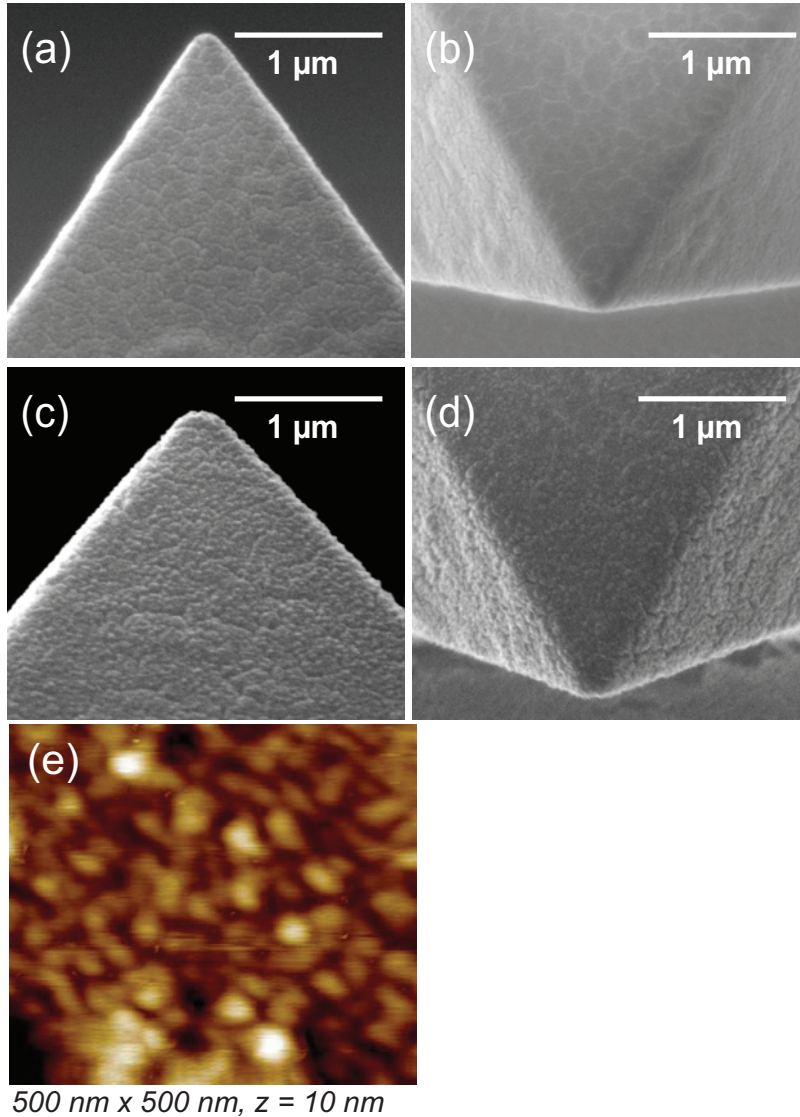


Figure 4.2: Images MEB d'une pointe AFM contact, (a) et (b) non traitée ; (c) et (d) traitée par polymérisation plasma. (e) Image AFM réalisée en mode tapping du levier supportant la pointe

La **Figure 4.2(c)** rend compte de la morphologie du polymère plasma, tandis que la **Figure 4.2(d)** montre que la géométrie pyramidale de la pointe est conservée. L'analyse des images montre que le rayon de la pointe est augmenté de l'ordre de 40 nm après traitement,

ce qui est en accord avec l'épaisseur attendue du dépôt. Nous pouvons également examiner la morphologie du dépôt sur la pointe en réalisant des images AFM d'un levier après utilisation. La morphologie du dépôt sera considérée similaire sur la pointe car la pointe et le levier sont de même nature chimique. Les images réalisées à sec, en mode tapping, révèlent une morphologie caractéristique du polymère plasma (Figure 4.2(e)).

Nous déduisons de l'ensemble de ces résultats que le traitement de la pointe AFM permet d'enrober la pointe d'un film polymère plasma de 40 nm d'épaisseur. Cette pointe constitue une sonde dont l'évolution de la charge de surface en fonction du pH est similaire à la surface de PDMS modifiée par polymérisation plasma.

La pointe AFM traitée est stable lors d'expositions prolongées dans des solutions d'électrolytes à pH variable. Cette dernière observation sera confirmée dans la suite par la répétabilité des mesures de force en fonction du temps d'immersion de la pointe. Dans la partie suivante, nous décrirons la titration par force chimique des substrats de PDMS modifiés par polymérisation plasma, réalisée à l'aide de pointes AFM également modifiées par polymérisation plasma.

4.3 Mesures de force

4.3.1 Courbes de forces sur PDMS traité et non-traité

La **Figure 4.3** compare les courbes de force réalisées dans l'eau à pH = 2, à faible force ionique ($[KCl] = 10^{-4}$ M) à l'aide d'une pointe AFM fonctionnalisée par polymérisation plasma sur des surfaces de PDMS traité et non traité. Ces exemples de courbes de forces sont représentatifs des courbes de force « typiques » obtenues en milieu liquide sur les deux types de surfaces.

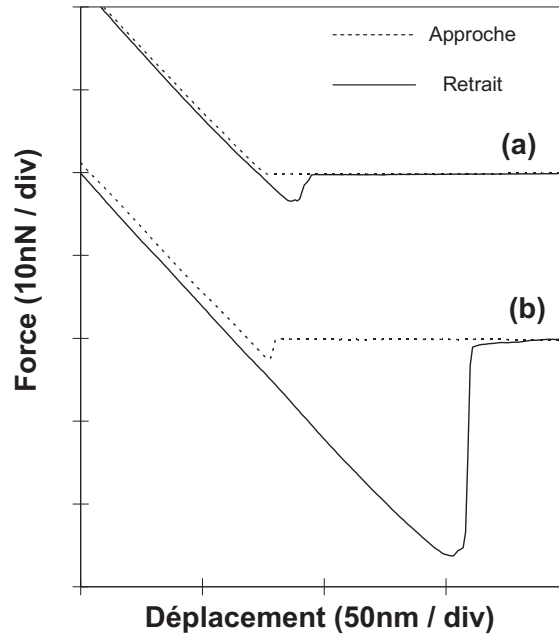


Figure 4.3 : Courbes de force typiques réalisées dans une solution de KCl 10^{-4} M à pH = 2, à l'aide d'une pointe modifiée par polymérisation plasma. (a) PDMS modifié par polymérisation plasma, (b) PDMS non traité

Remarquons tout d'abord que le levier ($k \sim 0,25 \text{ N.m}^{-1}$) utilisé pour les mesures de force est insensible au module d'Young du substrat de PDMS. En effet, la pente de la partie linéaire des courbes déflexion en fonction du déplacement dans la zone de contact est environ égale à l'unité, c'est-à-dire que la surface est très rigide comparativement à la raideur du levier. En d'autres termes, lorsque la pointe et l'échantillon sont en contact, dans la partie linéaire de la courbe de force, la pointe ne s'enfonce pas dans le matériau mais c'est le levier qui subit une déflexion proportionnelle au déplacement de l'échantillon. En conséquence, les mesures de force réalisées dans le cadre de cette étude ne permettent pas de mettre en évidence des modifications du module élastique de la surface susceptibles d'être induites par le traitement plasma.

Nous remarquons cependant que les forces d'attraction à l'approche et les forces d'adhésion au retrait sont plus élevées sur les substrats de PDMS non-traités comparativement aux substrats traités 6 min par polymérisation plasma. La création de nouvelles interfaces avec l'eau est d'autant plus coûteuse en énergie que la surface est hydrophobe. La différence de mouillabilité de l'eau sur une surface de PDMS (119°) et une surface de PDMS traitée par polymérisation plasma (98°) suggère que la contribution des interactions hydrophobes sur les forces d'adhésion doit être plus importante dans le cas du PDMS non traité.

D'autre part, la pointe présentant des groupements diacide peut également interagir spécifiquement avec la surface de PDMS, ce qui contribue à la force d'adhésion. Les travaux d'Haidara et al.³⁹ montrent que la valeur expérimentale et la valeur théorique de la tension interfaciale eau - huile de silicone calculée en émettant l'hypothèse que la composante polaire de l'énergie de surface du PDMS est nulle peuvent présenter un écart de près de 20%. Ce résultat suggère l'existence d'interactions polaires entre le silicone et l'eau, probablement par la formation de liaisons hydrogène entre l'eau et le doublet de l'oxygène des chaînes de silicone. En pratique, cette propriété est mise à profit dans le collage du silicone sur une surface de verre « propre » comportant des groupements silanols. Cette propriété est également exploitée pour l'élaboration de gels de silicone à partir de chaînes de silicone à fonctionnalité $-COOH$ capables de former des liaisons hydrogène entre les $-COOH$ de la pointe et le doublet de l'oxygène des chaînes siloxane $Si-O-Si$.⁴⁰

Enfin, les différences de force d'adhésion mesurées entre le PDMS modifié et le PDMS traité proviennent également de la surréticulation de la surface de PDMS sous l'effet du traitement plasma. En premier lieu, la surréticulation qui entraîne une augmentation du module de surface peut causer une réduction de l'aire de contact entre la pointe et la surface, et donc réduire le nombre de sites d'interactions spécifiques. Par ailleurs, la surréticulation entraîne une diminution des effets de dissipation viscoélastique qui influencent fortement le travail d'adhésion thermodynamique, selon le modèle rhéologique de l'adhésion.^{41,42} Dans leurs travaux portant sur le traitement UV de surfaces de PDMS, Vansco et al.³⁵ confirment ces observations en attribuant la diminution des forces d'adhésion entre une pointe $-OH$ et la surface de PDMS oxydée à ces effets liés au durcissement de la surface.

Si l'on considère l'allure typique des courbes de force obtenues dans l'eau sur une surface de PDMS non traitée (Figure 4.3(b)), on observe que le saut à l'adhésion (« pull-on ») et la séparation entre la pointe et la surface (« pull-off ») sont abruptes. Ces allures sont surprenantes dans la mesure où le matériau étudié est élastique (et, en particulier, viscoélastique). En général, on observe sur ce type de matériau une séparation progressive de la pointe et de la surface liée à l'étirement de la surface (Figure 4.4(b)). De même, à l'approche, une phase d'indentation peut être induite par les forces d'attraction (Figure 4.4(a)).⁴³ En effet, la déflexion progressive du cantilever est généralement observée sur une distance relative pointe-échantillon supérieure à la portée des forces attractives de Van der Waals. La difficulté est de déterminer à quel moment la pointe entre en contact avec l'échantillon, ce qui rend la détermination de la profondeur d'indentation approximative. La pointe cesse de s'enfoncer dans le matériau lorsque l'équilibre entre les forces d'attraction et

les forces élastiques du substrat est atteint. Le cantilever subit alors une déflexion positive linéaire, proportionnelle au déplacement du piézo.

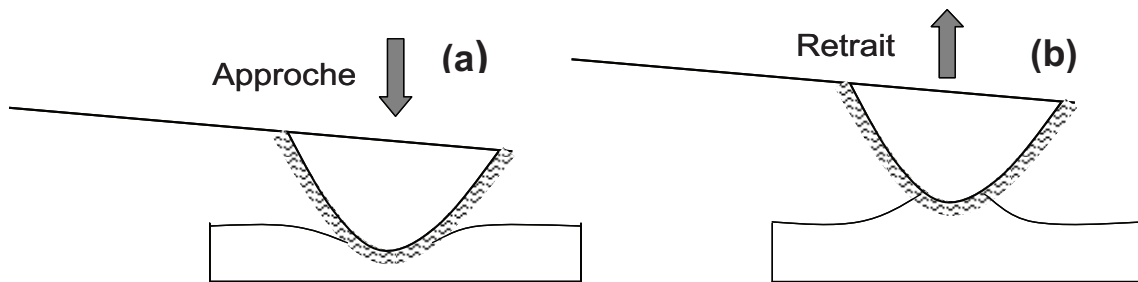


Figure 4.4 : Déformation d'une surface élastique en interaction adhésive avec la pointe AFM lors de la mesure de force : (a) approche (b) le retrait

Les courbes de forces réalisées sur un substrat de PDMS à l'air dans les mêmes conditions montrent l'allure caractéristique d'un matériau élastique, comme cela est représenté sur la **Figure 4.5**.

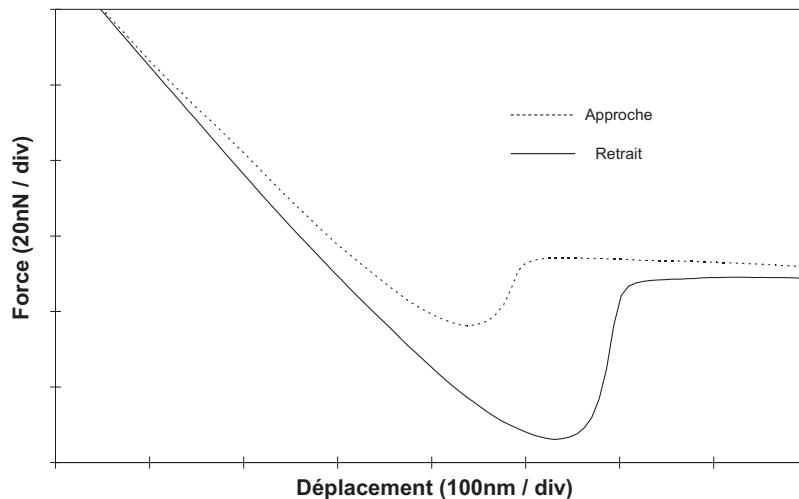


Figure 4.5 : Courbe de force typique obtenue à l'air sur un échantillon de PDMS non traité, avec une pointe modifiée par polymérisation plasma

La différence entre l'allure des courbes de force obtenues sur le PDMS dans l'air et dans l'eau s'explique si l'on considère le caractère dynamique de la mesure de force : lors des mesures en milieu aqueux, les forces d'attraction entre la pointe et la surface sont diminuées par la couche d'hydratation formée sur la pointe, ce qui réduit l'indentation. Cette couche d'hydratation est probablement déplacée lors du contact. Au retrait, la séparation de la pointe et de la surface est « accélérée » par le mouillage de la pointe hydrophile : dès que la séparation est suffisante pour que l'eau « voit » les deux nouvelles interfaces, les liaisons hydrogène pouvant exister entre la pointe et les chaînes siloxanes sont écrantées par la

couche d'hydratation se formant sur la pointe. En conséquence, la séparation de la pointe et de la surface de PDMS est abrupte.

Au contraire, dans l'air, l'énergie interfaciale pointe-air est plus élevée que l'énergie interfaciale pointe-PDMS (formation de liaisons hydrogène). Lorsque la pointe et la surface de PDMS sont progressivement séparées, une partie des interactions spécifiques entre la pointe et la surface sont maintenues et la surface de PDMS est étirée ce qui se manifeste expérimentalement par une séparation plus progressive de la pointe et de la surface. Remarquons que dans le cas de matériaux viscoélastiques comme le PDMS, la profondeur d'indentation à l'approche, la séparation progressive de la pointe et de la surface au retrait et la force d'adhésion dépendent de la vitesse d'approche/retrait et du temps de contact de la pointe sur la surface.⁴⁴ Ces paramètres doivent être maintenus constants si l'on s'intéresse à l'influence des interactions moléculaires spécifiques sur la force d'adhésion pointe-surface. Dans tous les cas, la dissipation viscoélastique conduit à une amplification du travail réversible d'adhésion d'un facteur multiplicateur caractéristique du matériau viscoélastique.^{41,42}

4.3.2 Conséquences en imagerie

La diminution des interactions adhésives pointe-surface en milieux aqueux a des conséquences en imagerie en mode contact sur ce type de matériau : l'imagerie en milieu aqueux avec une pointe hydrophile, à faible taux d'appui permet de réduire les interactions pointe substrat et ainsi de diminuer les effets dus à la pégosité. Par exemple, la **Figure 4.6** présente les images AFM d'un échantillon de PDMS réalisées en mode contact, dans l'air et dans l'eau. Dans les deux cas, les images sont réalisées avec un levier de constante de raideur très faible ($0,06 \text{ N.m}^{-1}$), avec une pointe traitée 2 min par polymérisation plasma. Ce temps de traitement court est utilisé afin de rendre la surface plus hydrophile sans trop augmenter son rayon. Un taux d'appui («déflexion setpoint») minimal permettant de suivre la topographie est appliqué afin de réduire les interactions pointe-surface. Les images à l'air et dans l'eau sont réalisées exactement dans la même zone. La rugosité apparente de l'échantillon est plus élevée dans le cas où l'analyse est réalisée dans l'air. Les sections correspondantes illustrent cette observation. Ce phénomène est lié à l'indentation induite par les forces d'attraction entre la pointe et la surface dans l'air. Il est donc préférable de réaliser les images du PDMS dans l'eau afin de réduire ces effets, ce qui permet d'obtenir des images mieux résolues et dont la rugosité apparente est plus représentative de la rugosité réelle de l'échantillon.

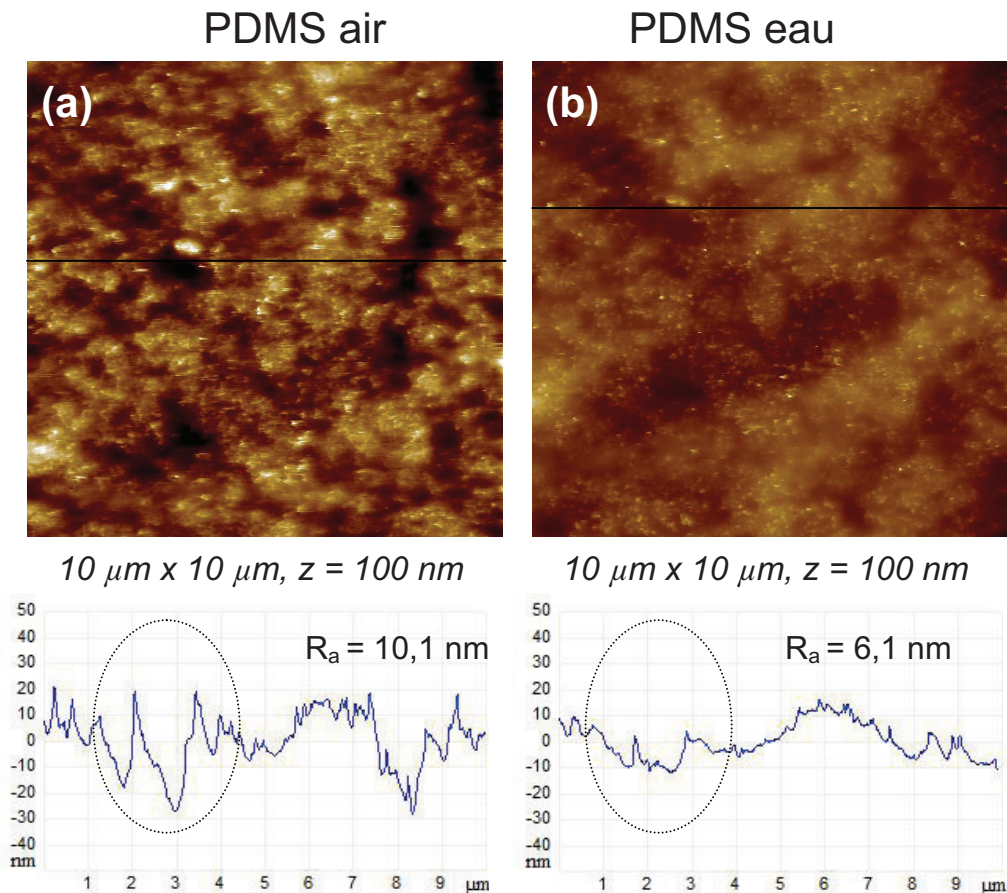


Figure 4.6 : Images AFM d'un substrat de PDMS réalisées en mode contact, dans des conditions d'appui très faibles, (a) à l'air, (b) dans l'eau. Les images ont été réalisées dans la même zone de l'échantillon. Les sections correspondent à la même zone de l'échantillon imagé dans l'air et dans l'eau

4.4 Titration par force chimique

4.4.1 PDMS non traité

La **Figure 4.7** présente l'évolution des forces d'adhésion mesurées sur un substrat de PDMS non traité en fonction du pH, à faible force ionique et force ionique élevée, à l'aide d'une pointe AFM modifiée par polymérisation plasma.

Quelle que soit la force ionique, nous observons que les forces d'adhésion ne varient pas entre $\text{pH} = 2$ et $\text{pH} = 11$ puis diminuent fortement pour des valeurs de pH supérieures à 11. Nous avons vu par titration infrarouge et par mesure de potentiel d'écoulement que le second pK_a de la pointe se situe à $\text{pH} \sim 10,5$ ce qui signifie que 75% des groupements acides de la surface sont sous la forme COO^- à cette valeur de pH. Au-delà, l'ionisation est quasiment totale, autrement dit les groupements acide de la pointe ne peuvent plus interagir par liaisons hydrogène avec les groupements siloxane du PDMS (au niveau des doublets de

l'oxygène), ce qui explique la faible adhésion de la pointe et de la surface de PDMS à pH élevé. Dans ce sens, des travaux montrent par des tests JKR que l'adhésion entre des monocouches à fonctionnalité $-OH$ ou $-COOH$ de concentration variable et un échantillon de PDMS réticulé augmente avec l'acidité et la concentration des groupements de la pointe.⁴⁵

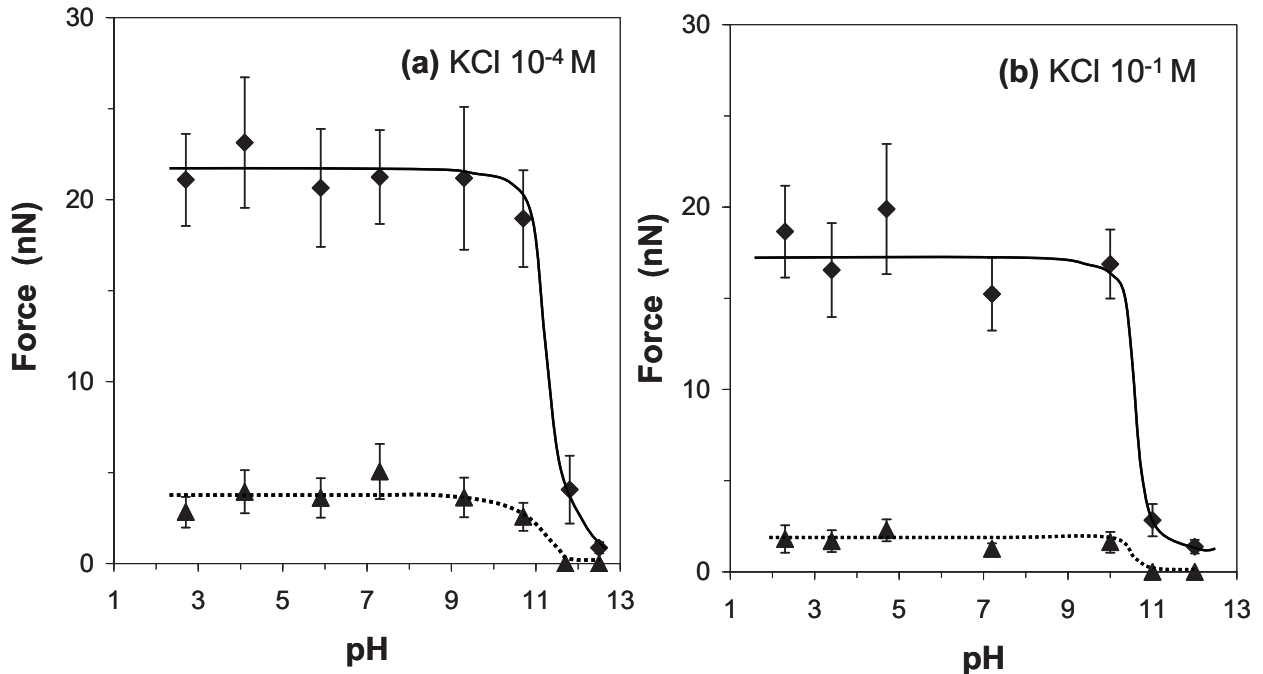


Figure 4.7 : Evolution des forces de pull-on (♦♦♦) et de pull-off (—) en fonction du pH entre une pointe AFM modifiée par polymérisation plasma et une surface de PDMS à différentes concentrations de KCl : (a) $10^{-4}\ M$ et (b) $10^{-1}\ M$

Les forces d'adhésion entre la pointe modifiée par polymérisation plasma et la surface de PDMS sont insensibles à la première ionisation de la pointe à $pH \sim 3,2$. Ce résultat suggère qu'un seul groupement acide protoné $-COOH$ par molécule de diacide établit une liaison hydrogène avec les chaînes siloxanes $Si-O-Si$ à faible valeur de pH, l'autre groupement acide de la molécule de diacide étant susceptible de former une liaison hydrogène intramoléculaire. Enfin, nous remarquons que les forces d'adhésion réalisées sur les substrats de PDMS ne varient pas significativement en fonction de la force ionique, ce qui confirme que les interactions entre la pointe modifiée et le PDMS ne sont pas de nature électrostatique.

4.4.2 PDMS traité 6 min

Nous avons montré que la pointe AFM et la surface de PDMS modifiées par polymérisation plasma de l'anhydride maléique ont des propriétés acide-base similaires : pointe et surface fonctionnalisées présentent le même degré d'ionisation à un pH donné.

Cette propriété nous a permis de réaliser la titration par force chimique de la surface de PDMS modifiée.

La **Figure 4.8** représente des courbes de force typiques réalisées en milieu aqueux, entre une pointe AFM et un substrat de PDMS tous deux modifiés par polymérisation plasma à différentes valeurs de pH, à une concentration de KCl constante de 10^{-4} M.

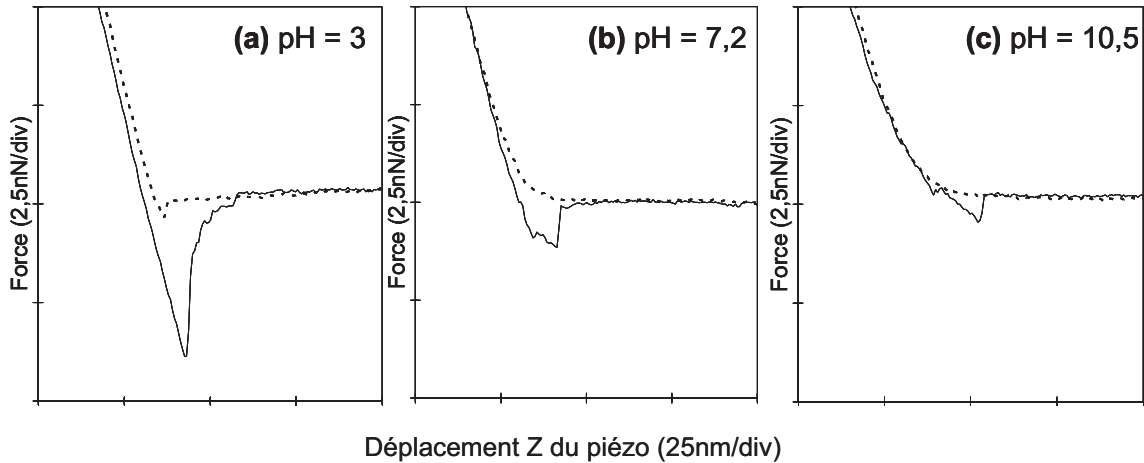


Figure 4.8 : Courbes de force-déplacement typiques obtenues entre une pointe AFM et une surface de PDMS modifiées par polymérisation plasma dans une solution de KCl de 10^{-4} M, à différentes valeurs de pH : (a) pH = 3 ; (b) pH = 7,2 ; (c) pH = 10,5. Les courbes de force à l'approche (---) et au retrait (—) sont représentées pour chaque valeur de pH

Nous observons une diminution significative des forces d'attraction à l'approche (« pull-on ») et des forces d'adhésion au retrait (« pull-off ») pour des valeurs croissantes de pH. Nous remarquons que les forces à l'approche sont très faibles comparativement aux forces au retrait, notamment parce que le système étudié est déformable et viscoélastique. Malgré ces différences, les courbes à l'approche et au retrait peuvent être traitées de la même manière en traçant la valeur moyenne des forces de « pull-on » et de « pull-off » en fonction du pH et de la force ionique afin d'obtenir les courbes de « titration par force chimique ».

La **Figure 4.9** présente les courbes de titration par force chimique réalisées à différentes concentrations en KCl.

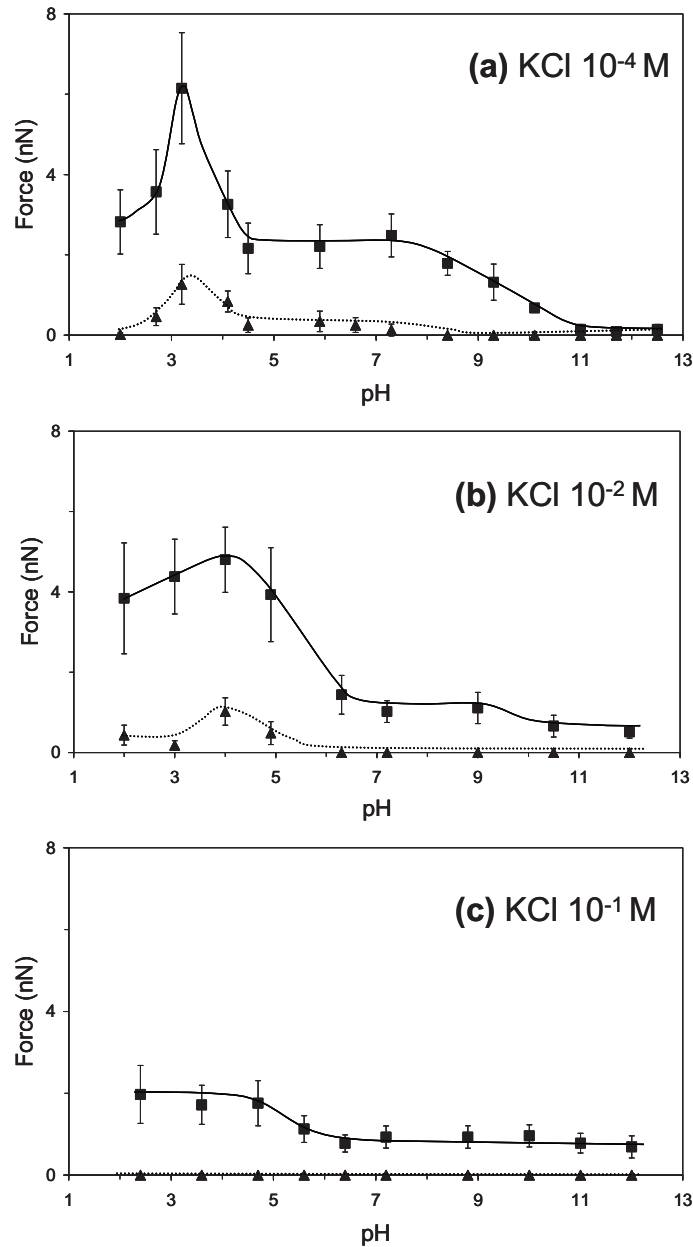


Figure 4.9 : Courbes de titration par force chimique obtenues à partir des mesures de force entre une pointe AFM et une surface de PDMS modifiées par polymérisation plasma de l'anhydride maléique réalisées à des concentrations de KCl de (a) $10^{-4}M$, (b) 10^{-2} , (c) $10^{-1} M$. Les valeurs des forces de pull-on à l'approche (---) et de pull-off au retrait (—) sont représentées pour chaque valeur de pH

Quel que soit le pH ou la concentration en sel, les forces à l'approche sont plus faibles que les forces au retrait. A des valeurs de pH élevées ou dans des conditions de force ionique élevées, les forces d'attraction à l'approche sont nulles ou trop faibles pour être mesurées avec la constante de raideur de levier utilisée dans cette étude ($k \sim 0,25 \text{ N.m}^{-1}$). Cependant, pour des valeurs de pH comprises entre $\text{pH} = 2$ et $\text{pH} = 7$, nous remarquons que

les forces de « pull-on » et de « pull-off » suivent des variations similaires, ce qui indique que les interactions attractives à l'approche sont corrélées aux interactions moléculaires spécifiques à l'origine de l'adhésion entre la pointe et la surface.

Dans un premier temps, nous analyserons l'évolution des forces d'adhésion en fonction du pH et de la force ionique afin d'estimer les pKas de surface des groupements diacide greffés sur la surface de PDMS. Nous utiliserons ensuite les informations relatives aux courbes de force à l'approche afin d'analyser plus précisément la nature des interactions moléculaires spécifiques à l'origine de l'adhésion interfaciale.

4.4.3 pKas de surface

La courbe de titration par force chimique obtenue à partir des mesures de forces d'adhésion réalisées à une concentration en KCl de 10^{-4} M passe par un maximum à pH $\sim 3,5$ (Figure 4.9(a)). Ce maximum est moins prononcé pour une concentration de KCl de 10^{-2} M (Figure 4.9(b)) tandis que la courbe montre une allure sigmoïdale pour une concentration de 10^{-1} M (Figure 4.9(c)). Des tendances similaires ont été observées dans le cas de mesures de forces réalisées entre une pointe AFM et un échantillon tous deux modifiés avec des SAMs à fonctionnalité acide carboxylique.⁴⁶ Dans ces travaux, la courbe de titration obtenue à faible force ionique présente un pic au pH auquel les forces d'adhésion pointe-surface sont maximales. Ce pic est attribué à la formation de liaisons hydrogène ioniques se formant entre des espèces neutres (-COOH) et des espèces chargées (-COO⁻) de la pointe et de la surface. Des travaux théoriques démontrent que les liaisons hydrogène ioniques -COO⁻...HOOC- sont plus forte que les liaisons hydrogène entre espèces neutres du type -COOH...HOOC-.⁴⁷ Statistiquement, il existe un maximum de liaisons de ce type lorsque la moitié des groupements acides de la pointe et de l'échantillon sont ionisés, c'est-à-dire lorsque le pH est égal au pKa de la pointe et de la surface (dans le cas où pointe et surface ont des propriétés acide-base similaires).

Concentrons-nous dans un premier temps sur la courbe de titration obtenue à faible concentration de KCl. A pH < 2 , la majorité des groupements acides sont protonés et lorsque pointe AFM et substrat de PDMS modifiés sont en contact, des liaisons hydrogène intermoléculaires -COOH...HOOC- se forment entre les groupements de la pointe et de la surface, comme le décrit la Figure 4.10(a). Lorsque le pH augmente (pH > 2), nous avons montré par titration FTIR que la première ionisation des groupements diacides débute. Par conséquent, une proportion croissante des liaisons hydrogène intermoléculaires entre la pointe et l'échantillon sont de type ionique -COO⁻...HOOC-. La force d'adhésion maximale est mesurée à pH $\sim 3,5$ lorsque le nombre de liaisons de ce type est maximal (Figure 4.10(b)). Dans le cas d'acides carboxyliques simples, le pKa de surface est attribué au pH auquel les forces d'adhésions maximales sont mesurées. Par analogie, dans le cas de

diacides, nous pouvons attribuer le pH auquel les forces d'adhésion sont maximales au pK_{a1} de la surface.

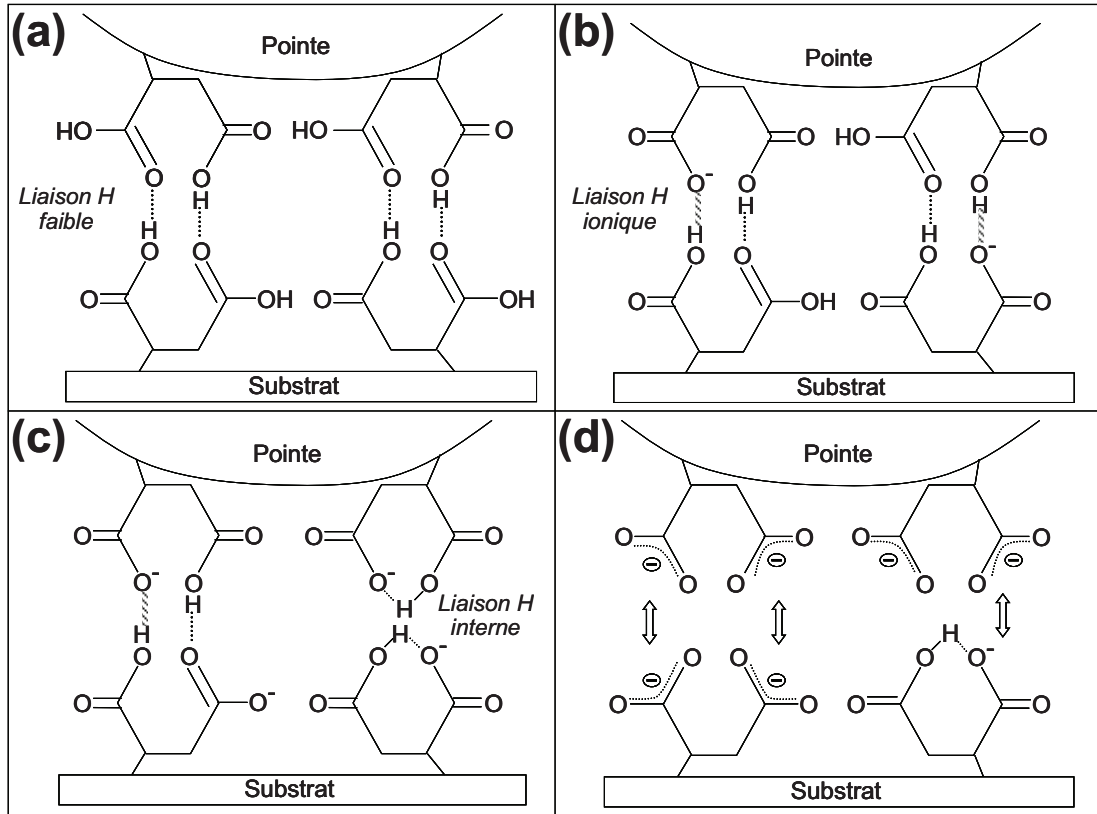


Figure 4.10 : Représentation schématique des interactions spécifiques entre pointe AFM et substrat de PDMS modifiés par polymérisation plasma à faible force ionique, en fonction du pH. (a) $pH > 3$; (b) $pH \sim 3,5$; (c) $4 < pH < 7-8$; (d) $pH > 10$

Cette valeur est parfaitement corrélée avec la valeur de pK_{a1} de surface déterminée par FTIR-ATR. Lorsque le pH est augmenté ($pH > 3,5$), davantage d'espèces $-COO^-$ se forment sur la pointe et la surface ce qui se traduit par une diminution des forces d'adhésion. Un plateau est observé entre $pH = 5$ et $pH = 8$. Dans cet intervalle de pH, la première ionisation des groupements diacide de la pointe et de la surface est complète. Des liaisons hydrogène ioniques (fortes) intramoléculaires existent alors entre les groupements protonés et les groupements ionisés pour l'ensemble des groupements diacides de la pointe et de la surface. Lorsque la pointe et la surface sont en contact, cette liaison hydrogène interne a pour effet de diminuer le caractère ionique des liaisons hydrogène intermoléculaires entre les groupements de la pointe et de la surface : la liaison hydrogène interne compense la charge de l'anion COO^- tout en diminuant l'acidité de l'espèce $-COOH$ adjacente. Ainsi, en moyenne, les interactions ioniques entre groupements de la pointe et de la surface sont plus faibles que celles observées au pK_{a1} où un maximum de groupements diacides non ionisés peuvent former des liaisons hydrogène ioniques intermoléculaires avec des groupements

diacide partiellement ionisés. La Figure 4.10(c) schématise cette situation en représentant deux situations extrêmes « instantanées ». Dans la première, la liaison hydrogène interne n'est pas prise en compte et des liaisons hydrogène ioniques se forment entre la pointe et la surface. Dans la seconde situation, les liaisons hydrogène ioniques intramoléculaires prévalent sur les liaisons intermoléculaires afin de minimiser les charges négatives à l'origine de répulsions électrostatiques entre diacides de la pointe et de la surface. La situation réelle correspond probablement à une « moyenne » de ces deux situations. Pour des valeurs élevées de pH ($\text{pH} > 8$), les forces d'adhésion diminuent progressivement avant d'être nulles à $\text{pH} > 11$. La décroissance des forces d'adhésion entre $\text{pH} = 8$ et $\text{pH} = 11$ correspond à la seconde ionisation des groupements diacides de la pointe et de la surface. Lorsque les groupements de la pointe et de la surface sont complètement ionisés, ceux-ci ne peuvent plus interagir par liaison hydrogène et subissent au contraire une répulsion électrostatique (Figure 4.10(d)). D'après la courbe de titration, nous pouvons estimer que $\text{pK}_{a2} \sim 9,5$.

4.4.4 Effet de la force ionique

Discutons à présent de l'effet de la force ionique sur l'allure des courbes de titration par force chimique. Nous observons que le maximum de force d'adhésion est moins prononcé pour $\text{KCl } 10^{-2} \text{ M}$ comparativement à $\text{KCl } 10^{-4} \text{ M}$, puis disparaît totalement pour une concentration de 10^{-1} M (Figure 4.9). Les forces d'adhésion maximales sont observées au pH auquel le plus grand nombre de liaisons hydrogène ioniques $-\text{COO}^- \cdots \text{HOOC}-$ peuvent se former entre les groupements diacide de la pointe et de la surface. Lorsque la force ionique augmente, davantage de contre-ions K^+ se condensent sur les ions carboxylate ce qui conduit à une diminution du caractère ionique des liaisons hydrogène intermoléculaires entre les groupements diacide de la pointe et de la surface de l'échantillon. Par conséquent, les forces d'adhésion mesurées à force ionique élevée (10^{-1} M) sont plus faibles et moins sensibles aux variations de pH que les forces d'adhésion mesurées pour des concentrations de sel plus faibles. A pH élevé ($\text{pH} > 9$), au niveau de la seconde étape d'ionisation des diacides, les contre-ions K^+ diminuent également la répulsion électrostatique des espèces ionisées de la pointe et de la surface : les forces d'adhésion sont non nulles à pH élevé pour des concentrations de KCl de 10^{-2} M et 10^{-1} M .

4.4.5 Nature des interactions pointe-surface

A ce stade, les pK_a s de surface ont été estimés à partir de l'étude de l'évolution des forces au retrait (« pull-off ») en fonction du pH. En particulier, les variations de forces d'adhésion sont exaltées à faible force ionique par la formation de liaisons hydrogène ioniques entre la pointe et la surface.

A présent, les courbes de force à l'approche peuvent nous apporter des informations complémentaires concernant la nature des interactions entre la pointe et la surface à l'origine de l'adhésion interfaciale. Similairement à la courbe de titration obtenue à partir des forces de « pull-off », les variations des forces de « pull-on » en fonction du pH montrent un maximum à $\text{pH} \sim 3,5$ à force ionique modérée (Figure 4.9 (a)). Ces forces résultent d'un équilibre entre les forces attractives de Van der Waals, les interactions attractives par formation de liaisons hydrogène, et les forces de répulsion électrostatique (forces de double couche électrique). Les interactions de type électrostatique et liaisons hydrogène dépendent du degré d'ionisation de la surface, et donc du pH, tandis que les forces de Van der Waals, entre dipôles instantanés ou induits, sont généralement indépendantes du pH. Par conséquent, les variations de forces d'attraction mesurées en fonction du pH sont attribuées uniquement aux interactions électrostatiques et par liaisons hydrogène. La **Figure 4.11** présente des courbes de forces à l'approche typique obtenues pour différentes valeurs de pH à concentration d'électrolyte faible et élevée.

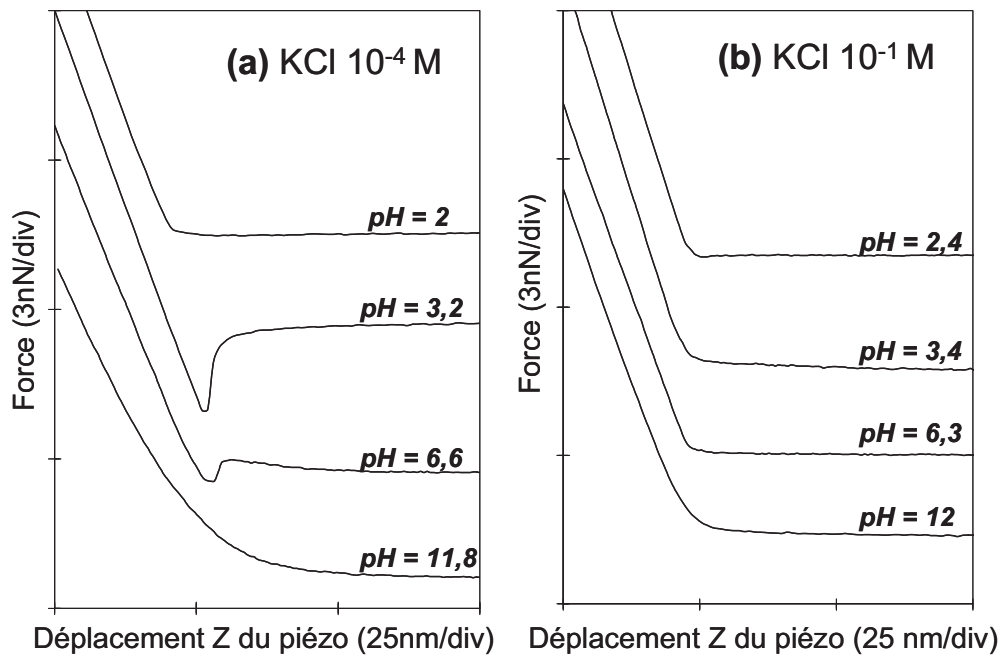


Figure 4.11 : Courbes de forces à l'approche typiques obtenues à différentes valeurs de pH dans (a) $\text{KCl } 10^{-4} \text{ M}$ et (b) $\text{KCl } 10^{-1} \text{ M}$

A $\text{pH} = 2$, lorsque la majorité des groupements diacide de la pointe et de la surface est complètement protonée, aucune force attractive ou répulsive n'est mesurée dans la phase d'approche de la pointe et de l'échantillon. Ce résultat montre que les forces de Van der Waals sont trop faibles pour être mesurées dans les conditions expérimentales utilisées ici. Lorsque le pH est augmenté, des forces attractives apparaissent clairement à force ionique faible ($\text{KCl } 10^{-4} \text{ M}$). Ces forces sont maximales à $\text{pH} \sim 3,5$. L'attraction n'est pas observée à

force ionique élevée. Comme les interactions par liaisons hydrogène entre espèces neutres $-\text{COOH}\cdots\text{HOOC}-$ ne dépendent pas de la force ionique, les forces attractives observées à faible force ionique doivent être principalement dues aux interactions hydrogène intermoléculaires entre les espèces neutres et les espèces ionisées $-\text{COO}^- \cdots \text{HOOC}-$, comme nous l'avons suggéré à partir de l'analyse des forces de « pull-off ». De plus, la disparition des forces attractives à force ionique élevée est probablement liée à la condensation de contre-ions K^+ sur les groupements carboxylate, ce qui a pour effet de faire écran aux interactions hydrogène ioniques. Entre $\text{pH} = 6$ et $\text{pH} = 9$, les forces attractives mesurées à force ionique faible sont diminuées, puis disparaissent à $\text{pH} > 9$. La Figure 4.11 (a) montre clairement une répulsion à pH élevé ($\text{pH} = 11,8$) tandis qu'à des valeurs de pH intermédiaires ($\text{pH} = 6,6$), les forces d'attraction à courte portée se superposent aux forces répulsives à longue portée. En d'autres termes, les forces attractives dues aux interactions hydrogène ioniques $-\text{COO}^- \cdots \text{HOOC}$ sont progressivement substituées par des forces électrostatiques répulsives $-\text{COO}^- \leftrightarrow ^-\text{OOC}-$ lorsque le pH augmente. Parce que les groupements chimiques à l'origine de ces interactions sont des diacides, à pH intermédiaire, les groupements partiellement ionisés sont à l'origine de forces répulsives à longue portée, puis les forces d'attraction par liaisons hydrogène sont observées lorsque la distance de séparation entre les groupements de la pointe et de la surface est suffisamment faible.

La **Figure 4.12** présente des exemples de courbes force-séparation à l'approche, à pH élevé pour différentes concentrations d'électrolyte.

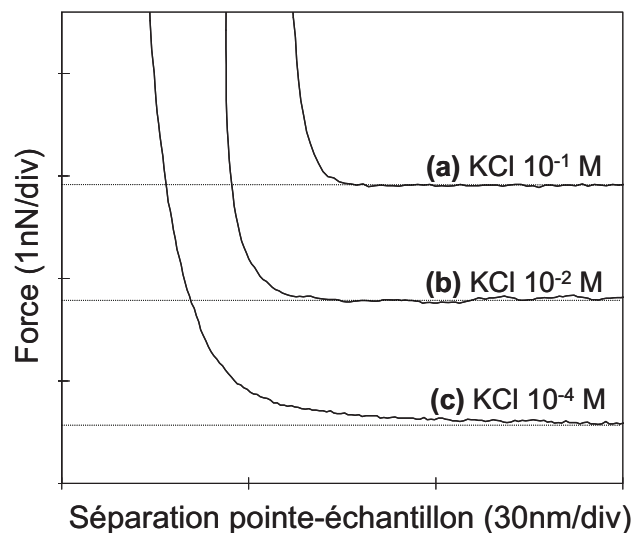


Figure 4.12: Courbes force-séparation typiques obtenues à l'approche, à $\text{pH} \sim 12$, à différentes concentrations d'électrolyte. (a) $\text{KCl } 10^{-1} \text{ M}$, (b) $\text{KCl } 10^{-2} \text{ M}$, (c) $\text{KCl } 10^{-4} \text{ M}$

Qualitativement, nous observons que l'amplitude et la portée des interactions répulsives décroissent lorsque la force ionique augmente. Dans le cas d'un électrolyte 1:1, la longueur

de Debye ($1/\kappa$) des forces électrostatiques de double couche électrique est inversement proportionnelle à la racine carrée de la concentration C :

$$\frac{1}{\kappa} = \frac{0,304}{\sqrt{C}} \quad \text{Équation 4.1}$$

Les forces d'interaction répulsives de double couche électrique entre deux surfaces chargées décroissent exponentiellement lorsque la distance D séparant les surfaces augmente :

$$F \propto e^{-\kappa D} \quad \text{Équation 4.2}^{48}$$

Nous pouvons directement calculer la longueur de Debye théorique ($1/\kappa$) à l'aide de l'équation 4.1 pour chaque concentration de KCl. A partir des courbes force-distance obtenues à l'approche à valeur de pH élevée, nous pouvons également déterminer la longueur caractéristique de décroissance exponentielle des forces de répulsion observées expérimentalement afin de les comparer aux valeurs théoriques.⁴⁸ Le **Tableau 4.1** compare les longueurs caractéristiques de décroissance exponentielle expérimentale à la longueur de Debye théorique. Nous remarquons que les valeurs expérimentales corrélient bien avec les prédictions théoriques. Ce résultat permet de confirmer que les forces répulsives mesurées lors de l'approche de la pointe AFM et de la surface de PDMS à valeur de pH élevé sont de nature électrostatique.

| [KCl] (M) | 1/κ expérimental (nm) | 1/κ théorique (nm) |
|------------------|--------------------------|-----------------------|
| 10 ⁻¹ | 1,5 ± 0,5 | 1 |
| 10 ⁻² | 4 ± 1,5 | 3 |
| 10 ⁻⁴ | 22 ± 5 | 30 |

Tableau 4.1 : Longueurs de décroissance caractéristique (longueur de Debye $1/\kappa$) théoriques et expérimentales des forces électrostatiques répulsives. Les valeurs expérimentales résultent de l'ajustement exponentiel de 10 courbes force-distance obtenues à pH ~ 12, en utilisant l'Equation 4.2. Les valeurs théoriques ont été calculées à partir de l'Equation 4.1

4.4.6 Effet d'un électrolyte divalent

Finalement, nous avons également évalué les interactions entre pointe et surface modifiées en présence de cations divalents Ca²⁺. Les cations divalents sont connus pour

ponter des groupements diacides ionisés. Ainsi, des mesures de force ont été réalisées dans une solution de CaCl_2 de $4 \cdot 10^{-3}$ M de force ionique équivalente à celle d'une solution de $2,4 \cdot 10^{-2}$ M de KCl. La **Figure 4.13** compare les courbes de titration par force chimique réalisées dans CaCl_2 et dans KCl dans des conditions de force ionique similaires.

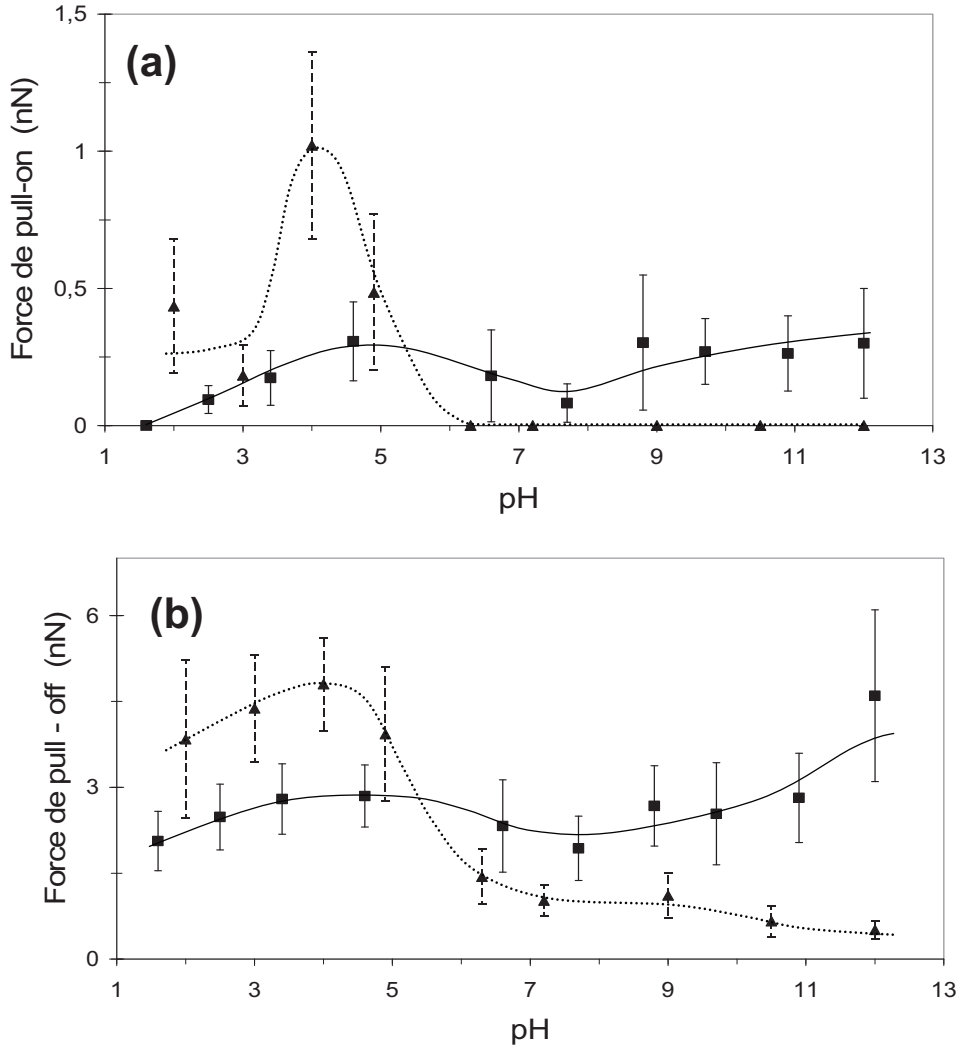


Figure 4.13 : Courbes de titration par force chimique obtenues à partir (a) des mesures de forces de « pull-on » à l'approche, (b) des mesures de forces de « pull-off » au retrait. Les mesures de forces présentées ont été réalisées dans un électrolyte 1:1, de KCl 10^{-2} M (•••) et dans un électrolyte (—) 1:2 de CaCl_2 $4 \cdot 10^{-3}$ M

Les variations des forces de « pull-on » et de « pull-off » mesurées dans CaCl_2 en fonction du pH diffèrent considérablement de l'évolution des forces mesurées dans KCl. Comme dans KCl, les forces de « pull-on » et de « pull-off » passent par un maximum à $\text{pH} \sim 4$. Cependant, ces forces à l'approche et au retrait sont plus faibles que dans KCl pour les faibles valeurs de pH, ce qui tend à montrer que les interactions hydrogène de type ionique sont plus faibles en présence de CaCl_2 . Les différences sont plus marquées à pH élevé : les

forces attractives de « pull-on » et les forces adhésives de « pull-off » mesurées dans CaCl_2 augmentent à partir de $\text{pH} \sim 9$ contrairement aux forces mesurées dans KCl , qui diminuent. Or à valeur de pH élevé les diacides sont totalement ionisés. Ces effets s'expliquent par les fortes interactions entre les ions Ca^{2+} et les groupements carboxylate $-\text{COO}^-$, comme le présente schématiquement la **Figure 4.14**.

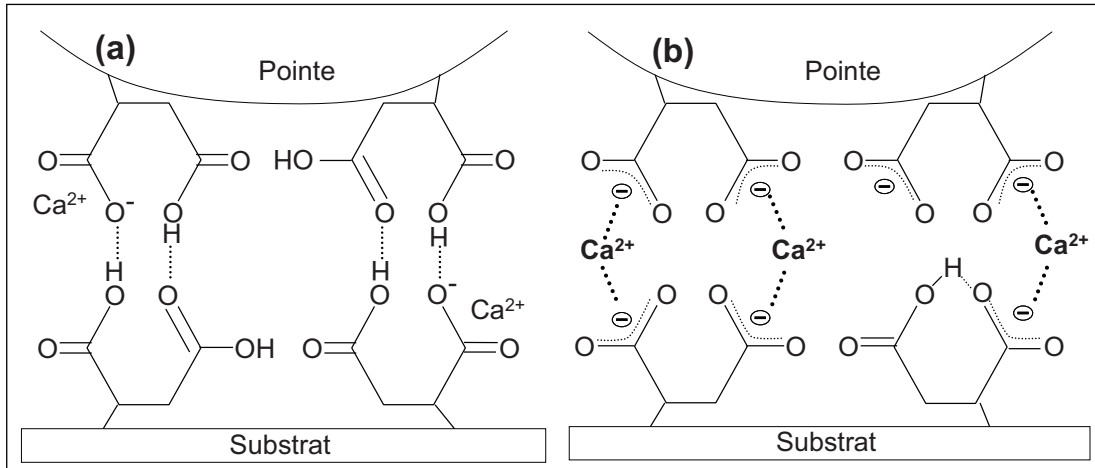


Figure 4.14 : Représentation schématique des interactions spécifiques entre pointe AFM et substrat de PDMS modifiés par polymérisation plasma en présence de contre-ions divalents (a) $\text{pH} \sim 3,5$; (b) $\text{pH} > 10,5$

A valeur faible de pH , les interactions par liaison hydrogène ionique sont en compétition avec les interactions entre les groupements carboxylate et les ions Ca^{2+} (Figure 4.14 (a)), ce qui se traduit par une diminution des forces attractives de « pull-on » et des forces d'adhésion. A pH élevé, lorsque la majorité des groupements sont sous la forme d'ions carboxylate, les cations Ca^{2+} peuvent jouer le rôle de « ponts » entre les groupements chargés de la pointe et de la surface de l'échantillon (Figure 4.14 (b)). La présence de cations divalents Ca^{2+} est à l'origine de l'attraction de la pointe et de la surface à l'approche alors que nous avons mis en évidence des phénomènes de répulsion électrostatique dans KCl . Par conséquent, les ponts formés par les ions Ca^{2+} sont à l'origine des forces d'adhésion croissantes avec le pH . En effet, à pH croissant, le taux d'ionisation augmente, et ainsi davantage de groupements carboxylate de la pointe et de la surface sont susceptibles d'être pontés par un cation. De façon similaire, en présence de CaCl_2 , des forces attractives ont été mesurées à l'aide d'un SFA (Surface Force Apparatus) entre deux surfaces de mica et par AFM entre une pointe en nitrure de silicium traitée par plasma eau et une surface de mica.⁴⁹ En particulier, ces propriétés ont été mises à profit par Jenkins et al⁵⁰ pour promouvoir l'adhésion de bicouches lipidiques sur un film de polymère plasma d'anhydride maléique, en présence d'ions Ca^{2+} .

5 Propriétés acide-base de surface : bilan

5.1 pKas de surface

Nous avons mis en évidence les propriétés acide-base de la surface de PDMS modifiée par polymérisation plasma de l'anhydride maléique. L'hydrolyse des groupements d'anhydride maléique conduit à la formation de groupements diacides montrant deux étapes d'ionisation. Les deux pKas de la surface de PDMS modifiée ont été évalués par trois méthodes de titration de surface différentes :

- La titration par angle de contact : Insensible au pK_{a1} ; $pK_{a2} \sim 10,5$
- La titration FTIR-ATR : $pK_{a1} \sim 3,2$; $pK_{a2} \sim 10,5$
- La titration par force chimique : $pK_{a1} \sim 3,5$; $pK_{a2} \sim 9,5 \pm 1,5$

Les pKas de surface déterminés par les trois méthodes de titration sont similaires. Nous remarquons que le pK_{a2} déterminé par la méthode de titration par force chimique est légèrement plus faible que les valeurs de pK_{a2} estimées par les deux autres méthodes. La courbe de titration par force chimique obtenue à force ionique faible indique que la seconde étape d'ionisation commence à $pH = 8$ (taux d'ionisation de 0,5) et est complète à $pH = 11$ (taux d'ionisation de 1). Le pK_{a2} est donc situé dans cet intervalle, mais la dépendance des forces d'adhésion en fonction du taux d'ionisation n'est pas connue. En tenant compte de cette incertitude, nous pouvons cependant considérer que la seconde étape d'ionisation observée par AFM corrèle de manière satisfaisante avec les valeurs de pK_{a2} de surface déterminées par les autres méthodes de titration.

Les trois méthodes montrent que les pKas de surface sont plus élevés que les pKas de molécules d'acide maléique en solution, ce qui est généralement observé pour des groupements de surface. Cette tendance est attribuée au micro-environnement des groupements défavorisant les échanges de protons, et à leur confinement, ayant pour effet de stabiliser les formes protonées par liaisons hydrogène intermoléculaire. Dans le cas présent, des liaisons hydrogène intermoléculaire de ce type ont été mises en évidence par FTIR-ATR.

5.2 Propriétés d'adhésion

Nous avons montré que le traitement de 6min par polymérisation plasma génère des modifications importantes des propriétés d'adhésion du substrat de PDMS : la surréticulation de la surface réduit, comme attendu, les effets de dissipation viscoélastique, tandis que les

groupements d'anhydride maléique sont à l'origine des propriétés d'adhésion dépendantes du pH et de la force ionique.

Les mesures de force entre la pointe AFM et la surface de PDMS modifiées par polymérisation plasma nous ont permis d'évaluer l'influence des propriétés acide-base du film sur ses propriétés d'adhésion. A pH faible (pH ~1-5), la majorité des groupements –COOH du film sont à la fois donneurs et accepteurs de liaisons hydrogène, ce qui est à l'origine de l'adhésion pointe-surface. Pour ces valeurs de pH, le film montre une affinité très forte pour des espèces négativement chargées par formation de liaisons hydrogène ioniques.

Pour des valeurs de pH intermédiaires (pH ~ 5-8), les groupements diacides sont partiellement ionisés. Le groupement COO^- formé est stabilisé par une liaison hydrogène interne avec le groupement –COOH adjacent. Dans cet intervalle de pH, le film montre probablement une affinité pour des systèmes (molécules, polymères, protéines etc) amphotères. Bien qu'écrantée par la liaison hydrogène interne, la charge COO^- est susceptible de former des interactions de nature électrostatique avec des espèces chargées positivement, telles que des groupements NH_3^+

Pour des valeurs de pH élevées (pH > 9), la majorité des groupements diacides sont complètement ionisés sous la forme COO^- , ce qui est à l'origine des forces de répulsion électrostatique entre la pointe AFM et la surface à pH élevé. Nous avons montré que cette répulsion se transforme en attraction en présence de cations divalents (Ca^{2+}).

Le traitement de la surface de PDMS par polymérisation plasma permet donc d'introduire des groupements chimiques conférant à la surface des propriétés acide-base dépendantes du pH. Ces propriétés sont à l'origine d'interactions moléculaires spécifiques (liaisons hydrogène, interactions électrostatiques) en milieu aqueux, modulables en fonction du pH, de la force ionique, et de la nature de l'électrolyte.

6 Propriétés sous étirement : effet de « dilution »

Dans cette étude, nous nous focalisons sur le traitement court de 6 min car celui-ci ne conduit pas à la formation de craquelures sous étirement. La fonction du traitement par polymérisation plasma est d'introduire des groupements chimiques réactifs à la surface du substrat de PDMS. L'objectif est de promouvoir « la dilution » de ces groupements par l'élongation macroscopique du substrat. Nous avons mis en évidence les propriétés de mouillage et d'adhésion du substrat de PDMS modifié, caractéristiques des groupements diacide entrant dans la composition chimique du dépôt. Dans cette partie, nous allons

examiner l'évolution de ces propriétés lors de l'élongation du substrat afin de mettre en évidence la « dilution » des groupements réactifs.

6.1 Mouillabilité

6.1.1 Titration sous étirement

Nous avons montré que, sur une surface de PDMS traitée par polymérisation plasma puis hydrolysée, l'angle de contact de l'eau décroît en fonction du pH entre pH = 8 et pH = 12. Nous avons attribué ces variations à la seconde étape d'ionisation des groupements diacide de la surface. La **Figure 6.1** présente les mesures d'angle de contact en fonction du pH réalisées sur le substrat à l'état étiré (taux d'allongement uniaxial $\varepsilon = 100\%$).

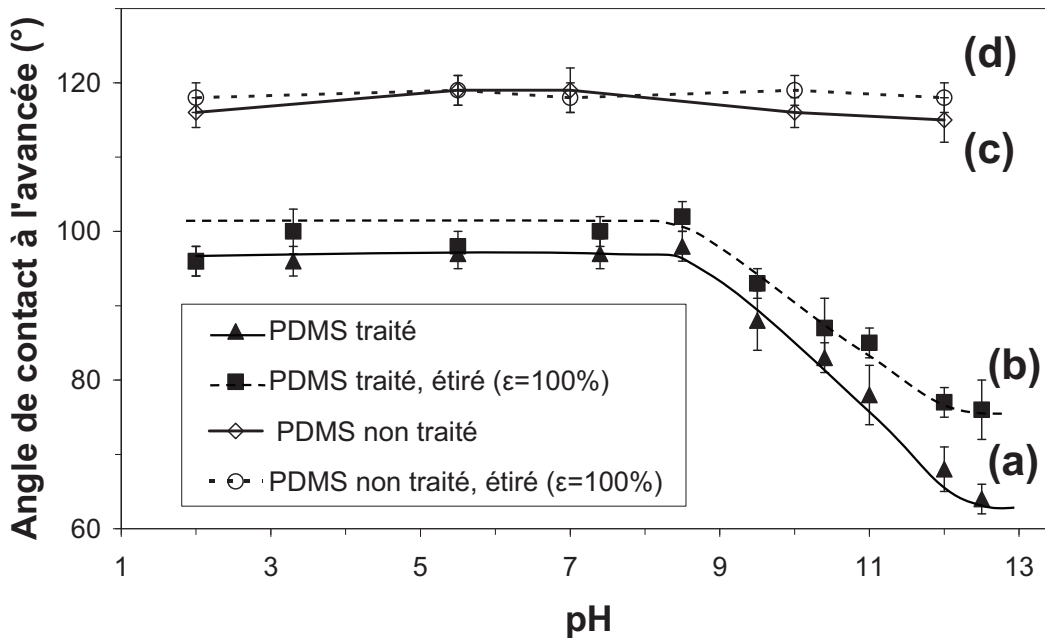


Figure 6.1 : Angle de contact à l'avancée en fonction du pH. (a) PDMS traité, (b) PDMS traité, étiré, (c) PDMS non traité, (d) PDMS non traité, étiré. Sous étirement uniaxial, l'angle de contact est mesuré dans la direction d'élongation (la ligne triple et la direction d'élongation sont dans le même plan)

Nous observons que l'angle de contact de l'eau ne varie pas sur le substrat de PDMS non traité, à l'état étiré, avec le pH. Sur le substrat de PDMS traité, l'angle de contact décroît en fonction du pH entre pH = 8,5 et pH = 12,5 à l'état étiré, similairement à l'état relaxé. Ce résultat indique que le pK_{a2} de la surface ne dépend pas du taux d'étirement.

Cependant, nous observons clairement que les angles de contact sont globalement plus élevés sous étirement, comparativement aux angles mesurés sur le substrat relaxé. De plus, l'écart entre les valeurs mesurées sous étirement et à l'état relaxé augmente en fonction du

pH, c'est à dire en fonction du taux d'ionisation de la surface. Ce résultat suggère que l'augmentation de l'angle de contact est liée à des modifications de la concentration surfacique des groupements diacide à propriétés acide-base.

6.1.2 Composante acide-base du travail d'adhésion

A partir de la mesure de l'angle à l'avancée de l'eau, nous pouvons calculer le travail d'adhésion solide-liquide W_{SL} , c'est-à-dire l'énergie nécessaire pour séparer le liquide de la surface solide, par unité de surface :

$$W_{SL} = \gamma_L (1 + \cos \theta) \quad \text{Équation 6.1}$$

Selon Fowkes, le travail d'adhésion W_{SL} est la somme du travail d'adhésion provenant des interactions dispersives de London W_{SL}^D et des interactions acide-base entre le liquide et la surface solide, si l'on néglige les interactions polaires de type dipôle-dipôle et dipôle-dipôle induit.⁵¹

$$W_{SL} = W_{SL}^D + W_{SL}^{AB} \quad \text{Équation 6.2}$$

Pour un solide apolaire :

$$W_{SL} = W_{SL}^D = 2(\gamma_S^D \cdot \gamma_L^D)^{0,5} = 2(\gamma_S \cdot \gamma_L^D)^{0,5} \quad \text{Équation 6.3}$$

La composante acide-base du travail d'adhésion provient de l'ensemble des interactions non dispersives entre le liquide et la surface solide, ce qui inclue, entre autres, les interactions acide-base au sens de Lewis de type donneur-accepteur et les liaisons hydrogène.

Dans l'approche présentée par Hüttinger et al⁵² le travail d'adhésion acide-base W_{SL}^{AB} de surfaces présentant des propriétés acide-base au sens de Brønsted est défini par la différence entre les travaux d'adhésion mesurés à l'état ionisé et non ionisé. Dans l'hypothèse que les autres composantes du travail d'adhésion ne varient pas en fonction du pH et uniquement à condition que la chimie de surface du solide ne soit contrôlée que par un seul type de groupement de surface acide ou basique, la composante acide-base du travail d'adhésion W_{SL}^{AB} est proportionnelle à la concentration surfacique de groupements acide-base :

$$W_{SL}^{AB} \propto -n^{AB} \times \Delta H_i^{AB} \quad \text{Équation 6.4}$$

Où ΔH^{AB} et n^{AB} représentent respectivement l'enthalpie de la paire acide-base et la concentration de surface du complexe acide-base.

La **Figure 6.2** présente l'évolution du travail d'adhésion solide-eau W_{SL} en fonction du pH, sur un substrat de PDMS modifié non étiré et étiré, déterminé à partir des mesures d'angle de contact réalisées à différentes valeurs de pH.

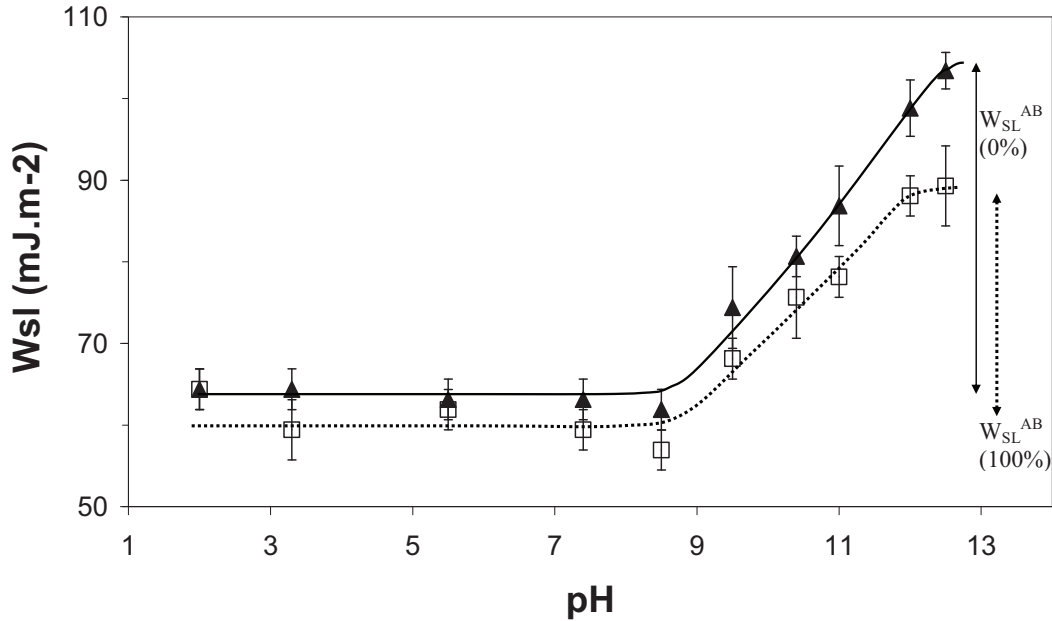


Figure 6.2 : Evolution du travail d'adhésion eau-substrat de PDMS modifié en fonction du pH. (a) Substrat relaxé. (b) Substrat étiré uniaxialement avec un taux d'allongement $\epsilon = 100\%$

Le travail d'adhésion acide-base lié aux interactions spécifiques entre les molécules d'eau et les groupements diacides ionisés représente la différence entre le travail d'adhésion à pH élevé et le travail d'adhésion à pH faible.

$$W_{SL}^{AB}(\epsilon) = W_{SL}(\epsilon, pH = 12,5) - W_{SL}(\epsilon, pH < 9) \quad \text{Équation 6.5}$$

Nous calculons $W_{SL}^{AB}(0\%) = 40 \pm 5 \text{ mJ.m}^{-2}$ et $W_{SL}^{AB}(100\%) = 29 \pm 7 \text{ mJ.m}^{-2}$. Le travail d'adhésion eau-substrat relaxé $W_{SL}^{AB}(0\%)$ est plus élevé que le travail d'adhésion $W_{SL}^{AB}(100\%)$ entre l'eau et le substrat étiré à un taux d'allongement de 100%.

6.1.3 « Dilution » des groupements réactifs

En principe, l'élongation uni-axiale du substrat de PDMS doit conduire à une diminution de la concentration de groupements $-\text{COO}$ par unité de longueur dans la direction d'élongation. Dans la direction perpendiculaire à la direction d'élongation, la contraction du

substrat conduit à l'augmentation de la concentration de groupements par unité de longueur d'un facteur lié au coefficient de poisson du substrat ($\sim 0,5$ pour le PDMS). L'équation montre que le travail d'adhésion acide-base entre l'eau et la surface dépend de la concentration de paires acide-base $\text{H}_2\text{O}\cdots\text{COO}^-$, autrement dit de la concentration surfacique de groupements diacide. En première approximation, pour un taux d'allongement ε le rapport des travaux d'adhésion $W_{SL}^{AB}(\varepsilon)$ et $W_{SL}^{AB}(0\%)$ déterminés respectivement après et avant élongation devrait correspondre au rapport des concentrations de complexes acide-base correspondantes.

$$\frac{W_{SL}^{AB}(\varepsilon)}{W_{SL}^{AB}(0\%)} = \frac{n^{AB}(\varepsilon)}{n^{AB}(0\%)} \quad \text{Équation 6.6}$$

Pour un taux d'allongement de 100%, nous obtenons

$$\frac{W_{SL}^{AB}(100\%)}{W_{SL}^{AB}(0\%)} = 0,7 \pm 0,2 \quad \text{Équation 6.7}$$

D'après l'Equation 6.4, ce rapport doit correspondre au rapport des concentrations de surface de groupements COO^- avant et après étirement. Par ailleurs, nous pouvons déterminer ce rapport théorique par un raisonnement simple : Soient $n^{AB}(x, \varepsilon)$ et $n^{AB}(y, \varepsilon)$ les concentrations de groupements $-\text{COO}^-$ par unité de longueur longitudinale (dans la direction d'élongation) et transversale, respectivement. Pour un taux d'allongement longitudinal ε , nous avons

$$n^{AB}(x, \varepsilon) = n_0^{AB} \times \frac{L_0}{L} \quad \text{Équation 6.8} \quad \text{et} \quad n^{AB}(y, \varepsilon) = n_0^{AB} \times \frac{l_0}{l} \quad \text{Équation 6.9}$$

Où $n^{AB}(x, 0\%)$ et $n^{AB}(y, 0\%) = n_0^{AB}$ dans le cas d'une concentration isotrope de groupements à la surface de l'échantillon.

Dans le cas d'un matériau incompressible (dont le volume reste constant), le facteur de contraction transversal l/l_0 peut s'écrire en fonction du facteur d'allongement longitudinal L/L_0 et du coefficient de Poisson du matériau :

$$\frac{l}{l_0} = \left(\frac{L}{L_0} \right)^{-\nu} \quad \text{Équation 6.10}$$

En prenant $\nu \sim 0,5$ nous obtenons $l/l_0 \sim 0,7$. Cette valeur est en parfait accord avec la valeur mesurée expérimentalement. De plus, les valeurs à différents taux d'élongations sont

en bon accord avec celles obtenus à partir l'Equation 6.10, comme le montre la **Figure 6.3**. Ce résultat confirme que le coefficient de Poisson est de l'ordre de 0,5.

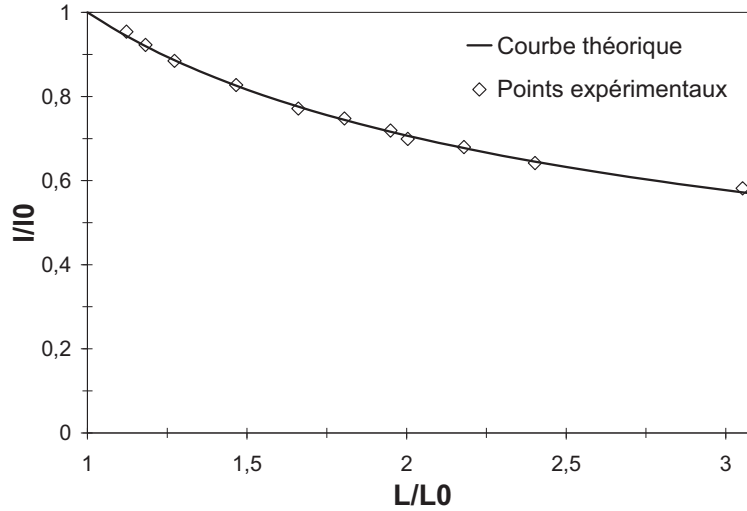


Figure 6.3 : Evolution du facteur de contraction transversal l/l_0 en fonction du facteur d'allongement uniaxial L/L_0 du substrat de PDMS. La courbe théorique est obtenue à l'aide de l'Equation 6.10, pour un coefficient de poisson de 0,5

Ainsi, nous pouvons estimer les concentrations longitudinales et transversales de groupements pour un taux d'allongement de 100% avec ($L/L_0=1/2$ et $l/l_0=0,7$), soit :

$$n^{AB}(x,100\%) = n_0^{AB} \times \frac{1}{2} \quad \text{Équation 6.11}$$

$$n^{AB}(y,100\%) = n_0^{AB} \times 1,43 \quad \text{Équation 6.12}$$

Nous en déduisons la concentration surfacique de groupements $n^{AB}(100\%)$ théorique :

$$n^{AB}(100\%) = n^{AB}(x,100\%) \times n^{AB}(y,100\%) \approx 0,71 \times n_0^{AB} \quad \text{Équation 6.13}$$

Soit finalement

$$\frac{n^{AB}(100\%)}{n^{AB}(0\%)} \approx 0,71 \quad \text{Équation 6.14}$$

Le rapport des concentrations obtenu par cette approche est en très bon accord avec le rapport des travaux d'adhésion acide-base déterminés expérimentalement par des mesures de mouillabilité ($W_{SL}^{AB}(100\%)/W_{SL}^{AB}(0\%) \sim 0,7 \pm 0,2$). Ce résultat démontre que l'étirement macroscopique du substrat est à l'origine de la diminution de la densité surfacique des groupements diacides à la surface du matériau.

6.2 Mesure de forces d'adhésion sous étirement

Nous avons montré par des mesures d'angles de contact que le travail d'adhésion acide-base entre l'eau et le substrat de PDMS traité diminue lorsque le substrat est étiré, en raison de la diminution de la concentration surfacique de groupements diacide.

Afin de mettre en évidence les modifications des propriétés d'adhésion du substrat sous étirement, nous avons réalisé des mesures de forces sur le substrat étiré uniaxialement. Les mesures ont été réalisées dans KCl 10^{-4} M à pH = 7, zone de pH dans laquelle les forces d'adhésion pointe-surface varient peu. La **Figure 6.4** présente les valeurs des forces d'adhésion mesurées sur les substrats de PDMS traité et non traité, à l'état relaxé et sous un taux d'allongement uniaxial de 100%. Les résultats sont présentés sous la forme d'histogrammes décrivant l'évolution des distributions de forces d'adhésion.

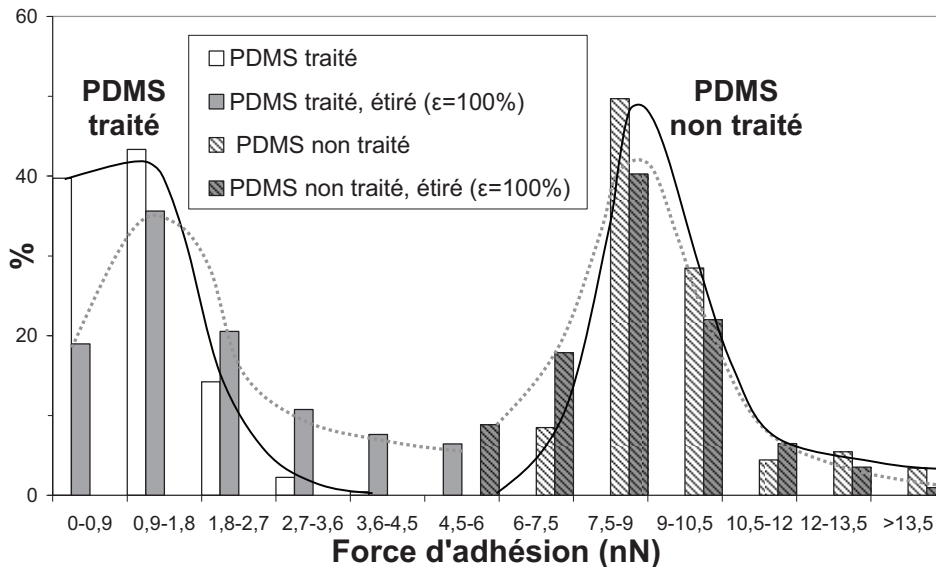


Figure 6.4 : Distributions des forces d'adhésion mesurées entre une pointe AFM modifiée par polymérisation plasma et un substrat de PDMS traité et non traité, à l'état relaxé (—) et sous élancement (•••). L'axe des ordonnées donne le pourcentage de forces de « pull-off » mesurée par rapport à un total de 500 mesures réalisées à différentes zones du substrat

Les forces d'adhésion mesurées dans les mêmes conditions sur le substrat de PDMS non traité sont significativement plus importantes que sur le substrat de PDMS traité par polymérisation plasma. Ces différences sont attribuées à la surréticulation (diminution des effets de dissipation viscoélastique) et à la diminution de l'hydrophobicité (diminution des interactions hydrophobes pointe-substrat) induites par le traitement du substrat de PDMS (voir partie 4.3.1).

Sous élancement, les forces d'adhésion mesurées sur le substrat de PDMS non traité varient très peu par rapport à l'état relaxé tandis que sur le substrat de PDMS traité, la

distribution des forces d'adhésion est décalée vers des valeurs de forces d'adhésion croissantes. Or nous avons montré que la concentration surfacique de groupements diacide diminue sous étirement. Nous avons également montré que les groupements diacides de la surface interagissent par liaison hydrogène avec la pointe. En principe, les forces d'adhésion entre la pointe et la surface devraient diminuer lorsque la concentration surfacique de groupements diminue, en considérant uniquement le nombre d'interactions interfaciales plus faibles. En réalité, la concentration de groupements diacide diminue tandis que des zones plus riches en PDMS sont révélées, ce qui tend à augmenter les forces d'adhésion en raison du caractère viscoélastique du PDMS. En d'autres termes, sous élongation, du PDMS non traité devient accessible pour la pointe AFM ce qui conduit à une amplification des forces d'adhésion mesurées.

Remarquons enfin que l'augmentation des forces d'adhésion observée sur le substrat étiré résulte de l'augmentation moyenne de 500 courbes de force obtenues dans différentes zones de l'échantillon. Les cartographie de forces d'adhésion en mode « force volume » en utilisant une pointe de 50 nm de diamètre ne nous a pas permis de différencier des zones traitées des zones non-traitées. Cette observation confirme que la dimension des hétérogénéités chimiques est probablement de l'ordre de quelques nanomètres.

7 Conclusion

Dans ce chapitre, nous avons étudié l'effet du traitement des substrats de PDMS par polymérisation plasma de l'anhydride maléique sur les propriétés acide-base de surface. L'hydrolyse des groupements anhydride du film polymère conduit à la formation d'acide dicarboxylique (acide maléique). Ces groupements diacides présentent une ionisation en deux étapes. Cette propriété a été mise en évidence par différentes méthodes sur les surfaces de PDMS traitées : les pK_{a_s} de surface ont été déterminées par mouillabilité, spectroscopie infrarouge et par AFM. Les résultats obtenus par les différentes techniques sont en parfait accord les uns avec les autres. Nous avons également montré qu'en milieu aqueux, le caractère acide-base de la surface est à l'origine de propriétés d'adhésion dépendant du pH et de la concentration en sel.

Dans un second temps, nous avons étudié les propriétés de mouillage et d'adhésion des substrats de PDMS traités sous élongation. Les changements observés attestent de la dilution des groupements réactifs de surface sous l'effet de l'allongement macroscopique du substrat.

Ainsi, le traitement du PDMS par polymérisation plasma à des temps courts conduit à l'obtention d'un support élastique et présentant des groupements réactifs. Dans le chapitre

suivant, la réactivité de ces groupements sera mise à profit afin d'élaborer la surface répondant à un stimulus mécanique.

8 Références

- ¹ S.E. Creager, J. Clarke, *Contact-Angle Titrations of Mixed ω -Mercaptoalkanoic Acid/Alkanethiol Monolayers on Gold. Reactive vs Nonreactive Spreading, and Chain Length Effects on Surface pKa Values*. *Langmuir* **1994**, 10, 3675-3683.
- ² M. Claybourn, *Infrared Reflectance Spectroscopy of Polymers, Analysis of Films, Surfaces and Interfaces*, Polymer surfaces and interfaces series **1998**, Ed. M. Urban, Global Press
- ³ H.J. Butt, B. Cappella, M. Kappl, *Force measurements with the atomic force microscope: Technique, interpretation and applications*, *Surface Science Reports* **2005**, 59, 1–152.
- ⁴ J. Grobelny, N. Pradeep, D.-I. Kim, Z.C. Ying, *Quantification of the meniscus effect in adhesion force measurements*, *Applied Physics Letters* **2006**, 88, 091906 1-3
- ⁵ S.K. Sinnah, A.B. Steel, C.J. Miller, J.E. Reutt-Robey, *Solvent Exclusion and Chemical Contrast in Scanning Force Microscopy*, *J. Am. Chem. Soc.* **1996**, 118, 8925-8931
- ⁶ B. Ohler, *Practical Advice on the Determination of Cantilever Spring Constants*, **2007**, Veeco Instruments Inc.
- ⁷ *Acid-Base Interactions: Relevance to Adhesion Science and Technology*, **1991**, Festschrift in Honor of the 75th Birthday of Professor F.M. Fowkes/Eds K.L. Mittal and H.R. Anderson Jr. – Utrecht: VSP.
- ⁸ A. Michna, Z. Adamczyk, M. Zembala, *Deposition of colloid particles on polyelectrolyte multilayers*, *Colloids and Surfaces A: Physicochem. Eng. Aspects* **2007**, 302, 467-472.
- ⁹ M. Erol, H. Du, S. Sukhishvili, *Control of Specific Attachment of Proteins by Adsorption of Polymer Layers*, *Langmuir* **2006**, 22, 11329-11336.
- ¹⁰ C. E. Soltys-Robitaille, D. M. Ammon, Jr. , P. L. Valint, Jr., G. L. Grobe, *The relationship between contact lens surface charge and in-vitro protein deposition levels*, *Biomaterials* **2001**, 22, 3257-3260.
- ¹¹ S. R. Holmes-Farley, R. H. Reamey, T. J. McCarthy, J. Deutch, G. Whitesides, *Acid-Base Behavior of Carboxylic Acid Groups Covalently Attached at the Surface of Polyethylene: The Usefulness of Contact Angle in Following the Ionization of Surface Functionality*, *Langmuir* **1985**, 1, 725-740.
- ¹² P.A. Frey, W. W. Cleland, *Are There Strong Hydrogen Bonds in Aqueous Solutions?* *Bioorganic Chemistry* **1998**, 26, 175-192.
- ¹³ G. M. Whitesides, H. A. Biebuyck, J. P. Folkers, K. L. Prime, *Acid-base interactions in wetting*, *J. Adhesion Sci. Technol.* **1991**, 5, 57-69.
- ¹⁴ B.C. Triverdi, P.M. Culberson, *Maleic Anhydride*, Plenum Press: New York **1982**, p73-75.
- ¹⁵ L. L. McCoy, *The Geometry of Intramolecular Hydrogen Bonding in 1,2-Dicarboxylic acids* , *J. Am. Chem. Soc.* **1967**, 87:9, 1673-1677.

- ¹⁶ P. Uhlmann, S. Skorupa, C. Werner, K. Grundke, *Characterization of Maleic Acid/Anhydride Copolymer Films by Low-Rate Dynamic Liquid-Fluid Contact Angle Measurements Using Axisymmetric Drop Shape Analysis*, *Langmuir* **2005**, 21, 6302-6307.
- ¹⁷ T. Osaki, C. Werner, *Ionization Characteristics and Structural Transitions of Alternating Maleic Acid Copolymer Films*, *Langmuir* **2003**, 19, 5787-5793.
- ¹⁸ S. R. Holmes-Farley, G.M. Whitesides. *Reactivity of Carboxylic Acid and Ester Groups in the Functionalized Interfacial Region of "Polyethylene Carboxylic Acid (PE-CO₂H) and Its Derivatives: Differentiation of the Functional Groups into Shallow and Deep Subsets Based on a Comparison of Contact Angle and ATR-IR Measurements*. *Langmuir* **1987**, 3, 62-76.
- ¹⁹ O. Gershevit, C.N. Sukenik, *In Situ FTIR-ATR Analysis and Titration of Carboxylic Acid-Terminated SAMs*, *J. Am. Chem. Soc.* **2004**, 126, 482-483.
- ²⁰ G. Socrates, *Infrared and Raman characteristic group frequencies, tables and charts*. Third Edition, Wiley.
- ²¹ S. Kawaguchi, T. Kitano, K. Ito, *Infrared And Ultraviolet Spectroscopic Studies on Intramolecular Hydrogen Bonding in an Alternating Copolymer of Isobutylene and Maleic Acid*. *Macromolecules* **1991**, 24, 6030-6036.
- ²² T. Randall Lee, R. I. Carey, H. A. Biebuyck, G. M. Whitesides, *The Wetting of Monolayer Films Exposing Ionizable Acids and Base*, *Langmuir* **1994**, 10, 741-749.
- ²³ Y.-J. Liu, N. M. Navasero, H.-Z. Yu, *Structure and Reactivity of Mixed w-Carboxyalkyl/Alkyl Monolayers on Silicon: ATR-FTIR Spectroscopy and Contact Angle Titration*. *Langmuir* **2004**, 20, 4039-4050.
- ²⁴ G. Binning, C.F. Quate, Ch. Gerber, *Phys. Rev. Lett.*, 1986, 56(9), 930-933
- ²⁵ G.E.Fantner, E. Oroudjev, G. Schitter, L. S. Golde, P. Thurner, M. M. Finch, P. Turner, T. Gutschmann, D. E. Morse, H. Hansma, P. K. Hansma, *Sacrificial Bonds and Hidden Length : Unraveling Molecular Mesostuctures in Tough Materials*, *Biophys. J.* **2006**, 90, 1411-1418.
- ²⁶ R. Barattin, N. Voyer, *Chemical modifications of AFM tips for the study of molecular recognition events*, *Chem. Commun.* **2008**, 1513-1532.
- ²⁷ E.L. Florin, V.T. Moy, H.E. Gaub, *Adhesion forces between individual ligand-receptor pairs*. *Science* **1994**, 264, 415-417
- ²⁸ D. Anselmetti, F.W Bartels, A. Becker, B. Decker, R. Eckel, M. McIntosh, J. Mattay, P. Plattner, R. Ros, C. Schäfer, N. Sewald, *Reverse Engineering of an Affinity-Switchable Molecular Interaction Characterized by Atomic Force Microscopy Single-Molecule Force Spectroscopy*, *Langmuir* **2008**, 24, 1365-1370.
- ²⁹ C. D. Frisbie, L.F. Rozsnyai, A. Noy, M.S. Wrigthon, C.M. Lieber, *Functionnal Group Imaging by Chemical Force Microscopy*, *Science* **1994**, 265, 2071-2074.
- ³⁰ H. Schönherr, Z. Hruska, J. Vancsco, *Toward High Resolution Mapping of Functionnal Group Distributions at Surface-Treated Polymers by AFM Using Modified Tips*, *Macromolecules* **2000**, 33, 4532-4537.

- ³¹ K. Feldmann, T. Tervoort, P. Smith, N.D. Spencer, *Toward a Force Spectroscopy of Polymer Surfaces*, *Langmuir* **1998**, *14*, 372-378.
- ³² D.V. Vezenov, A. Noy, L.F. Rozsnyai, C. Lieber, *Force titrations and Ionization State Sensitive Imaging of Functionnal Groups in Aqueous Solutions by Chemical Force Microscopy*, *J. Am. Chem. Soc.* **1997**, *119*, 2006-2015.
- ³³ E.W. van der Wegte, G. Hadziioannou, *Acid-Base Properties and the Chemical Imaging of Surface-Bound Functionnal Groups Studied with Scanning Force Microscopy*, *J. Phys. Chem. B* **1997**, *101*, 9563-9569.
- ³⁴ B. Wang, R. D. Oleschuk, J. H. Horton, *Chemical Force Titrations of Amine- and Sulfonic Acid-Modified Poly(dimethylsiloxane)*, *Langmuir* **2005**, *21*, 1290-1298.
- ³⁵ J. Song, J. F. L. Duval, M. A. Cohen Stuart, H. Hillborg, U. Gunst, H. F. Arlinghaus, G.J. Vancso, *Surface Ionization State and Nanoscale Chemical Composition of UV-Irradiated Poly(dimethylsiloxane) Probed by Chemical Force Microscopy, Force Titration, and Electrokinetic Measurements*, *Langmuir* **2007**, *23*, 5430-5438.
- ³⁶ H. Schönherr, M.T. van Os, R. Förch, R.B. Timmons, W. Knoll, G.J. Vancso, *Distributions of Functional Groups in Plasma Polymerized Allylamine Films by Scanning Force Microscopy Using Functionalized Probe Tips*, *Chem. Mater.* **2000**, *12*, 3689-3694.
- ³⁷ A. Valsesia, M.M. Silvan, G. Ceccone, D. Gilliland, P. Colpo, F. Rossi, *Acid/Base Micropatterned Devices for pH-Dependant Biosensor*, *Plasma Process. Polym.* **2005**, *2*, 334-339.
- ³⁸ P. Fievet, A. Szymczyc, *Caractérisation des propriétés électriques des parois de pores d'une membrane*, *C.R. Chimie* **2002**, *5*, 493-505.
- ³⁹ H. Haidara, L. Vonna, J. Schultz, *Instability and Dewetting of Confined Thin Liquid Films in Nonmiscible External Bulk Fluids (Water and Aqueous Surfactant Solutions) : Experiments versus Theoretical Predictions*, *Langmuir* **1998**, *14*, 3425-3434.
- ⁴⁰ H.-A. Klok, E.A. Rebrov, A. M. Muzafarov, W. Michelberger, M. Möller, *Reversible Gelation of Poly(dimethylsiloxane) with Ionic and Hydrogen-Bonding Substituents*, *J. Pol. Sci. Part B : Pol. Phys.* **1999**, *37*, 485-495
- ⁴¹ A.N. Gent, J. Schultz, *Effect of Wetting Liquids on the Strength of Adhesion of Viscoelastic Material*, *J. Adhes.* **1972**, *3*, 281-294
- ⁴² A.N. Gent, S.-M. Lai, *Interfacial bonding, Energy Dissipation, and Adhesion*, *J. Pol. Sci. Part B: Pol. Phys.* **1994**, *32*, 1543-1555.
- ⁴³ Y. Sun, B. Akhremitchev, G.C. Walker, *Using the Adhesive Interaction between Atomic Force Microscopy Tips and Polymer Surfaces to Measure the Elastic Modulus of Compliant Samples*. *Langmuir* **2004**, *20*, 5837-5845.
- ⁴⁴ Y. Sun, G. Walker, *Viscoelastic Response of Poly(dimethylsiloxane) in the Adhesive Interaction with AFM Tips*. *Langmuir* **2005**, *21*, 8694-8702.
- ⁴⁵ G.Y. Choi, J. F. Kang, A. Ulmann, W. Zurawsky, C. Fleischer, *Acid-Base Interaction in the Adhesion between Two Solid Surfaces*, *Langmuir* **1999**, *15*, 8783-8786.

- ⁴⁶ D.A. Smith, M. L. Wallwork, J. Zhang, J. Kirkham, C. Robinson, A. Marsh, M. Wong, *The Effect of Electrolyte Concentration on the Chemical Force Titration Behavior of w-Functionalized SAMs : Evidence for the Formation of Strong Ionic Hydrogen Bonds*, J. Phys. Chem. B **2000**, 104, 8862-8870.
- ⁴⁷ M. Meot-Ner, D.E. Elmore, S. Scheiner, *Ionic Hydrogen Bond Effects on the Acidities, Basicities, Solvation, Solvent Bridging, and Self-Assembly of Carboxylic Groups*, J. Am. Chem. Soc. **1999**, 121, 7625-7635.
- ⁴⁸ H.-J. Butt, *Measuring electrostatic, van der Waals, and hydration forces in electrolyte solutions with an atomic force microscope*, Biophys. J. **1991**, 60, 1438-1444.
- ⁴⁹ P. Kékicheff, S. Marcelja, T.J. Senden, V.E. Shubin, *Charge reversal in electrical double layer interaction of surfaces immersed in 2:1 calcium electrolyte*, J. Chem. Phys. **1993**, 99, 6098-6113.
- ⁵⁰ A.T.A. Jenkins, J. Hu, Y.Z. Wang, S. Schiller, R. Förch, W. Knoll, *Pulsed Plasma Deposited Maleic Anhydride Thin Films as Supports for Lipid Bilayers*, Langmuir **2000**, 16, 6381-6384.
- ⁵¹ Contact Angle, Wettability and Adhesion **1993** : Festschrift in honor of Professor Robert J. Good / ed.:K.L. Mittal.-Utrecht : VSP.
- ⁵² K.J Hüttinger, S. Höhmann-Wien, G. Krekel, *A method for the determination of the acid-base interactions and the work of adhesion at a solid-liquid interface*, J. Adhesion Sci. Technol. **1992**, 6, 317-331.

CHAPITRE 4

FONCTIONNALISATION DU FILM ET ELABORATION DE LA SURFACE ADAPTATIVE

| | | |
|----------|--|------------|
| 1 | INTRODUCTION | 154 |
| 2 | GENERALITES | 155 |
| 2.1 | Pegs et surfaces non adhérentes pour les protéines | 155 |
| 2.2 | Définition des régimes de polymères greffés en surface | 157 |
| 2.3 | Interactions spécifiques de type protéine/ligand, cas de la biotine | 158 |
| 2.4 | Systèmes bi-fonctionnels Pegs/récepteur spécifique | 159 |
| 3 | MATERIEL ET METHODES | 162 |
| 3.1 | Fonctionnalisation du film polymère plasma | 162 |
| 3.1.1 | <i>Réaction de dérivatisation</i> | <i>162</i> |
| 3.1.2 | <i>Greffage covalent d'amines en phase gazeuse</i> | <i>162</i> |
| 3.1.3 | <i>Greffage covalent d'amines en phase aqueuse</i> | <i>164</i> |
| 3.1.4 | <i>Greffage covalent par « chimie click »</i> | <i>167</i> |
| 3.1.5 | <i>Fonctionnalisation de surfaces de silicium</i> | <i>168</i> |
| 3.2 | Test d'adsorption de protéines | 169 |
| 3.2.1 | <i>Principe et protocole de la mesure</i> | <i>169</i> |
| 3.2.2 | <i>Mesure de fluorescence</i> | <i>170</i> |
| 3.2.3 | <i>Analyse des images, détermination de l'adsorption</i> | <i>170</i> |
| 3.2.4 | <i>Dispositifs d'élongation</i> | <i>171</i> |
| 4 | FONCTIONNALISATION DU FILM POLYMERE PLASMA | 172 |
| 4.1 | Réactivité du film : réactions de dérivatisation | 172 |
| 4.1.1 | <i>Quantification des groupements réactifs par XPS</i> | <i>172</i> |
| 4.1.2 | <i>Tentative de dosage par colorimétrie</i> | <i>174</i> |
| 4.2 | Fonctionnalisation du film par voie gazeuse | 176 |
| 4.2.1 | <i>Greffage de la propargylamine</i> | <i>176</i> |
| 4.2.2 | <i>Réaction de couplage par « click »</i> | <i>177</i> |
| 4.3 | Greffage covalent d'amines en phase aqueuse | 179 |
| 4.3.1 | <i>Mise en évidence de la réaction de couplage par EDC/NHS</i> | <i>179</i> |
| 4.3.2 | <i>Analyse préliminaire de substrats de silicium fonctionnalisés</i> | <i>180</i> |
| 4.3.2.1 | <i>Mesure d'angle de contact</i> | <i>180</i> |
| 4.3.2.2 | <i>Analyse XPS</i> | <i>181</i> |
| 4.3.2.3 | <i>Test d'adsorption de protéines</i> | <i>188</i> |
| 4.3.3 | <i>Fonctionnalisation des substrats de PDMS traités 6 min</i> | <i>190</i> |
| 4.3.3.1 | <i>Mesure d'angle de contact</i> | <i>190</i> |
| 4.3.3.2 | <i>Analyse XPS</i> | <i>191</i> |

| | | |
|----------|---|------------|
| 5 | ADSORPTION DE PROTEINES DEPENDANT DE L'ELONGATION | 195 |
| 5.1 | Elongation uni-axiale | 195 |
| 5.1.1 | <i>Tests d'adsorption de l'avidine</i> | 195 |
| 5.1.1.1 | Films monofonctionnels | 195 |
| 5.1.1.2 | Films bi-fonctionnels | 198 |
| 5.1.2 | <i>Tests d'adsorption de la streptavidine</i> | 200 |
| 5.1.3 | <i>Bilan</i> | 202 |
| 5.2 | Elongation triaxiale | 205 |
| 5.2.1 | <i>Films monofonctionnels</i> | 205 |
| 5.2.1.1 | Films de Pegs | 205 |
| 5.2.1.2 | Films de biotine | 206 |
| 5.2.2 | <i>Films bi-fonctionnels</i> | 207 |
| 5.2.2.1 | Greffages sur les substrats à l'état relaxé | 207 |
| 5.2.2.2 | Greffages sur les substrats à l'état étiré | 208 |
| 6 | GREFFAGES DE PEGS DANS DES CONDITIONS DE « CLOUD POINT » | 210 |
| 6.1 | Généralités | 210 |
| 6.2 | Analyse préliminaire de surfaces de silicium fonctionnalisées | 211 |
| 6.2.1 | <i>Mesures d'angle de contact</i> | 211 |
| 6.2.2 | <i>Analyse XPS</i> | 213 |
| 6.2.3 | <i>Adsorption de protéines</i> | 216 |
| 6.3 | Fonctionnalisation des substrats de PDMS traités 6 min | 217 |
| 6.3.1 | <i>Mesure d'angle de contact</i> | 218 |
| 6.3.2 | <i>Analyse XPS</i> | 218 |
| 6.3.3 | <i>Influence de l'élongation sur l'adsorption de protéines</i> | 223 |
| 7 | CONCLUSION | 226 |
| 8 | REFERENCES | 228 |

1 Introduction

Dans le second chapitre, nous avons montré qu'un traitement de 6 min du substrat de PDMS par polymérisation plasma conduit à la formation d'une interface élastique et réactive. Cette interface dont la composition chimique est hétérogène se compose d'une matrice de PDMS « modifié » de type SiO_xC_y avec $2 < x < 4$, présentant une concentration de groupements anhydride de l'ordre de 6% (C(1s) XPS). Dans le troisième chapitre, les propriétés acide-base des films hydrolysés ont été mises en évidence par plusieurs méthodes d'analyses de surface. Les propriétés de mouillage et d'adhésion dépendantes du pH sont caractéristiques des groupements diacides formés lors de l'hydrolyse des groupements anhydride du polymère plasma. Lors de l'élongation macroscopique du substrat, les variations de ces propriétés nous ont permis de mettre en évidence la dilution surfacique des groupements réactifs. La densité absolue et la répartition locale des groupements réactifs sur le substrat à l'état relaxé d'une part, puis leur évolution sous élongation d'autre part, ne sont pas connues mais nous émettons l'hypothèse que les dimensions caractéristiques des hétérogénéités chimiques sont nanométriques. L'analyse AFM, dont la résolution latérale de l'ordre de 10-20 nm environ, ne permet pas de distinguer ces hétérogénéités.

Dans ce chapitre, les films seront fonctionnalisés avec différents types de molécules et de macromolécules afin d'élaborer le système adaptatif sensible à l'élongation. Dans un premier temps, nous montrerons qu'il est possible de fonctionnaliser les films en phase gazeuse avec des molécules à fonctionnalité amine de faible masse moléculaire. Cette réaction d'aminolyse en phase gazeuse permet d'introduire divers types de fonctionnalités chimiques dans le film. Dans un second temps, nous montrerons qu'il est possible de fonctionnaliser le film avec des amines de masse moléculaire plus élevée, en phase aqueuse, par réaction de couplage en présence d'EDC/NHS. Nous utiliserons cette réaction de couplage afin d'élaborer des films bi-fonctionnels constitués de chaînes de poly(éthylène glycol) (Peg) linéaires et de biotine. La fonctionnalisation des substrats avec les Pegs permet de former une barrière interfaciale empêchant l'adsorption de protéines sur le substrat tandis que la biotine est un récepteur spécifique de protéines (avidine et streptavidine). L'objectif est d'obtenir une surface non-adsorbante pour les protéines lorsque le substrat est à l'état relaxé (masquage de la biotine par les Pegs), puis de promouvoir l'adsorption spécifique des protéines lorsque le substrat est sous élongation (démasquage). La **Figure 1.1** schématise ce concept. En d'autres termes, il s'agit de mettre au point un système de reconnaissance moléculaire activé par un stimulus mécanique. La réversibilité du phénomène, c'est-à-dire le

relarguage des protéines lors de la relaxation du substrat, constitue l'objectif ultime de ce projet.

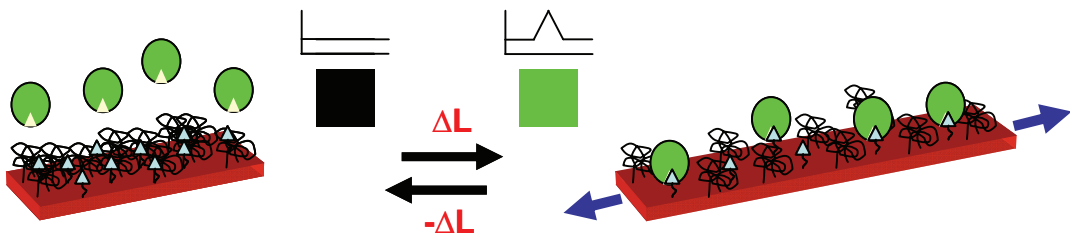


Figure 1.1 : Concept de surface adaptative dont les propriétés d'adsorption de protéines sont modulées par un stimulus mécanique

2 Généralités

2.1 Pegs et surfaces non adhérentes pour les protéines

L'adhésion non-spécifique d'objets biologiques (adsorption de protéines, adhésion bactérienne, déposition des plaquettes du sang) sur la surface des matériaux est un problème important dans le domaine biomédical.¹ Par exemple, cette adhésion diminue le rapport signal/bruit dans les tests immunologiques et réduit la durée de vie des implants médicaux. Un enjeu important de la recherche vise à modifier la surface des matériaux afin de réduire ces effets.²

La modification de la surface des matériaux avec des polysaccharides³ ou des phospholipides⁴ sont, entre autres, des solutions permettant de réduire l'adhésion de protéines ou de cellules. La modification des surfaces avec des chaînes de poly(éthylène glycol) (Peg, appelé aussi oxyde de polyéthylène Peo) représente la stratégie la plus utilisée. La faible hydrophobicité et la neutralité des groupements éthylène glycol (-CH₂CH₂O-) additionnée aux propriétés d'hydratation et de conformation des chaînes en solution sont probablement à l'origine des faibles interactions des Pegs vis-à-vis des protéines. Aussi, le caractère anti-adsorbant des surfaces modifiées avec des Pegs est lié à la formation d'une barrière interfaciale empêchant les protéines ou les cellules d'accéder au substrat.^{5,6}

Diverses stratégies permettent de fonctionnaliser la surface des matériaux avec des Pegs. Nous présenterons ici quelques exemples illustrés par la **Figure 2.1**.

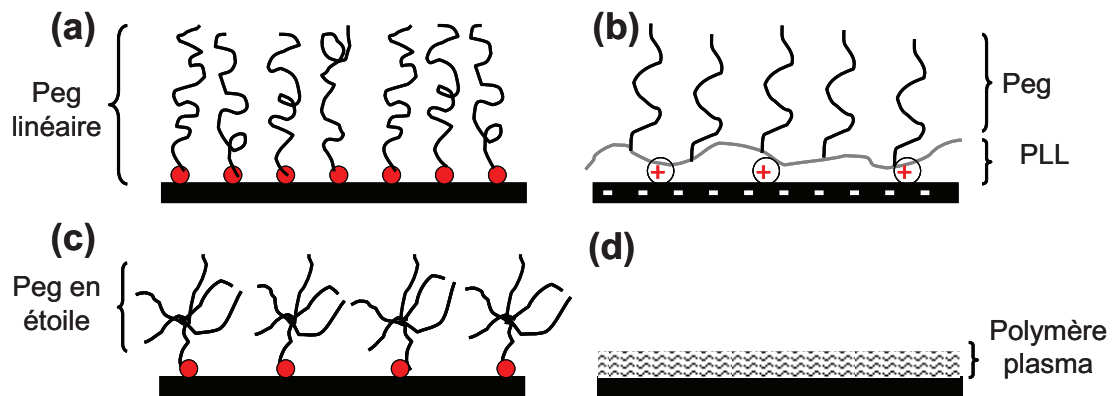


Figure 2.1 : Schémas illustrant différentes méthodes de fonctionnalisation de la surface de matériaux avec des Pegs (a) Greffage de Pegs linéaires, (b) Adsorption de copolymère PLL-g-Peg, (c) Greffage de Pegs en étoile, (d) Dépôt d'une couche polymère plasma d'éthylène glycol

Quatre approches différentes peuvent être retenues :

- Le greffage de chaînes linéaires de Pegs : oligomères⁷ ou polymères⁸ comportant une extrémité réactive (thiol, amine, acide carboxylique, etc.) sont greffés de façon covalente sur un substrat présentant des groupements réactifs de surface. Le recouvrement de la surface et l'épaisseur du film déposé dépendent de la masse moléculaire des Pegs et de la densité de points d'attache sur la surface. Les régimes de conformation associés seront détaillés dans le paragraphe suivant.
- L'adsorption de copolymères constitués d'une chaîne polymère (polylélectrolyte⁹, polysiloxane¹⁰, etc.) présentant des segments latéraux de Pegs. Par exemple, les copolymères poly(L-Lysine)-g-poly(éthylène glycol) (PLL-g-PEG) utilisés par Textor et al¹¹ sont constitués de chaînes polyélectrolytes de PLL sur lesquelles sont greffés des Pegs dont le taux de greffage et la taille sont contrôlés lors de la synthèse. Ces polymères sont généralement adsorbés par interactions électrostatiques sur des surfaces chargées mais ils ont également été adsorbés directement sur des surfaces de PDMS par interaction hydrophobe en milieu aqueux.¹²
- Le greffage (ou l'adsorption) de Pegs en étoile¹³ : Cette stratégie permet d'introduire des structures complexes, denses et compactes de Pegs sur la surface. Une stratégie intéressante consiste à fonctionnaliser le substrat à l'aide de structures dendritiques présentant des groupements réactifs dans une première étape, puis à faire réagir ces groupements avec des Pegs fonctionnalisés dans une seconde étape.¹⁴
- Le dépôt d'une couche polymère plasma d'éthylène glycol : à partir d'un monomère présentant des unités éthylène glycol, tels que le di(éthylène glycol) monovinyl

éther¹⁵ ou le di(éthylène glycol) diméthyle éther¹⁶, il est possible de déposer une couche polymère plasma présentant des propriétés non-adsorbantes pour les protéines. Cette méthode présente l'avantage d'être applicable à des matériaux inertes.

2.2 Définition des régimes de polymères greffés en surface

Selon de Gennes¹⁷, deux régimes structuraux peuvent être identifiés lorsque des chaînes polymères de Pegs sont greffées sur une surface. Ces deux régimes qui présentent des propriétés physico-chimiques différentes, sont qualifiés de structure en « champignon » ou en « peigne ». Comme l'illustre la **Figure 2.2**, la structure en « champignon » est obtenue pour des densités de greffage faibles, lorsque les chaînes adjacentes n'interagissent pas latéralement. La structure en « peigne » apparaît pour des densités de greffage élevées, lorsque les chaînes se recouvrent latéralement.

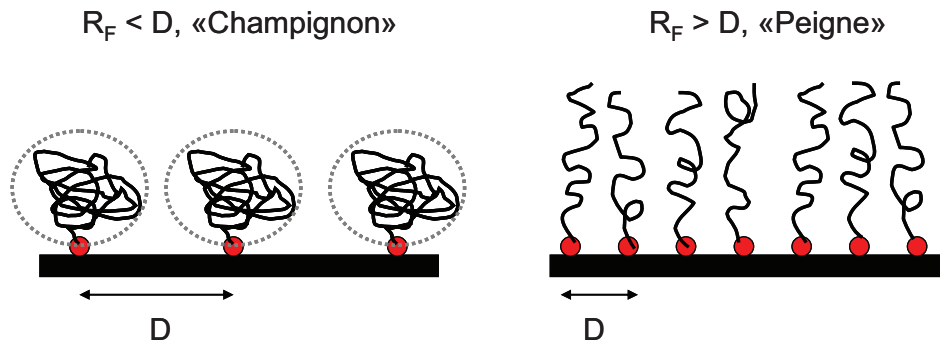


Figure 2.2 : Représentation schématique des deux régimes structuraux « limite » de chaînes polymères greffées sur une surface

La définition de ces régimes dépend à la fois de la distance D entre les sites de greffage et de la taille de la pelote formée par le polymère en solution, définie par le rayon de Flory $R_F = aN^{3/5}$ où N est le degré de polymérisation et a est la taille du monomère.

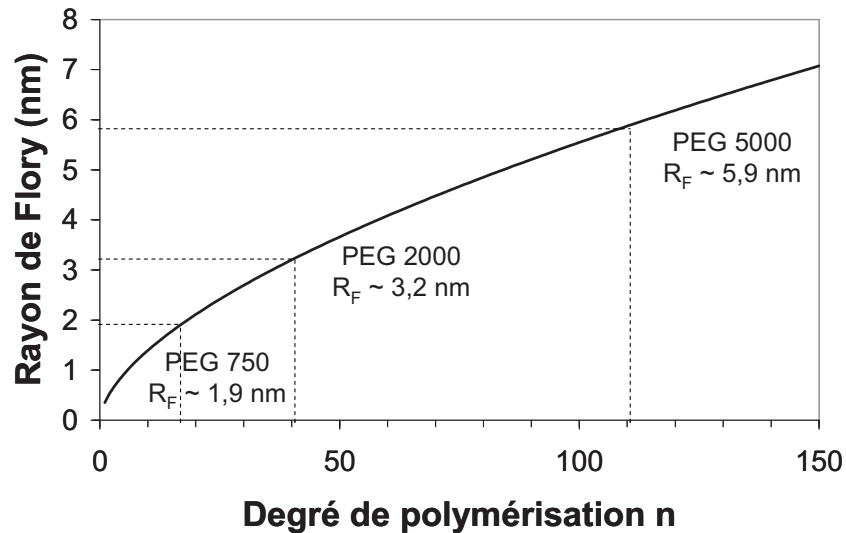


Figure 2.3 : Calcul du rayon de Flory $R_F = aN^{3/5}$ de chaînes de PEGs en solution en fonction du degré de polymérisation n , avec $a = 0,35 \text{ nm}^{18}$

Dans le formalisme de de Gennes, le régime en « peigne » s'applique lorsque $D < R_F$ et le régime en « champignon » s'applique pour $D > R_F$ (Figure 2.2).

2.3 Interactions spécifiques de type protéine/ligand, cas de la biotine

L'interaction entre l'avidine (ou la streptavidine) et la biotine est la plus forte interaction biologique de type protéine/ligand connue, avec une constante de dissociation $K_d = 1,3 \cdot 10^{-15} \text{ M}$ à $\text{pH} = 5$.¹⁹ La biotine est une petite molécule hydrophobe présente dans toutes les cellules vivantes agissant comme coenzyme des carboxylases.²⁰

L'avidine est une glycoprotéine tétramérique dont la masse molaire est de l'ordre de 66-68 kDa et que l'on trouve (entre autres) dans l'albumine de l'œuf. L'interaction spécifique entre l'avidine et la biotine est rapide. La stabilité du complexe dans de larges domaines de pH et de température²¹ a motivé son utilisation dans de nombreuses applications incluant les tests immunologiques²², l'hybridation de l'ADN²³, et la localisation d'antigènes au niveau des cellules et des tissus.²⁴ Dans la plupart des applications, la protéine est couplée à une phase solide telle qu'un lit magnétique, une plaque de microtitration ou une bio-puce, tandis que la biotine est couplée à des objets biologiques tels que des anticorps, des protéines ou l'acide nucléique.²⁵ L'avidine présente un point isoélectrique de 10,5. En raison de sa charge positive et de ses fractions d'oligosaccharides, l'avidine peut interagir de manière non spécifique avec les charges négatives de la surface des cellules et de l'acide nucléique ou avec les membranes de récepteurs (sucres), ce qui pose des problèmes de bruit de fond dans les applications précédemment mentionnées.²⁵

La streptavidine est une protéine tétramérique non glycosylée analogue à l'avidine purifiée à partir de la bactérie *Streptomyces avidinii*. Cette protéine présente une masse moléculaire de l'ordre de 60 kDa. Comme l'avidine, chaque molécule de streptavidine peut se lier à 4 molécules de biotine avec une constante de dissociation similaire. La streptavidine présente un point isoélectrique de 5, sa charge globale est donc négative au pH physiologique (pH~7,4). En général, la streptavidine pose moins de problèmes de bruit de fond que l'avidine.²⁵

Enfin, la Neutravidin™ (Neutravidin™ est une marque déposée par Pierce Chemical Company, Rockford, IL) est une avidine chimiquement modifiée de manière à réduire son point isoélectrique d'une part, et à la déglycosyler d'autre part. Les propriétés d'interaction avec la biotine sont conservées, tandis que les problèmes de bruit de fond rencontrés avec l'avidine sont réduits.²⁵

2.4 Systèmes bi-fonctionnels Pegs/récepteur spécifique

Les systèmes bi-fonctionnels sont composés de Pegs et de récepteurs, ce qui permet d'éliminer l'adsorption non spécifique tout en favorisant les interactions spécifiques. Ces systèmes permettent ainsi d'augmenter le rapport signal/bruit pour des applications analytiques (« biosensors ») et pour favoriser la vectorisation contrôlée de médicaments à l'aide de microcapsules fonctionnalisées, par exemple.²⁶

Différentes stratégies sont utilisées pour élaborer des surfaces bi-fonctionnelles, incluant l'usage de copolymères dont les chaînes latérales alternent chaînes de Pegs et récepteurs spécifiques²⁶, de dendrimères²⁷, ou encore de systèmes de Pegs linéaires mixtes constitués de Pegs oligomères et de Pegs longs présentant un récepteur spécifique en bout de chaîne.^{28,29} Les oligomères forment ainsi une barrière interfaciale empêchant l'adsorption non spécifique tandis que les Pegs fonctionnalisés exposent le récepteur en dehors de cette barrière. Cette stratégie est mise en œuvre sur des membranes de vésicules de phospholipides³⁰ (application en vectorisation) ou sur des systèmes mixtes de monocouches auto assemblées.³¹ Les bicouches de phospholipides constituent d'intéressants systèmes d'étude car ils présentent une structure auto-organisée dense et compacte. Il est alors possible de contrôler la quantité et la densité de récepteurs et de Pegs greffés à la surface des vésicules. Needham et al³² ont étudié des systèmes constitués de membranes bi-fonctionnelles présentant un taux de greffage fixé de biotine et un taux de greffage variable de Peg 750. L'adsorption spécifique de l'avidine sur ce système a été quantifiée en fonction de la quantité de Peg 750 introduite. La **Figure 2.4** illustre les dimensions de ce système.

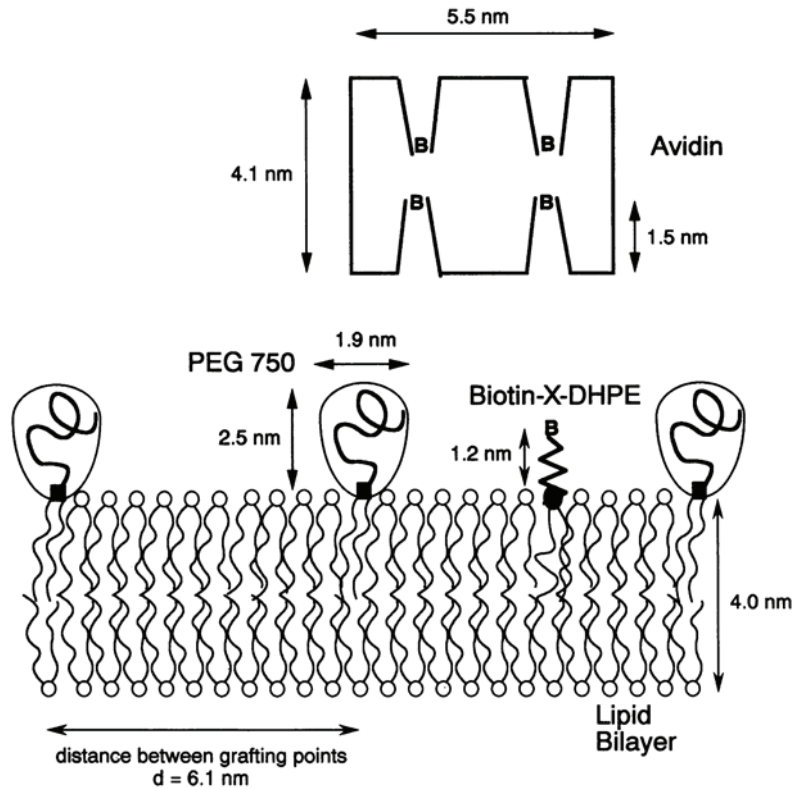


Figure 2.4 : Schéma illustrant les dimensions d'une membrane lipidique fonctionnalisée avec des molécules de biotine et de Pegs 750, ainsi que l'avidine et ses 4 sites spécifiques (d'après la référence 32)

La **Figure 2.5** présente la quantité relative d'avidine fixée sur les vésicules en fonction de la concentration de Pegs 750 incorporés au système, pour une concentration de biotine fixée (5 mol%).

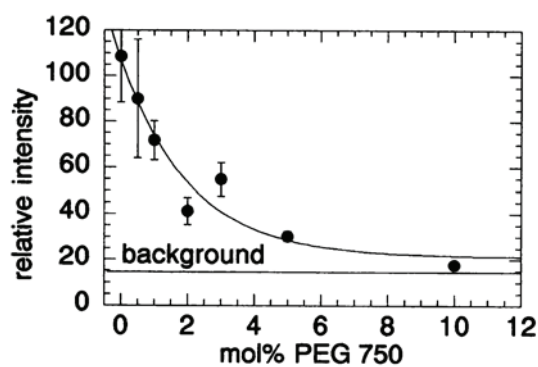


Figure 2.5 : Adsorption relative de l'avidine au niveau de la membrane des vésicules en fonction de la concentration de Peg 750. Une quantité fixée de biotine (5 mol%) est préalablement greffée sur la membrane, le temps d'incubation de l'avidine (0,1 mg/ml) est de deux minutes (d'après la référence 32)

Ces résultats montrent qu'en augmentant la quantité de PEGs 750 greffé sur la surface, la quantité d'avidine attachée sur la surface présentant initialement 5 mol% de biotine décroît significativement. Les sites spécifiques sont quasiment complètement bloqués à partir d'une concentration de 10 mol% de PEGs 750 dans la membrane. Pour cette concentration, la couche de polymère est proche du régime en peigne³³ et la surface est complètement recouverte par les PEGs. Ces auteurs affirment également que pour des PEGs de masse moléculaire plus élevée (PEG 2000), l'addition de seulement 4 mol% permet de bloquer complètement les sites spécifiques (résultats non montrés dans l'article). Kaasgaard et al³⁴ présentent une étude réalisée sur le même type de système en incorporant une concentration variable de PEGs 2000 ou PEGs 5000 sur une membrane comportant une quantité de biotine fixée de 0,5 mol%. La **Figure 2.6** présente les résultats de cette étude.

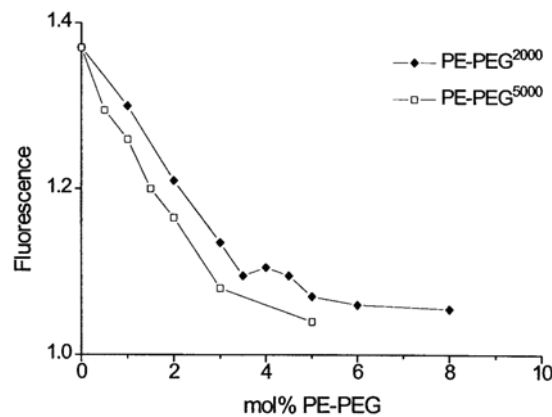


Figure 2.6 : Evolution de la fluorescence relative (I/I_0) traduisant l'adsorption relative de l'avidine au niveau de la membrane des vésicules en fonction de la concentration de Peg 750. Une quantité fixée de biotine (0,5 mol%) est préalablement greffée sur la membrane (d'après la référence 34)

Comme dans le cas des PEGs 750, l'introduction de PEGs 2000 ou de Peg 5000 permet de diminuer l'adsorption de l'avidine par le masquage des sites spécifiques de biotine. Cependant, dans cette étude, le blocage complet des sites (Fluorescence=1) n'est pas obtenu à des concentrations élevées de PEGs.

Ces travaux, réalisés à partir de systèmes modèles dont la préparation et la caractérisation sont bien maîtrisées, montrent qu'il est possible de bloquer les sites de récepteurs spécifiques de surface à l'aide de PEGs linéaires. L'avantage des systèmes de vésicules est de pouvoir contrôler et optimiser les quantités relatives de biotine et de PEGs greffées au niveau de la membrane. En effet, la concentration de sites réactifs par vésicule étant connue, il suffit d'ajuster les concentrations de réactifs par rapport à la concentration de vésicules. Un tel contrôle n'est pas concevable dans le cas de substrats modifiés par polymérisation plasma, mais les travaux réalisés sur les vésicules démontrent le potentiel du

concept de chaînes macromoléculaires de Pegs linéaires masquant des sites spécifiques. Le degré de liberté supplémentaire d'un système bi-fonctionnel réalisé sur un substrat de PDMS élastique et réactif est apporté par la capacité du substrat à s'étirer et ainsi à « débloquer » les sites spécifiques masqués. L'objectif de ce travail est de tenter de démontrer la faisabilité de ce concept à partir d'un substrat de PDMS traité par polymérisation plasma puis fonctionnalisé (voir Figure 1.1)

3 Matériel et méthodes

3.1 Fonctionnalisation du film polymère plasma

3.1.1 Réaction de dérivatisation

La réaction de dérivatisation par le trifluoroéthanol (TFE) permet de quantifier la fraction réactive de groupements acide carboxylique d'un film par XPS. Nous avons reproduit le protocole décrit par Ratner et al³⁵ en phase gazeuse, utilisant le di-*tert*-butylcarbodiimide (Di-tBuC) comme agent de couplage, en présence de pyridine. Le substrat de PDMS a été placé sur une plaque de verre introduite dans un flacon en verre. Le TFE (0,9 mL), la pyridine (0,4 mL) et le Di-tBuC (0,3 mL) ont été séquentiellement injectés dans le flacon (sous la plaque de verre) à 15 min d'intervalle. Le flacon a ensuite été fermé à l'aide d'un bouchon en PTFE et la réaction a été menée à température ambiante pendant 12 h. Un échantillon contrôle de PDMS non traité a également été placé dans ces conditions. Le TFE et le Di-tBuC utilisés sont des produits commerciaux (Sigma-Aldrich).

3.1.2 Greffage covalent d'amines en phase gazeuse

Principe. En phase gazeuse, une amine réagit avec un groupement anhydride pour former une liaison amide, en l'absence de catalyseur. La **Figure 3.1** présente le mécanisme de la réaction d'aminolyse étudiée par Badyal et al³⁶ sur des films polymère plasma d'anhydride maléique.

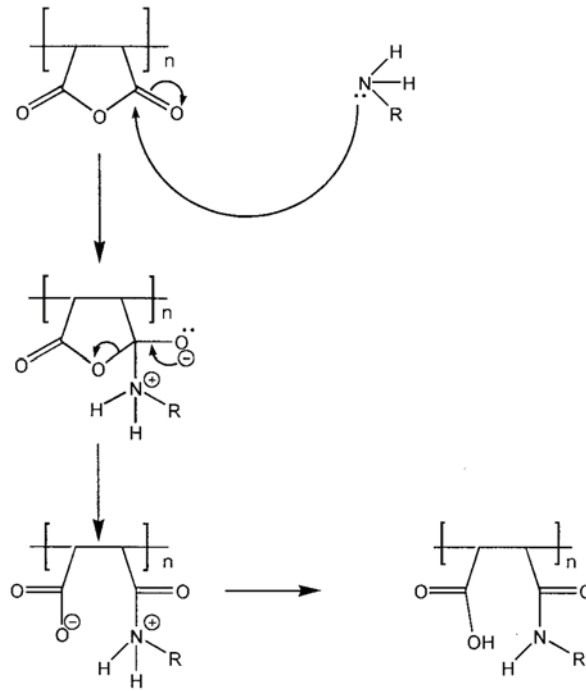


Figure 3.1 : Mécanisme de la réaction entre groupements anhydride et amine en phase gazeuse, en l'absence de catalyseur (d'après la référence 36)

Cette réaction en phase gazeuse est possible à condition que l'amine que l'on souhaite greffer au film polymère plasma possède une tension de vapeur suffisamment faible pour que la molécule puisse être volatilisée sous une pression de $\sim 10^{-4}$ mbar à température ambiante. C'est le cas de molécules de faible masse moléculaire telles que l'éthylènediamine ($\text{NH}_2\text{CH}=\text{CHNH}_2$) ou la propylamine ($\text{NH}_2(\text{CH}_2)_2\text{CH}_3$). Cette réaction permet ainsi de moduler la chimie du film polymère plasma avec des groupements de diverses natures. Il est également possible de refermer le cycle en libérant une molécule d'eau et en formant un imide, par chauffage à 120°C sous vide.

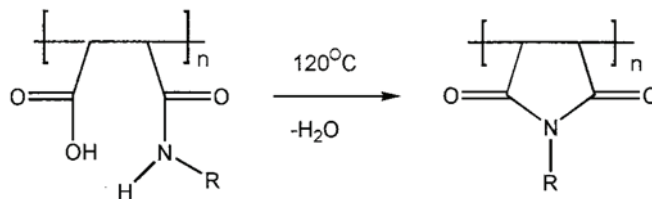


Figure 3.2 : Formation d'un imide cyclique par chauffage à 120°C (d'après la référence 36)

Protocole. La réaction est réalisée consécutivement au dépôt de polymère plasma, dans la même chambre de polymérisation plasma, sans exposer l'échantillon à l'atmosphère. Pour cela, on utilise un double tube à monomère, l'un contenant l'anhydride maléique et le second l'amine. Ainsi, après le dépôt d'anhydride maléique par polymérisation plasma,

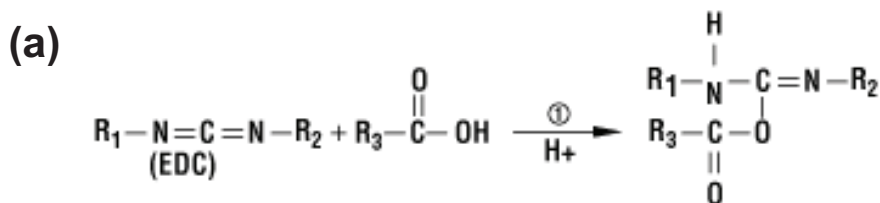
lorsque la pression dans le réacteur est descendue à 5.10^{-4} mbar, l'enceinte du réacteur est mise dans des conditions de vide statique (la vanne entre l'enceinte et le réacteur est fermée) et le tube à monomère contenant l'amine est ouvert pour saturer l'enceinte à la pression de vapeur saturante de la molécule réactive, pendant 10 min. Le tube contenant l'amine est ensuite fermé et la vanne entre l'enceinte réactionnelle et la pompe est ouverte afin d'évacuer les molécules n'ayant pas réagi vers le piège à azote. Lorsque la pression est redescendue à 5.10^{-4} mbar, la chambre du réacteur est remise à l'atmosphère. Remarquons que cette méthode permet de garantir un maximum de réactivité puisqu'elle permet d'éviter l'hydrolyse du film et la réaction des molécules d'amine avec le CO_2 de l'air.

Matériel. La propargylamine est une molécule commerciale (Sigma-Aldrich).

3.1.3 Greffage covalent d'amines en phase aqueuse

Principe. En milieu aqueux, la réaction entre une amine et un acide carboxylique conduit à la formation d'une liaison amide. Cette réaction peut être catalysée en présence d'EDC (1 éthyl-3-(3-diméthylaminopropyl) carbodiimide hydrochloride) et de NHS (N-hydroxysuccinimide), agents de couplage couramment utilisés en synthèse peptidique.³⁷

L'EDC réagit avec un acide carboxylique pour former un intermédiaire O-acylsourea. Une amine primaire (RNH_2) réagit alors avec l'acide carboxylique activé pour former une liaison amide. A noter que l'intermédiaire O-acylsourea est instable en solution aqueuse. A défaut de réaction avec une amine, l'hydrolyse de l'intermédiaire conduit à la régénération des groupements acide carboxylique et à la dégradation de l'EDC sous forme d'urée. L'activation des groupements acide carboxylique par l'EDC dépend fortement du pH.³⁸ Celle-ci est optimale dans des conditions de pH acide de l'ordre de $\text{pH} = 3-5$. A l'opposé, c'est sous sa forme déprotonée $-\text{RNH}_2$ que l'amine peut réagir avec l'acide activé, c'est-à-dire à pH basique. Une méthode en deux étapes consiste à activer l'acide dans les conditions de pH acide, puis à introduire l'amine dans des conditions de pH basique. D'autre part, la méthode en une étape consiste à se placer à un pH intermédiaire mais nécessite l'ajout d'un excès d'EDC.



menée pendant une nuit, avec un ajout d'EDC/NHS au bout de 3 heures de réaction. Le **Tableau 3.1** présente les différentes concentrations de réactifs utilisés, ainsi que les temps de réaction correspondants. La **Figure 3.5** présente les structures moléculaires de l'amino-Peg_n-MeO et de l'amino-Peg_n-biotine.

| | | Concentration (mg/mL PBS) | Temps de réaction (h) |
|-------------------------------|---|------------------------------|--------------------------|
| amino-Peg-MeO | NH ₂ Peg(5000)MeO | 20 | 12 |
| | NH ₂ Peg(2000)MeO | 20 | 12 |
| | NH ₂ Peg(750)MeO | 7,5 | 12 |
| | NH ₂ Peg ₅ N ₃ | 10 | 4 |
| | NH ₂ Peg ₃ FITC | 2 | 4 |
| amino-Peg-biotine | NH ₂ Peg ₂ biotine | 1 | 4 |
| | NH ₂ Peg ₁₂ biotine | 2 | 4 |
| 2-(2-pyridyldithio)éthylamine | | 2 | 4 |

Tableau 3.1: Concentrations de réactifs et temps de réaction en phase aqueuse

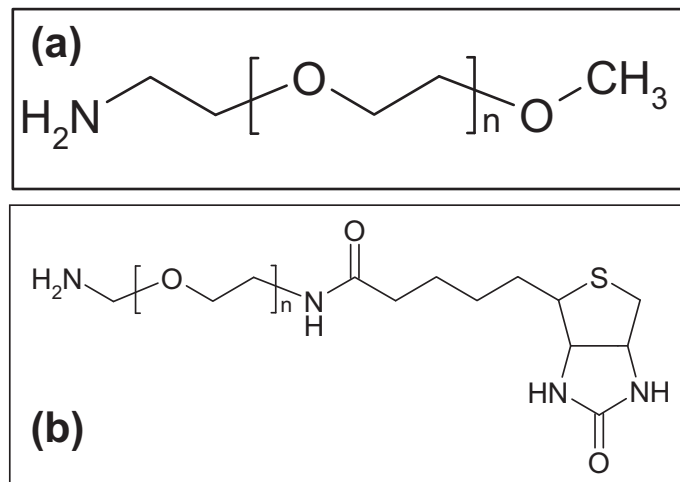


Figure 3.5 : Structures moléculaires de (a) l'amino-Peg_n-MeO et de (b) l'amino-Peg_n-biotine

Après la réaction, les surfaces ont été rincées alternativement dans des solutions de KCl 1 M acides (HCl, pH~2) et basiques (KOH, pH~11) afin de rompre d'éventuelles liaisons électrostatiques $\text{-COO}^-/\text{NH}_3^+$ et de favoriser l'hydrolyse et le lavage des agents de couplage.

Protocole de greffage dans les conditions de « Cloud Point ». Les films sont activés dans une solution d'EDC/NHS (20 mg.ml⁻¹/2 mg.ml⁻¹) à pH = 5 (tampon phosphate) à 4°C pendant 30 min. La réaction avec les amino-Pegs (750, 2000 ou 5000) est réalisée à 60°C dans une solution de sulfate de sodium Na₂SO₄ 0,6 M (dans le PBS). Les concentrations de

Pegs sont similaires à celles décrites dans le Tableau 3.1. Afin de maintenir la température à 60°C, les films sont placés à l'intérieur d'un tube qui est ensuite immergé dans un bain marie thermostaté placé sur une table rotative. Le temps de réaction est de 12h, les agents de couplage EDC/NHS sont rajoutés après 1h30 de réaction, puis l'EDC est rajouté après 3h, 6h, et 9h de réaction. Précisons que dans les cas des films bi-fonctionnels Pegs/biotine les Pegs sont greffés dans les conditions de « Cloud Point » tandis que la biotine est greffée successivement aux Pegs, dans les conditions « normales ».

Matériel. L'EDC, le sulfo-NHS, le PBS (sous forme de pastilles) et l' amino-Peg750 sont des produits commerciaux (Sigma- Aldrich). Les amino-Pegs 2000 et 5000, les amino-Peg-biotine et la 2-(2-pyridyldithio)éthylamine ont été synthétisés par Benoît Frisch et Jean Sébastien Thomann (Laboratoire de Conception et Application de Molécules Bioactives - C.N.R.S, Université de Strasbourg - UMR 7199 Faculté de Pharmacie- Illkirch, France).

3.1.4 Greffage covalent par « chimie click »

Principe. La réaction entre un azide ($R-N_3$) et un alcyne ($R-C_2H$) appelée réaction « click » a été décrite en 2001 par Sharpless et al⁴¹ Cette réaction est intéressante car elle est rapide, elle conduit à des rendements élevés avec une importante sélectivité, dans divers types de solvants (protique/aprotique, polaire/apolaire). Cette réaction permet ainsi de coupler différents types d'interfaces telles que solide/liquide, liquide/liquide et même solide/solide. Lorsqu'elle est catalysée par le cuivre $Cu(I)$ (elle est aussi catalysée par des sels de Ru , Pd^{2+} , Pt^{2+} et Ni^{2+}) cette réaction opère à température ambiante, elle est insensible aux solvants et montre une grande tolérance par rapports aux fonctions chimiques.⁴²

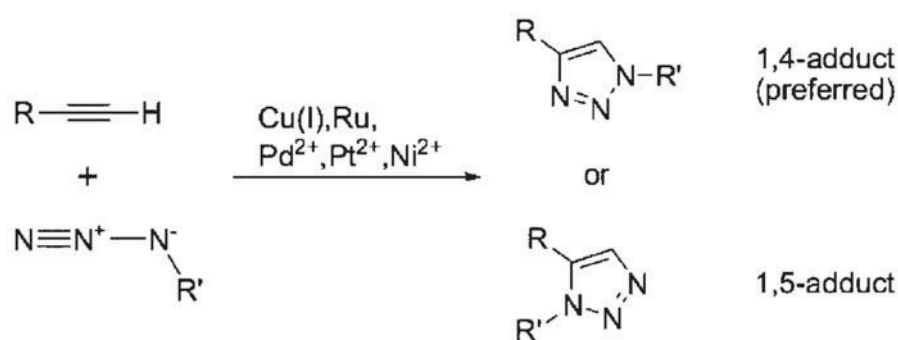


Figure 3.6 : Réaction par « click » entre un azide et un alcyne, catalysée par $Cu(I)$ (d'après la référence 42)

Protocole. Les conditions de réaction utilisées dans ce travail s'inspirent de celles décrites par Bergbereiter et al⁴³ pour le greffage covalent de films multicouches par « click ».

Les substrats de PDMS traités 6 min par polymérisation plasma puis fonctionnalisés avec la propargylamine (alcyne) en phase gazeuse ont été mis en contact avec le catalyseur et l'azide en solution dans de l'eau déionisée (pH ~ 5). Différentes conditions catalytiques ont été testées et sont décrites dans le **Tableau 3.2**.

| | | | |
|----------|--|-----------------------|-----------------|
| A | CuSO ₄ / ascorbate | 0,3 / 1 mg/ml eau | 5h, T° ambiante |
| B | CuSO ₄ / ascorbate / Batho. | 0,3 / 1 / 1 mg/ml eau | 5h, T° ambiante |
| C | CuCl | 0,2 mg/ml eau | 5h, T° ambiante |

Tableau 3.2 : Conditions de réaction de couplage par « click » testées dans cette étude

Dans les conditions **A**, le catalyseur est constitué d'une solution de sulfate de cuivre et d'ascorbate de sodium permettant de réduire le Cu(II) sous la forme Cu(I) active du point de vue catalytique. Dans les conditions **B**, l'acide disulfonique de bathophénanthroline (Batho.) est ajoutée au sulfate de cuivre et à l'ascorbate. Cette molécule est un ligand pour le cuivre (II) et permet en principe d'accélérer la réaction. Dans les conditions **C**, c'est le chlorure de cuivre CuCl (Cu (I)) qui est utilisé comme catalyseur. Les réactifs sont ajoutés à ces différentes solutions de catalyseur. Deux types d'azides ont été testés : un azide marqué N₃Peg₃FITC et un Azido-Peg N₃-Peg2000-OMe, à des concentrations de 1 mg/ml et 10 mg/ml, respectivement. Les substrats de PDMS fonctionnalisés avec la propargylamine sont immergés dans les solutions contenant le catalyseur et l'azide pendant 5h, à température ambiante.

Les substrats sont ensuite rincés alternativement dans des solutions de KCl 1 M à pH acide et basique. Dans le cas de l'azide marqué FITC, une étape de rinçage supplémentaire dans le dichlorométhane est appliquée. Les substrats fonctionnalisés avec l'azide marqué sont analysés par microscopie à fluorescence tandis que les substrats fonctionnalisés avec les Pegs sont analysés par mouillabilité.

Matériel. Les azides sont préparés par l'équipe de Benoît Frisch, l'ascorbate de sodium, le sulfate de cuivre, le chlorure de cuivre et l'acide disulfonique de bathophénanthroline sont des produits commerciaux (Sigma-Aldrich).

3.1.5 Fonctionnalisation de surfaces de silicium

Avant le traitement par polymérisation plasma, les surfaces de silicium ont été fonctionnalisées avec une monocouche de 3-(N-allylamino)propyltriméthoxysilane (APTES). Ces silanes présentent des groupements diènes (-C=C-) permettant d'améliorer l'adhésion du film polymère plasma sur le substrat.⁴⁴ Les wafers de silicium sont immergés dans une solution piranha H₂SO₄ / H₂O₂ (70 % / 30 % en volume) pendant 30 min à 70°C afin de

promouvoir la formation de groupements silanols (Si-OH). Les wafers sont ensuite rincés à l'eau déionisée, séchés sous flux d'azote, puis immergés pendant 12h dans une solution millimolaire d'APTES (30 μ L dans 50 mL de chloroforme) pour la réaction de silanisation. Les wafers sont finalement rincés dans le chloroforme puis séchés sous flux d'azote avant leur introduction dans le réacteur de polymérisation plasma.

3.2 Test d'adsorption de protéines

3.2.1 Principe et protocole de la mesure

Principe. Le test d'adsorption de protéines consiste à mettre la surface en contact avec la solution de protéines marquées, à rincer, puis à mesurer la quantité de protéines adsorbées sur la surface après l'étape de rinçage.

Protocole. La quantité relative de protéines adsorbées sur la surface est évaluée par microscopie à fluorescence. La **Figure 3.7** détaille les différentes étapes du test réalisé sur un substrat de PDMS, en fonction du taux d'élongation.

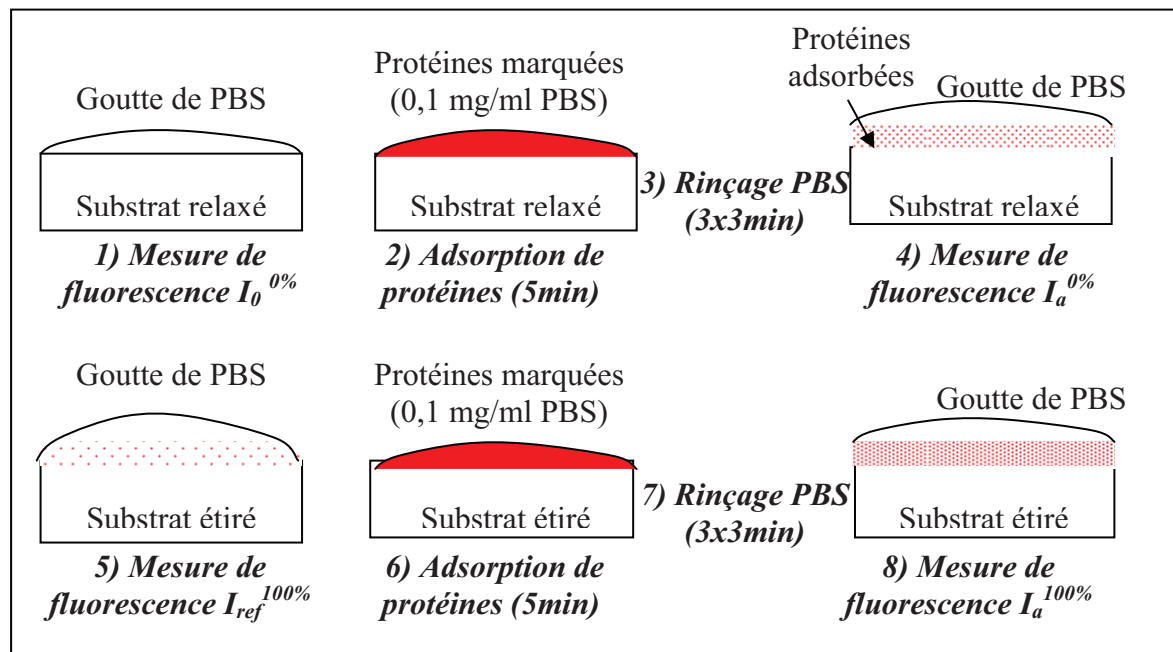


Figure 3.7: Test d'adsorption de protéines en fonction de l'élongation du substrat

L'étape préliminaire consiste à mesurer l'auto fluorescence du substrat, c'est-à-dire l'intensité du signal de fluorescence intrinsèque au substrat (en d'autres termes, le bruit de fond de la mesure). Celui-ci varie en fonction de la nature du substrat. Ainsi, il est généralement plus important sur le PDMS que sur un wafer de silicium. Il peut également varier après fonctionnalisation du substrat avec des molécules, selon leur spectre d'excitation/émission par fluorescence. Par exemple, les substrats fonctionnalisés avec la

propargylamine montrent une importante autofluorescence dans le vert. Notons également que l'autofluorescence du substrat diminue avec le taux d'élongation.

Après la mesure du signal d'autofluorescence dans le PBS (*étape 1*), une goutte de solution de protéines est déposée sur la surface à l'aide d'une micropipette. L'étape d'adsorption est fixée à 5 min (*étape 2*), ce qui est comparable aux conditions utilisées par Reisch et al⁴⁵ sur des substrats de PDMS modifiés avec des multicouches de polyelectrolytes. La goutte de protéines est ensuite aspirée puis une goutte de PBS est déposée sur la surface pendant 3 min. Le rinçage (*étape 3*) est considéré comme efficace lorsque l'intensité de fluorescence du substrat demeure constante. Dans cette étude, 3 rinçages s'avèrent suffisants. L'intensité de fluorescence $I_a^{0\%}$ du substrat après l'étape d'adsorption à l'état relaxé est ensuite déterminée dans le PBS (*étape 4*). Le substrat est fixé dans le dispositif d'étirement puis étiré au taux d'allongement souhaité. Dans cette étude, le taux d'allongement est fixé à 100%. La fluorescence de référence $I_{ref}^{100\%}$ est alors mesurée à l'état étiré (*étape 5*). Celle-ci est toujours plus faible que $I_a^{0\%}$ à cause de la diminution de l'autofluorescence et par des effets de dilution des protéines adsorbées à la surface. Le substrat étiré est ensuite mis en contact avec la solution de protéines pendant 5 min (*étape 6*), avant rinçage (*étape 7*). La fluorescence totale du substrat après cette seconde étape d'adsorption est déterminée sur le substrat à l'état étiré (*étape 8*).

Matériel. Les protéines utilisées pour les tests d'adsorption sont des protéines marquées avec un marqueur fluorescent. La protéine utilisée dans cette étude est la streptavidine, marquée par FITC (vert) ou Rhodamine (rouge). Les protéines marquées sont commerciales (Sigma Aldrich) et se présentent sous la forme d'une poudre lyophilisée. Celles-ci ont été dissoutes dans du PBS, à une concentration de 0,1 mg/ml par dilution d'une solution mère de 1 mg/ml. Les solutions sont filtrées à l'aide d'un filtre à microparticules (Millipore®) avant d'être stockées au réfrigérateur à 4°C.

3.2.2 Mesure de fluorescence

Les mesures de fluorescence sont réalisées à l'aide d'un microscope à épifluorescence (Olympus BX51). La source d'excitation est une lampe à mercure. Les images de fluorescence sont réalisées avec un objectif 10x, avec une résolution de 1360x1024 et un temps d'acquisition de 1s. Pour chaque mesure, 4 images sont réalisées sur différentes zones de l'échantillon.

3.2.3 Analyse des images, détermination de l'adsorption

Les images sont analysées à l'aide du logiciel Image J (National Institute of Mental Health, Bethesda, Maryland, USA). Pour chaque image, deux mesures d'intensité sont réalisées à deux endroits différents. Ainsi, chaque mesure correspond à la moyenne de 8

valeurs d'intensité (4 images x 2 mesures d'intensité). $I_0^{0\%}$, $I_a^{0\%}$, $I_{ref}^{100\%}$ et $I_a^{100\%}$ sont déterminées par cette méthode. L'incertitude correspondante représente l'écart moyen des 8 valeurs d'intensité.

L'adsorption à l'état relaxé $Ads(0\%) = I_a^{0\%} - I_0^{0\%}$ et l'adsorption supplémentaire après élongation $Ads(100\%) = I_a^{100\%} - I_{ref}^{100\%}$ sont déterminées à partir des mesures d'intensité. A noter que l'adsorption totale de l'échantillon après les 2 étapes d'adsorption correspond à la somme $Ads(totale) = Ads(0\%) + Ads(100\%)$, les incertitudes associées correspondent à la somme des incertitudes sur les intensités.

3.2.4 Dispositifs d'élongation

La **Figure 3.8** présente le dispositif d'élongation uni-axial utilisé dans ces travaux. Les analyses de surface (mouillabilité et AFM) réalisées en fonction de l'élongation présentées dans les chapitres 2 et 3 ont été réalisées à l'aide de ce type de dispositif. Remarquons que le dispositif d'élongation pour l'AFM est légèrement différent puisqu'il est muni d'un support en acier se glissant sous l'échantillon afin de le stabiliser et de réduire les vibrations.

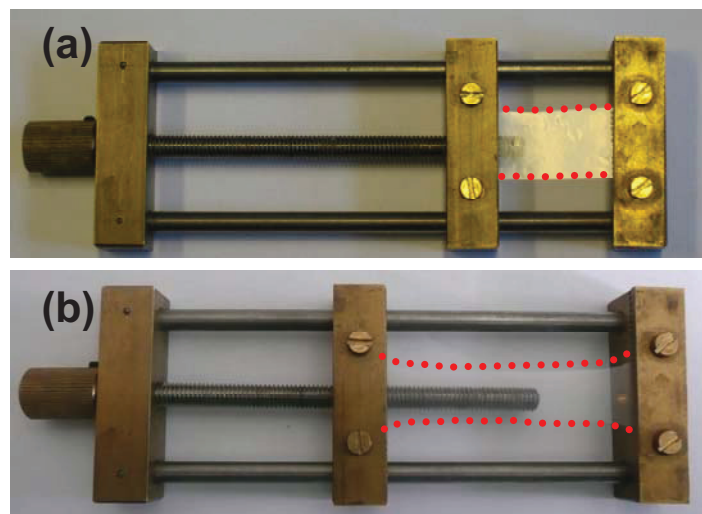


Figure 3.8 : Dispositif d'élongation uni-axial, vue de dessus. (a) Echantillon à l'état relaxé. (b) Echantillon à l'état étiré

La **Figure 3.9** présente le dispositif d'élongation triaxial mis au point dans le cadre de ces travaux. La base est un mandrin commercial en acier pouvant s'ouvrir où se fermer par simple rotation. Cette base a été modifiée au laboratoire afin de fixer un échantillon de silicone (circulaire, 2 cm de diamètre) en 6 points à l'aide de plaques triangulaires de laiton vissées sur le mandrin.

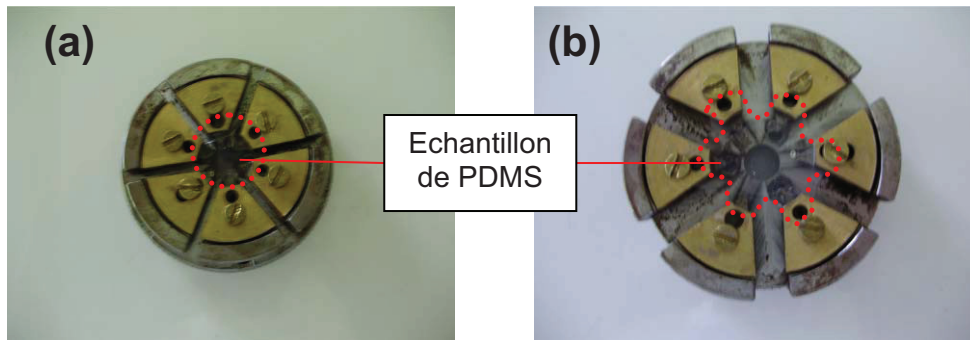


Figure 3.9. Dispositif d'élongation triaxial, vue de dessus. (a) Echantillon à l'état relaxé. (b) Echantillon à l'état étiré

Le dispositif est également équipé d'une cuve permettant de réaliser des réactions de greffage sous étirement, tout en assurant une agitation en plaçant le dispositif sur une table rotative. Le dispositif dont la hauteur est de 2 cm peut être placé sous un microscope optique. Lorsque le dispositif est à l'état étiré, les dimensions latérales sont suffisantes pour réaliser des mesures AFM sur l'échantillon. Il est alors nécessaire de glisser un support rigide (barre métallique) sous l'échantillon afin d'éviter les vibrations. Les mesures d'angle de contact sont également envisageables à l'état étiré, en observant la goutte au niveau de l'espace libre entre deux axes d'élongation.

4 Fonctionnalisation du film polymère plasma

4.1 Réactivité du film : réactions de dérivatisation

4.1.1 Quantification des groupements réactifs par XPS

La réaction d'estérification entre un acide carboxylique et le trifluoroéthanol en présence de pyridine et de Di-tBuC est stœchiométrique (rendement $\sim 100\%$).⁴⁶ Nous avons utilisé cette réaction de dérivatisation afin de déterminer la concentration relative de groupements réactifs au sein du film. En effet, chaque atome de fluor détecté fait partie d'une molécule de trifluoroéthanol ayant réagi avec un groupement anhydride du film polymère plasma. La **Figure 4.1(b)** présente l'enveloppe C(1s) du spectre XPS d'un film polymère plasma après réaction avec le trifluoroéthanol, en phase gazeuse.

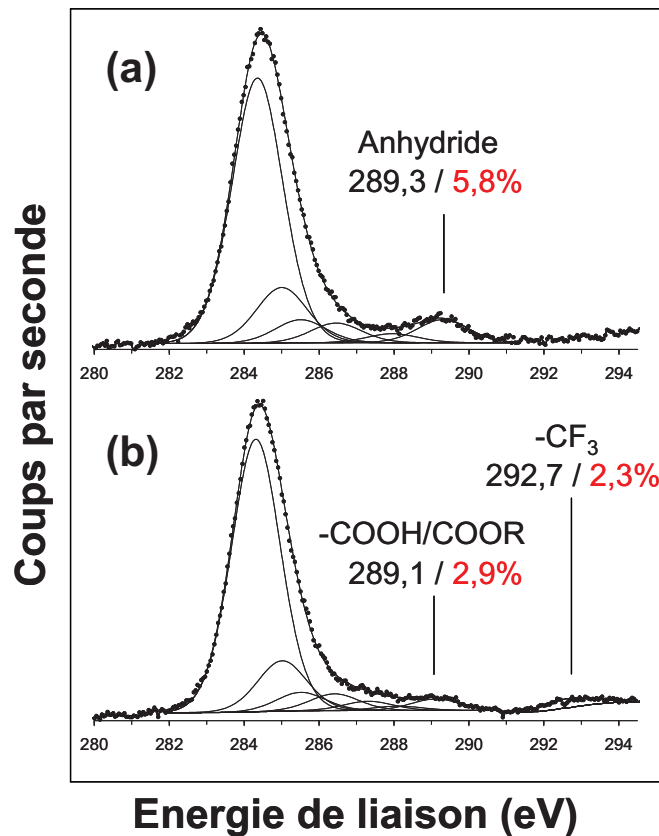


Figure 4.1. Enveloppes C(1s) de l'analyse XPS d'un dépôt (6min) de polymère plasma sur un substrat de PDMS (a) après le dépôt, (b) Après réaction avec le trifluoroéthanol

La réaction entre un acide carboxylique et la molécule de trifluoroéthanol conduit à la formation d'un ester $-C(O)OCH_2CF_3$. La composante C(1s) située à 289,1 eV est attribuée aux esters formés et aux acides carboxyliques n'ayant pas réagi ($-C(O)OCH_2CF_3$ et $-COOH$, respectivement). Le rapport des aires de la composante $-CF_3$ à 292,7 eV et de la composante à 289,1 eV représente la fraction d'acides réactifs. Ce rapport est d'environ 80%, autrement dit plus de la moitié des groupements acides réagissent avec le trifluoroéthanol. En principe, le film polymère plasma est composé d'une majorité de groupements diacide. Ce résultat semble indiquer que les deux acides d'une même molécule de diacide sont réactifs. Une autre possibilité est que le film contienne également une fraction de monoacides réactifs. Il est très difficile de déterminer la fraction relative de diacides et de monoacides dans le film, car lorsque les films sont mis à l'air entre la fin du dépôt et l'analyse XPS (15 à 30 min environ), une partie des groupements anhydride est susceptible de subir la réaction d'hydrolyse. Cependant, l'analyse XPS du film polymère plasma de référence présente une composante principale à 289,3 eV, ce qui confirme que le film contient principalement des groupements anhydride.

Dans tous les cas, cette analyse atteste de la réactivité de la majorité des groupements du film polymère plasma. Remarquons que la réactivité peut être limitée par la diffusion des molécules dans le film ou l'encombrement stérique des groupements acide. Dans ce cas, une analyse XPS à angle variable en fonction du temps de réaction permet d'évaluer la diffusion des molécules dans le film pour une surface peu rugueuse.⁴⁶

Les analyses sont réalisées avec un angle d'incidence de 90°, la profondeur analysée est de l'ordre de 10 nm. Nous avons donc montré que dans cette épaisseur, le traitement du PDMS par polymérisation plasma permet d'introduire environ 6 % des groupements anhydride, dont 80 % sont réactifs. Par ailleurs, la quantité importante de silicium type PDMS détectée indique que l'épaisseur modifiée est inférieure à 10 nm. L'analyse à angle variable n'est pas précise en raison de la rugosité du film. Il est donc très difficile d'estimer l'épaisseur du film ou plus exactement « l'épaisseur modifiée ». Celle-ci est probablement de l'ordre de quelques nanomètres. Bien que cette épaisseur soit très faible, les groupements réactifs, ne sont pas forcément des groupements situés à l'extrême surface (à l'interface surface-air).

4.1.2 Tentative de dosage par colorimétrie

Lorsque l'on s'intéresse à la chimie de surface, la densité absolue de groupements réactifs d'extrême surface (nombre de groupements/nm²) est une donnée très difficile à atteindre dans le cas de systèmes hétérogènes tels qu'un film polymère plasma. Dans cet objectif, la méthode la plus couramment utilisée consiste à faire réagir le film avec une molécule émettant dans l'UV et de réaliser un dosage par colorimétrie. Cette quantification peut être réalisée par désorption du marqueur dans une seconde solution⁴⁷, en analysant la diminution d'absorbance de la solution de marqueur⁴⁸ ou en quantifiant *in situ* la concentration de marqueur liée au polymère.⁴⁹ Cependant, chacune de ces méthodes présente des désavantages. Les méthodes d'adsorption/désorption utilisent souvent les affinités électrostatiques entre le marqueur et les groupements à quantifier, ce qui engendre des problèmes d'adsorption non-spécifique. Il est alors nécessaire de réaliser des tests avec une référence inerte permettant de garantir que la physisorption est négligeable.⁵⁰ Les méthodes quantifiant la diminution de l'absorbance de la solution posent des problèmes de détection car la concentration de groupements réactifs de surface est très inférieure à la concentration de la solution de marqueur. Enfin, ces méthodes sont limitées par le fait qu'elle ne permet pas de distinguer les groupements de surface et de volume. Ainsi, une densité de surface exprimée en nombre de groupements par unité de surface est en fait une densité par unité de volume réactif. Ces méthodes demeurent cependant intéressantes lorsque l'on souhaite comparer les densités de groupements fonctionnels réactifs en fonction des conditions de dépôt.

Dans le cadre de cette étude, nous avons tenté de déterminer la densité surfacique de groupements réactifs en appliquant la méthode de couplage par réaction d'échange thiol-disulfure couramment utilisée pour la modification de protéines (protéomique).⁵¹ Les groupements 2-pyridyldithiol sont facilement clivés au niveau de la liaison S-S par un agent réducteur R'-SH tel que le dithiothreitol (DTT) ce qui conduit à la libération du groupement 2-pyridilthiol. La production de 2-pyridilthiol peut être mesurée par colorimétrie à 343 nm, ce qui permet de suivre la progression d'une réaction de couplage « in situ ».

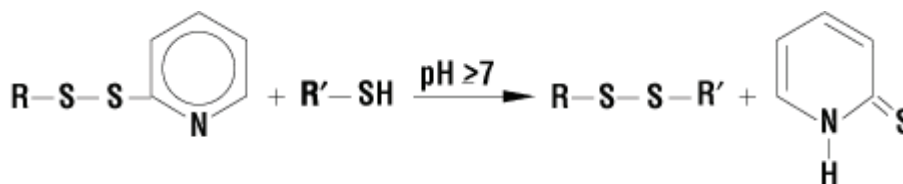


Figure 4.2: Couplage par réaction d'échange thiol-disulfure

Par exemple, cette méthode quantitative a été utilisée par Ghasemi et al⁵² afin de quantifier la densité surfacique de groupements amine sur un film de polyéthylène traité par polymérisation plasma de l'ammoniac. Afin de quantifier la densité « surfacique » de groupements acides réactifs dans le film, nous avons fonctionnalisé le film avec la 2-(2-pyridyldithio)éthylamine. La réaction de couplage entre l'amine et les groupements acide du film est réalisée en phase aqueuse en présence d'EDC/NHS. Après lavage dans le méthanol, les échantillons sont plongés dans une solution de DTT (DTT (25 mM) / NaHCO₃ (0,1 M)) afin de libérer les groupements 2-pyridilthiol émettant dans l'UV à 343 nm. En principe, la concentration de 2-pyridilthiol mesurée par colorimétrie permet de déterminer la densité surfacique de groupements réactifs (en tenant compte de la surface de l'échantillon). Cependant, dans notre cas, cette méthode conduit à des résultats aberrants puisque une densité surfacique de plusieurs centaines de groupements acide carboxylique par nm² est évaluée sur des surfaces de PDMS traitées 6 min par polymérisation plasma (au lieu d'une densité « réaliste » de l'ordre de 1 groupement/nm²). En parallèle, les tests de contrôle réalisés sur des échantillon de PDMS non traités mettent en évidence une importante quantité de 2-(2-pyridyldithio)éthylamine adsorbée non-spécifiquement, et ce malgré une étape de lavage au méthanol qui est un bon solvant pour la 2-(2-pyridyldithio)éthylamine. En effet, cette molécule comporte un cycle aromatique susceptible d'interagir par interaction hydrophobe avec le PDMS. L'adsorption non spécifique de molécules hydrophobes en surface, voire dans le volume du PDMS dans le cas de petites molécules est une propriété mise à profit en chimie analytique pour la microextraction de composés pharmaceutiques à partir de colonnes de chromatographie recouvertes de PDMS.⁵³ Les travaux de Beebe et

al⁵⁴ mettent clairement en évidence ce phénomène, source de problèmes dans certaines applications de microfluidique.

Finalement, le dosage des groupements acide carboxylique n'est pas possible à partir de la 2-(2-pyridyldithio)éthylamine. Une telle analyse nécessiterait l'utilisation d'une molécule ne s'adsorbant pas spécifiquement sur le PDMS ou la mise au point d'un protocole de rinçage avec un solvant approprié. Or, la plupart des molécules émettant dans l'UV sont des molécules cycliques hydrophobes et l'utilisation de solvants organiques pour le lavage de ces molécules peut entraîner la solubilisation du film polymère plasma, ce qui compromet l'analyse quantitative de la densité de groupements réactifs.

4.2 Fonctionnalisation du film par voie gazeuse

4.2.1 Greffage de la propargylamine

Dans le cadre de ces travaux, nous avons mis à profit la grande réactivité de l'anhydride maléique vis-à-vis des amines primaires afin de fonctionnaliser le film polymère plasma avec la propargylamine ($\text{NH}_2\text{CH}_2\text{C}_2\text{H}$). Cette molécule est intéressante car elle possède une fonction amine capable de réagir avec les groupements anhydride du film et une fonction alcyne ($-\text{C}_2\text{H}$) permettant par exemple de fonctionnaliser le film par « chimie click ». Cette réaction entre un alcyne et un azide ($-\text{N}_3$) est catalysée par Cu(I) (voir paragraphe 3.1.4.).

La **Figure 4.3** présente l'analyse XPS d'un substrat de PDMS traité par polymérisation plasma (6 min) puis fonctionnalisé avec la propargylamine en phase gazeuse. L'enveloppe C(1s) du film fonctionnalisé (Figure 4.3 (b)) présente une composante à 288,1 eV attribuée aux groupements amide $-\underline{\text{C}}(\text{O})\text{NHR}$ résultant de la réaction covalente entre la propargylamine et les groupements anhydride. La composante à 289,1 eV correspond aux acides n'ayant pas réagi. Cette composante est faible (1,2 %) comparativement à la composante amide (5,5 %) ce qui indique qu'environ 80 % des groupements anhydride ou acide réagissent avec la propargylamine, ce qui est tout à fait comparable à la réactivité évaluée par la réaction de dérivation du film avec le trifluoroéthanol. L'enveloppe N(1s) présentée Figure 4.3 (b') présente deux composantes à 399,6 eV et 401,5 eV attribuées respectivement aux groupements amide $\text{R}-\underline{\text{N}}\text{H}-\text{C}=\text{O}$ et aux groupements ammonium $-\underline{\text{N}}\text{H}_3^+$ en interaction électrostatique avec les groupements carboxylate après ouverture du cycle anhydride.³⁶

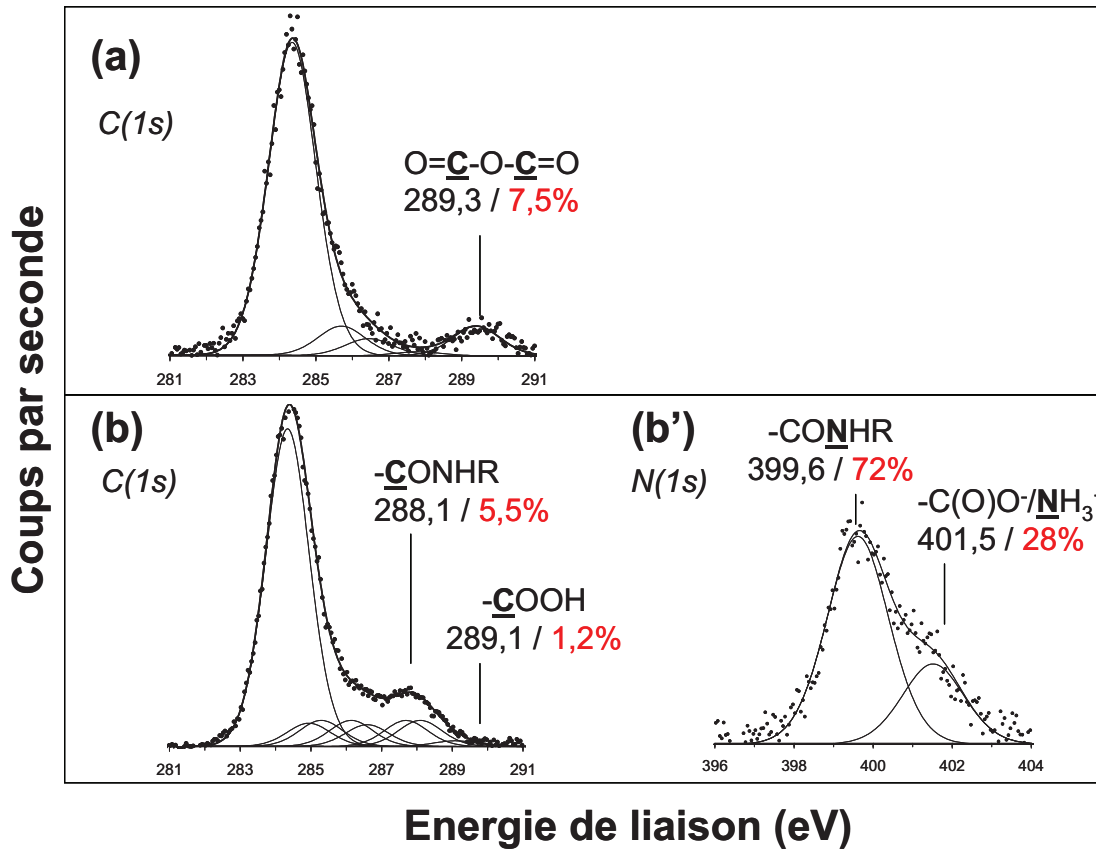


Figure 4.3: Enveloppes C(1s) de l'analyse XPS d'un dépôt (6 min) de polymère plasma sur un substrat de PDMS (a) immédiatement après le dépôt, (b) Après réaction avec la propargylamine en phase gazeuse, (b') Enveloppe N(1s) après réaction avec la propargylamine en phase gazeuse

4.2.2 Réaction de couplage par « click »

La réaction de couplage de molécules à fonctionnalité azide par « click » est testée sur les substrats de PDMS fonctionnalisés avec la propargylamine. Différentes conditions de catalyse par le cuivre sont mises en œuvre. La **Figure 4.4** présente les résultats des analyses de fluorescence réalisées sur les substrats fonctionnalisés par « click » avec un azide marqué $\text{N}_3\text{Peg}_3\text{FITC}$ (FITC, Fluorescéine Isothiocyanate), dans différentes conditions de catalyse par le cuivre, en milieu aqueux. La fluorescence de l'ensemble des substrats fonctionnalisés avec l'azide marqué en présence de cuivre augmente par rapport au contrôle sans cuivre. Ce résultat démontre qu'il est possible de réaliser la réaction de couplage entre une molécule à fonctionnalité azide et les groupements alcyne du film polymère plasma fonctionnalisé par click, en présence de Cu(I)

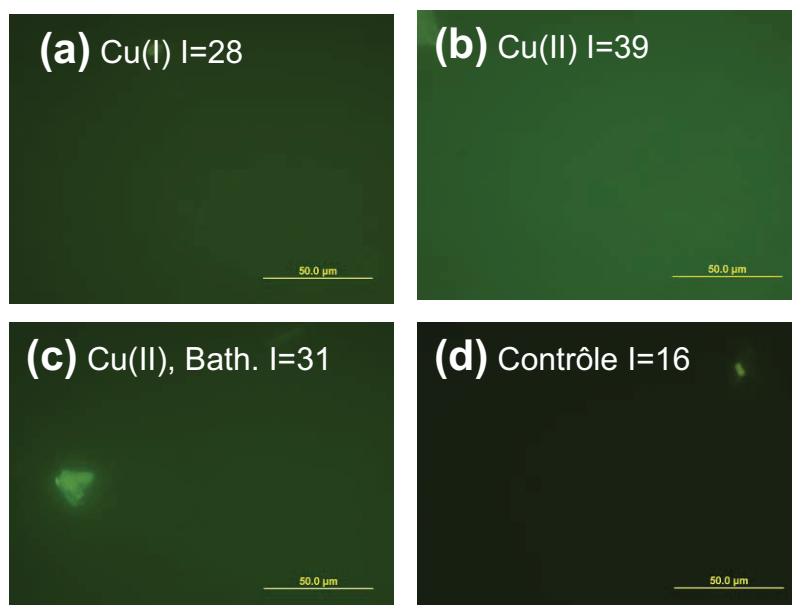


Figure 4.4 : Images de fluorescence du substrat de PDMS traité et fonctionnalisé avec la propargylamine, après réaction de couplage par click avec la molécule N_3Peg_3FITC dans différentes conditions (a) $CuCl$, (b) $CuSO_4/ascorbate$, (c) $CuSO_4/ascorbate/bath.$ (d) Contrôle sans catalyseur

Un azido-Peg $N_3Peg_{2000}OMe$ est également greffé dans les mêmes conditions. Le **Tableau 4.1** présente les résultats des analyses de mouillabilité réalisées sur les substrats de PDMS fonctionnalisés selon différentes conditions de catalyse.

| Conditions | Avancée ($\pm 2^\circ$) | Retrait ($\pm 2^\circ$) |
|--------------------------|---------------------------|---------------------------|
| Contrôle (Sans Cu) | 102 | 17 |
| CuCl | 90 | 36 |
| $CuSO_4/ascorbate$ | 99 | 22 |
| $CuSO_4/ascorbate/Bath.$ | 94 | 25 |

Tableau 4.1 : Angles de contact de l'eau à l'avancée et au retrait mesurés sur les substrats de PDMS traités et fonctionnalisés avec la propargylamine, après réaction de couplage par « click » avec la molécule $N_3Peg_{2000}OMe$ dans différentes conditions de catalyse

Nous observons la variation la plus importante d'angle de contact par rapport au contrôle dans le cas de la réaction réalisée en présence de $CuCl$. L'angle à l'avancée diminue en raison du caractère hydrophile des Pegs qui recouvrent la matrice hydrophobe de PDMS modifié. En parallèle, l'augmentation de l'angle au retrait traduit le fait que la composition de la surface est plus homogène après fonctionnalisation avec les Pegs. Le greffage semble moins efficace en présence de $CuSO_4/ascorbate$, ce qui est probablement lié à la cinétique

de la réaction. L'addition de bathophenanthroline dans le milieu semble augmenter le taux de greffage. Il serait nécessaire de confirmer ces tendances par l'analyse XPS, ce qui n'a pas été réalisé dans le cadre de ces travaux, car la réaction de couplage par EDC/NHS a été privilégiée par rapport à la réaction de couplage par « click ». En effet, la réaction de couplage par « click » demande une étape de fonctionnalisation supplémentaire dans la mesure où il est nécessaire de fonctionnaliser le film avec la propargylamine en phase gazeuse. Le rendement du greffage est alors lié au rendement de l'aminolyse et au rendement de la réaction par « click ». De plus, l'étape d'aminolyse est coûteuse en temps car l'abaissement de la pression dans le réacteur de polymérisation plasma est très lent (longue étape de nettoyage du réacteur) après fonctionnalisation avec la propargylamine, ce qui réduit considérablement le nombre d'échantillons que l'on peut préparer par cette méthode. Une alternative consiste à utiliser une enceinte de réaction sous vide uniquement dédiée à la fonctionnalisation des films en phase gazeuse. Un tel dispositif a récemment été installé au laboratoire.

Dans le cadre de ce travail, nous avons décidé d'exploiter la réaction de couplage par EDC/NHS entre des molécules à fonctionnalité amine et les acides carboxyliques du film. Nous retiendrons cependant que la « click » est une voie potentielle permettant de fonctionnaliser le film polymère plasma d'anhydride maléique.

4.3 Greffage covalent d'amines en phase aqueuse

4.3.1 Mise en évidence de la réaction de couplage par EDC/NHS

Une manière simple et rapide permettant de mettre en évidence la réaction de couplage entre une amine primaire et les acides carboxyliques présents dans le film consiste à fonctionnaliser le film avec une amine marquée avec un groupement fluorescent tel que la FITC. La **Figure 4.5** présente les images de fluorescence de substrats de PDMS traités par polymérisation plasma puis immergés dans une solution de $\text{NH}_2\text{Peg}_3\text{FITC}$ avec et sans agents de couplage. L'échantillon mis en contact avec l'amine marquée en l'absence d'agents de couplage (Figure 4.5(a)) présente un signal d'intensité de fluorescence équivalent à un échantillon de PDMS traité de contrôle, ce qui indique que l'adsorption non spécifique de la FITC est négligeable et que la réaction entre l'amine marquée et les acides carboxyliques du film ne se produit pas en l'absence d'EDC/NHS. En présence des agents de couplage, l'intensité de fluorescence augmente (Figure 4.5(b)) ce qui atteste de la réaction covalente entre les acides carboxyliques du film et l'amine marquée. La Figure 4.5(c) présente l'image de fluorescence d'un échantillon de PDMS recouvert d'un masque sous forme de grille, traité 6 min par polymérisation plasma puis fonctionnalisé avec l'amine marquée en présence d'EDC/NHS. Nous observons un contraste entre les zones traitées par

polymérisation plasma en clair, et les zones non traitées plus sombres, ce qui confirme la sélectivité du greffage.

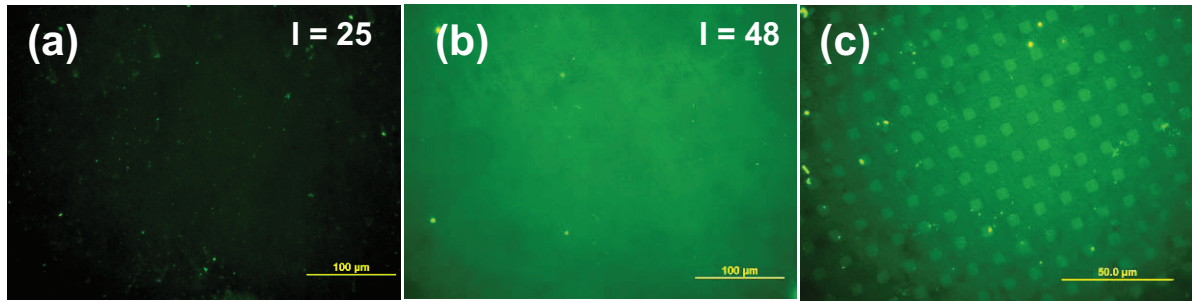


Figure 4.5: Images de fluorescence du substrat de PDMS traités 6 min par polymérisation plasma puis fonctionnalisés avec la molécule $\text{NH}_2\text{Peg}_3\text{FITC}$ (a) En l'absence d'agents de couplage, (b) en présence d'EDC/NHS, (c) en présence d'EDC/NHS, avec un masque lors du traitement plasma. En (a) et (b) le grossissement est de 50x, il est de 250x en (c) ce qui explique les différences de contraste

Nous avons donc montré qu'il est possible de fonctionnaliser le film polymère plasma avec une amine primaire en milieu aqueux en présence d'EDC/NHS. Dans la suite, nous utiliserons cette réaction afin de fonctionnaliser le film avec des amino-Pegs de différentes masses moléculaires ou des amino-biotine. Nous examinerons dans un premier temps des surfaces de silicium fonctionnalisées servant de « surface modèle » avant de nous focaliser sur les substrats de PDMS modifiés.

4.3.2 Analyse préliminaire de substrats de silicium fonctionnalisés

Les substrats de silicium sont modifiés par polymérisation plasma de l'anhydride maléique. Les conditions de dépôt sont identiques à celles appliquées aux substrats de PDMS, mais la durée de dépôt est fixée à 30 min. Après une étape d'hydrolyse, les films sont fonctionnalisés en phase aqueuse avec différentes molécules ou macromolécules en appliquant la réaction de couplage EDC/NHS. Les analyses de surface (XPS et mouillabilité) réalisées à partir de ces surfaces « modèles » nous permettront d'évaluer l'influence de la nature des amines greffées (en particulier leur masse moléculaire) sur le degré de fonctionnalisation des films. En première approximation et de façon qualitative, les tendances observées seront transposables aux substrats de PDMS traités 6 min.

4.3.2.1 Mesure d'angle de contact

Le **Tableau 4.2** présente les valeurs des angles de contact mesurés sur les surfaces de silicium modifiées par polymérisation plasma puis fonctionnalisées avec les amino-Pegs et amino-biotine en milieu aqueux par réaction de couplage EDC/NHS.

| | Avancée (°) (±2°) | Retrait (°) (±2°) | Hystérèse relative (%) |
|-------------------------------------|----------------------|----------------------|---------------------------|
| Pol. Plasma 30 min | 34 | <10 | >59 |
| Peg₅N₃ | 56 | 25 | 53 |
| Peg 750 | 41 | 17 | 58 |
| Peg 2000 | 35 | 20 | 42 |
| Peg 5000 | 38 | 23 | 39 |
| Peg₂biotin | 41 | <10 | >63 |
| Peg₁₂biotin | 54 | <10 | >72 |

Tableau 4.2: Angles de contact à l'avancée et au retrait de l'eau mesurés sur les substrats de silicium traités par polymérisation plasma puis fonctionnalisés avec des amines en phase aqueuse

Les résultats montrent que l'angle de contact statique mesuré sur les surfaces fonctionnalisées augmente comparativement au substrat de référence (polymère plasma 30 min). Ce résultat s'explique par le fait que les groupements acide carboxylique du film polymère plasma sont plus hydrophiles que les fonctionnalités de surfaces apportées par le greffage. En effet, dans le cas des Pegs, l'unité éthylène glycol $-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{O}-$ est moins hydrophile que les groupements acide $-\text{COOH}$. En particulier, les angles de contact augmentent considérablement dans le cas des molécules de petite taille, probablement car celles-ci montrent un taux de greffage plus important, ce qui réduit le nombre de groupements acide hydrophiles de surface. De plus, dans le cas des molécules de faible masse, la nature du groupement terminal peut également influencer l'angle de contact tandis que dans les cas des molécules de masse plus élevée (Pegs 750, 2000 et 5000), l'influence du groupement méthyle terminal devient négligeable par rapport aux groupements éthylène glycol de la chaîne.

Comme nous l'avons mentionné dans le chapitre 2, la mouillabilité nous renseigne également sur l'hétérogénéité chimique de la surface étudiée. Ainsi, à rugosité constante, plus la différence entre l'angle à l'avancé et au retrait est grande (hystérèse relative $H = (\theta_A - \theta_R) / \theta_A$), plus l'hétérogénéité de composition chimique de la surface est importante. De manière générale, on observe des écarts d'angles plus importants pour les greffages de petites molécules (Peg₂biotine, Peg₁₂biotine et $\text{NH}_2\text{Peg}_5\text{N}_3$) que pour les greffages Pegs de taille plus importante (Peg 750, 2000 et 5000). Ce résultat suggère que les Pegs de masse moléculaire élevée ont un taux de recouvrement (surface recouverte par le Peg) plus grand que les molécules de faible masse moléculaire.

4.3.2.2 Analyse XPS

Le **Tableau 4.3** présente la composition atomique des substrats des films fonctionnalisés avec la biotine et les Pegs de masse moléculaire variable.

| | Composition atomique (%) | | | | |
|------------------------------|--------------------------|------|-----|-----|-----|
| | C | O | N | S | Si |
| Pol. Plasma 30 min | 63,2 | 27 | 3,9 | 1 | 4,8 |
| Peg₂biotin | 63,8 | 22,3 | 7,2 | 1,5 | 5,1 |
| Peg 750 | 67,2 | 22,7 | 5,9 | 0,3 | 4 |
| Peg 2000 | 67,2 | 21,6 | 7,8 | 1,4 | 1,9 |
| Peg 5000 | 65,9 | 21,8 | 6,8 | 1,4 | 4,9 |
| Peg 2000/biotine | 67 | 20,7 | 8,9 | 1,4 | 1,8 |
| Peg 5000/biotine | 67,9 | 20,3 | 9,5 | 1,6 | 0,7 |

Tableau 4.3 : Composition atomique résultant de l'analyse XPS des substrats de silicium fonctionnalisés (épaisseur analysée = 10 nm)

L'analyse d'un film polymère plasma de référence mis dans les conditions de greffage (en présence d'EDC/NHS) puis rincé montre ~63% de carbone et ~27 % d'oxygène provenant principalement du film polymère plasma ainsi que des fractions d'azote et de soufre pouvant être attribuées à des molécule d'EDC et de sulfo-NHS non lavées. Cette observation indique que l'étape de rinçage du film alternativement dans une solution de KCl 1 M à pH acide (pH~2) et basique (pH~11) ne permet pas d'éliminer complètement les agents de couplage, présentant des atomes d'azote (EDC (3 at.), sulfo-NHS (1 at.)) et de soufre (sulfo-NHS (1 at.)). L'analyse révèle également la présence de 5 % de silicium. Or, en principe, l'épaisseur du film déposé dans ces conditions est supérieure à la profondeur d'analyse (10 nm). Nous pouvons attribuer cette fraction de silicium à des défauts au niveau de la monocouche de diènes (couche d'accroche du polymère) conduisant, localement, à la délamination du film. Une fraction de silicium pourrait également provenir de traces de PDMS présents dans le réacteur au moment du dépôt. En effet, du silicium type PDMS (Si-C) est généralement détecté sur un dépôt réalisé sur un wafer de silicium en présence de substrats de PDMS dans le réacteur. Ici, les dépôts sont réalisés en l'absence de substrats de PDMS mais il est envisageable que des traces de PDMS soient présentes dans le réacteur malgré l'étape de nettoyage par plasma air précédant l'introduction des échantillons dans le réacteur.

Après leur fonctionnalisation avec des amines, les films présentent une augmentation sensible de la fraction de carbone et une diminution de la fraction d'oxygène. Ces variations sont faibles mais sont en accord avec l'enrichissement de la surface en groupements d'éthylene glycol -CH₂-CH₂-O- présentant un rapport C:O de 2:1. Notons que la fraction de carbone et d'oxygène est également liée à la composition du film polymère plasma car

l'épaisseur modifiée après fonctionnalisation est inférieure à l'épaisseur analysée d'une part, et les molécules ne recouvrent pas l'ensemble de la surface, d'autre part. Nous remarquons également que la fraction d'azote augmente dans le film, ce qui atteste de la modification du film avec les amines.

La **Figure 4.6** présente les spectres XPS C(1s) du film polymère plasma activé de référence et des films fonctionnalisés avec la Peg₂biotine et les Pegs 750, 2000 et 5000.

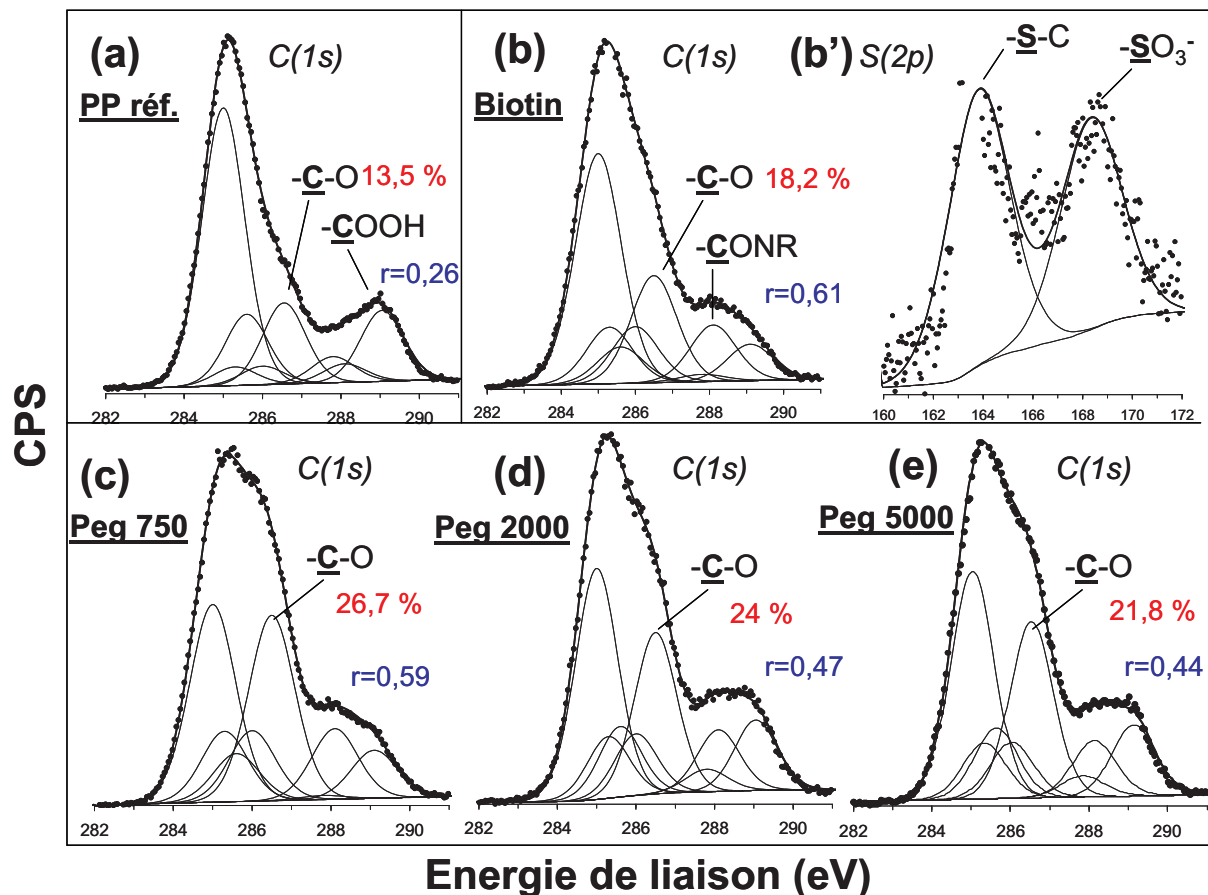


Figure 4.6 : Spectres XPS haute résolution réalisés sur des substrats de silicium traités 30 min par polymérisation plasma puis fonctionnalisés avec des amines en phase aqueuse (a) Film polymère plasma de référence après activation et rinçage ; Films fonctionnalisés (b) et (b') Peg₂biotine, (c) Peg 750, (d) Peg 2000, (e) Peg 5000

Le film polymère plasma de référence (Figure 4.6 (a)) présente une concentration en acide carboxylique ou en ester activé ($\text{-}\underline{\text{C}}\text{-O}$ / $\text{-}\underline{\text{C}}\text{OOH}$ / $\text{-}\underline{\text{C}}\text{OOR}$ $\sim 289,1$ eV) d'environ 12%. Cette fraction est relativement faible comparativement à la concentration caractéristique mesurée sur un film sec, de l'ordre de 25%. Il est probable que les étapes d'hydrolyse, d'activation et de lavage du film entraînent la solubilisation de fragments de chaînes, ce qui a été mis en évidence par Alexander et al⁵⁵ dans le cas de films polymère plasma d'acide acrylique. Une fraction de groupements amide ($\text{-}\underline{\text{C}}\text{ONR}$ $\sim 288,1$ eV) résiduels de l'ordre de 4% est

également détectée dans la composition du film activé. Celle-ci est attribuée au sulfo-NHS (2 amides / molécule) non hydrolysé. Nous voyons qu'en raison de la présence d'agents de couplage dans le film, l'estimation du nombre d'amides formés lors de la réaction entre une amine primaire et les acides carboxyliques du film ne sera que qualitative. La faible différence avec l'énergie de liaison des groupements carbonyl ($\text{-}\underline{\text{C}}=\text{O}$ $\sim 287,8$ eV) du polymère plasma réduit également la précision de cette quantification. Nous pouvons néanmoins estimer la quantité relative de groupements amides au sein du film $r = \frac{\underline{\text{C}}\text{ONR}(\%)}{(-\underline{\text{C}}\text{ONR}(\%)+-\underline{\text{C}}\text{OOH}(\%))}$, ce qui nous permettra de comparer qualitativement le taux de greffage en fonction de la nature des espèces greffées. Le film polymère plasma de référence montre également une importante proportion d'environnements $\text{-}\underline{\text{C}}\text{-O}$ à $\sim 286,6$ eV ($\text{-}\underline{\text{C}}\text{-OH}$ ou $\text{-}\underline{\text{C}}\text{-O-}\underline{\text{C}}\text{-}$), de l'ordre de 13%.

La **Figure 4.6(b)** présente le spectre XPS C(1s) du film fonctionnalisé avec l' amino-Peg₂biotine. L'enveloppe du spectre présente un épaulement situé à $\sim 288,1$ eV attestant de la formation d'amides résultant de la réaction covalente entre les molécules à fonctionnalité amine et les acides carboxyliques du film. De plus, une augmentation de la concentration en environnement de type $\underline{\text{C}}\text{-O}$ à $\sim 286,6$ eV est observée. Elle est attribuée à l'espaceur Peg₂ de la molécule. Le spectre XPS S(2p) du film (Figure 4.6 (b')) montre également la présence d'une composante $\underline{\text{S}}\text{-C}$ à $\sim 163,8$ eV caractéristique de la biotine. L'autre composante située à $\sim 168,5$ eV est attribuée à l'environnement sulfonate $\text{-}\underline{\text{S}}\text{O}_3^-$ du sulfo-NHS. A noter que cette dernière composante est observée sur l'ensemble des films ayant été activés par EDC/NHS tandis que la composante $\underline{\text{S}}\text{-C}$ est uniquement observée dans le cas des films fonctionnalisés avec la biotine. Remarquons que les spectres S(2p) du soufre sont décomposés en première approximation : en réalité, chaque composante du soufre peut être dédoublée en deux composantes $2p_{3/2}$ et $2p_{1/2}$. Dans le cas de la biotine, on devrait donc introduire un total de 4 composantes liées deux à deux. Cependant, la faible résolution des spectres du soufre et la présence probable d'autres composantes liées à la dégradation de liaisons avec le soufre lors de l'analyse ne permettent pas d'obtenir une décomposition précise. Par conséquent les spectres présentés ici montrent uniquement d'un point de vue qualitatif la présence des composantes principales provenant des liaisons $\underline{\text{S}}\text{-C}$ de la biotine et $\text{-}\underline{\text{S}}\text{O}_3^-$ du sulfo-NHS.

En ce qui concerne les films fonctionnalisés avec les Pegs de différentes masses moléculaires, nous observons pour l'ensemble des espèces que la quantité relative d'amides r est augmentée comparativement au film de référence activé. De plus, r diminue avec la masse moléculaire des espèces greffées (Peg 750 $r = 0,59$; Peg 2000 $r = 0,47$; Peg 5000 $r = 0,44$). Cette tendance est attribuée à la diminution de la probabilité de rencontre de la molécule avec un site réactionnel et à l'encombrement des molécules (volume exclu) sur la surface lorsque la taille de la molécule réactive augmente.⁵⁶ Autrement dit, les molécules de

masse moléculaire (rayon de giration) croissante couvrent une fraction plus élevée de la surface du film et réduisent donc le nombre de sites réactionnels disponibles. Les films fonctionnalisés montrent également une concentration plus importante d'environnements -C-O comparativement au film de référence, attestant de l'introduction de chaînes éthylène glycol dans le film. La concentration de ces environnements est estimée à 18,2 % dans le cas de la Peg₂biotine, 26,7% pour le Peg 750, 24 % pour le Peg 2000 et 21,8% dans le cas du Peg 5000. Les différences de concentration en environnements -C-O entre les Pegs 750, 2000 et 5000 sont relativement faibles comparativement aux différences de masse moléculaire. Ces résultats indiquent en première approximation que la diminution du taux de greffage est compensée par le nombre croissant de monomères -CH₂CH₂O- de la molécule à mesure que la masse moléculaire est augmentée. Ainsi, à conditions de greffage égales, nous pouvons considérer que le taux de greffage dépend et est limité par la taille des Pegs. Le taux de recouvrement des Pegs sur la surface dépend alors du rapport entre leur taille et la distance moyenne entre les sites réactifs accessibles. La conformation la plus probable des Pegs sur la surface du film polymère plasma dont la répartition des groupements de surface est aléatoire est une conformation en « champignon ». Bien entendu, le cas réel est bien plus complexe car la distance inter-site n'est pas constante sur un film polymère plasma et on peut également imaginer une structure enchevêtrée dans des zones de forte densité de sites réactifs. Le cas extrême étant alors la structure en « peigne ».

Si le rayon R_F de Flory de la molécule greffée sur la surface est inférieur à la distance moyenne entre deux sites réactifs, le taux de recouvrement n'est pas optimal. En suivant ce raisonnement, si le rayon de giration de la molécule est supérieur à la distance inter-site mais n'est pas un multiple de cette distance, la surface n'est pas totalement recouverte. Lorsque la taille de la molécule est proche de la distance inter-site le taux de recouvrement est optimal. Ce raisonnement simple illustré **Figure 4.7** permet de mieux d'appréhender, en première approximation, l'influence de la densité des groupements réactifs de surface et de la taille des molécules greffées, sur le taux de recouvrement.

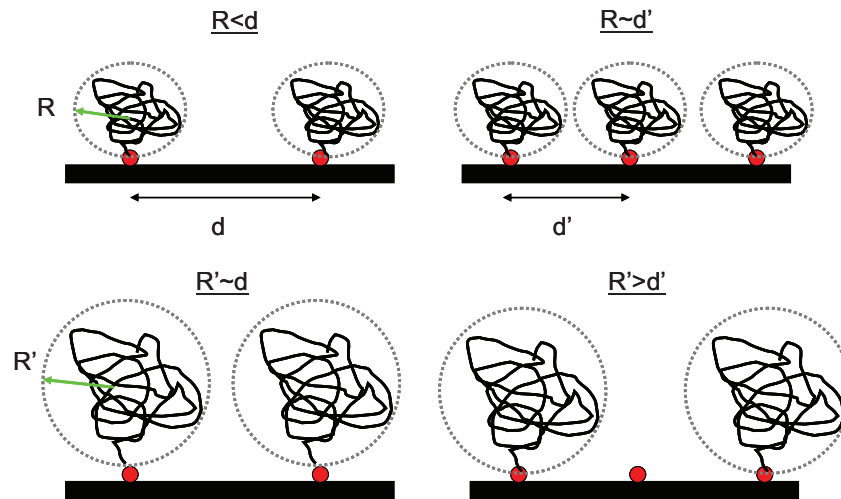


Figure 4.7 : Schéma illustrant l'influence du rayon de giration R des Pegs et de la distance d entre les sites réactifs sur le taux de recouvrement de la surface par les Pegs, dans le cas d'une structure en « champignon »

Si les modèles théoriques⁵⁷ et la simulation moléculaire⁵⁸ permettent d'estimer la conformation et le taux de recouvrement de polymères greffés sur une surface solide modèle, il est difficile d'accéder à ces informations expérimentalement. Dans le cas de Pegs greffés sur un substrat de silicium par silanisation, une méthode utilisant l'XPS consiste à estimer l'épaisseur du film à partir de l'atténuation du signal provenant du substrat de silicium en fonction de l'angle d'incidence.⁵⁹ Une autre approche consiste à estimer l'épaisseur de la couche de Peg par XPS en comparant l'intensité du pic correspondant aux éthers à l'intensité de ce pic pour un échantillon modèle de référence.⁵⁶ A partir de l'épaisseur « sèche » (que l'on peut également déterminer par ellipsométrie⁶⁰ ou par réflexion des rayons X^{61}), connaissant la masse moléculaire et la densité volumique des Pegs, on peut estimer la densité surfacique moyenne (nombre de greffons / unité de surface). Finalement, en comparant la densité surfacique de greffons au rayon de giration des Pegs en phase aqueuse, on accède à une estimation du recouvrement des Pegs sur la surface.

Ce type d'étude est possible à partir de surfaces modèles réalisées à partir de monocouches sur des substrats de silicium, bien que les approximations soient nombreuses, notamment en ce qui concerne la détermination de l'épaisseur du film sec. On comprend bien que sur une surface modifiée par polymérisation plasma, dont la chimie de surface n'est pas aussi bien définie que dans le cas de monocouches, ce type d'analyse devient compliqué et hasardeux. Cependant, les tests d'adsorption de protéines sur la surface fonctionnalisée avec les Pegs représentent un moyen d'évaluer l'efficacité du greffage en termes de recouvrement de surface. Cette analyse sera réalisée dans la partie suivante.

Dans tous les cas, les analyses XPS montrent qu'une importante quantité d'acide carboxylique du film n'a pas réagi lors de la fonctionnalisation avec les Pegs. La majorité de ces groupements est probablement située dans le volume du film, inaccessible pour les polymères de masse moléculaire élevée. Mais une fraction de ces groupements n'ayant pas réagi correspond également à des sites de surface rendus inaccessibles à cause du greffage de Pegs sur des sites adjacents. Si ces sites sont inaccessibles pour des molécules de taille importante, on peut cependant imaginer que des molécules de masse plus faible, moins encombrantes, puissent se greffer au niveau de ces sites. Partant de cette hypothèse, nous avons réalisé des surfaces bi-fonctionnelles en greffant alternativement des Pegs 2000 ou 5000 et la Peg₂biotine, dont la masse moléculaire est de 375 g.mol⁻¹ et dont le volume hydrodynamique est plus faible que celui des Pegs. La **Figure 4.8** présente les spectres XPS correspondant à des films bi-fonctionnels Peg 2000/biotine et Peg5000/biotine.

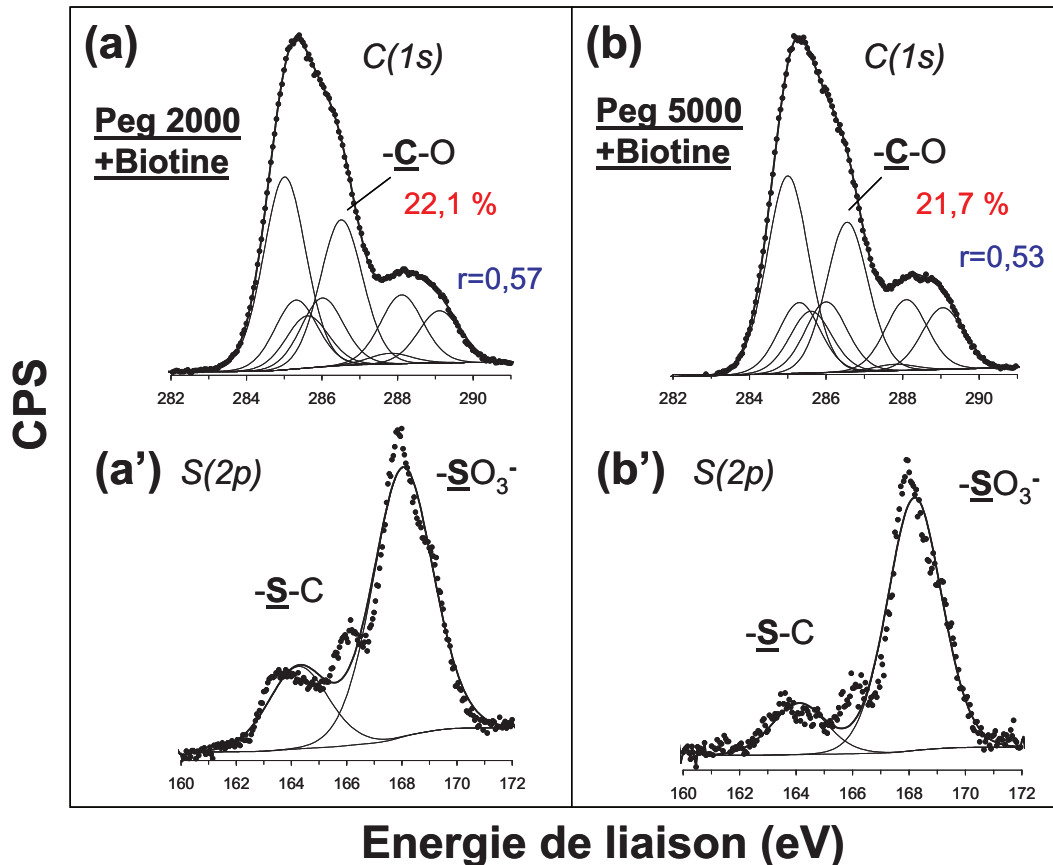


Figure 4.8 : Spectres XPS haute résolution réalisés sur des substrats de silicium traités 30 min par polymérisation plasma puis fonctionnalisés en deux étapes (surfaces « bi-fonctionnelles ») (a) et (a') Peg 2000 / Peg₂biotine, (b) et (b') Peg 5000 / Peg₁₂biotine

Nous observons que sur ces surfaces, la concentration d'environnements C-O, est de l'ordre de 22 % (Figure 4.8 (a) et (b)), ce qui est comparable à la concentration évaluée sur les films monofonctionnels de Pegs (Figure 4.6 (d) et (e)). Cependant, la fraction r d'amides

est augmentée comparativement aux films monofonctionnels de Pegs et l'environnement \underline{S} -C caractéristique de la biotine est détecté (Figure 4.8 (a') et (b')), ce qui atteste du greffage de la Peg₂biotine et du caractère bi-fonctionnel du film.

4.3.2.3 Test d'adsorption de protéines

La Figure 4.9 présente les résultats des tests d'adsorption de protéines sur les surfaces de silicium traitées par polymérisation plasma puis fonctionnalisées avec l'aminoPeg₂biotine, les aminoPegs (750, 2000 et 5000 g.mol⁻¹) ou la combinaison biotine/Pegs (films bi-fonctionnels).

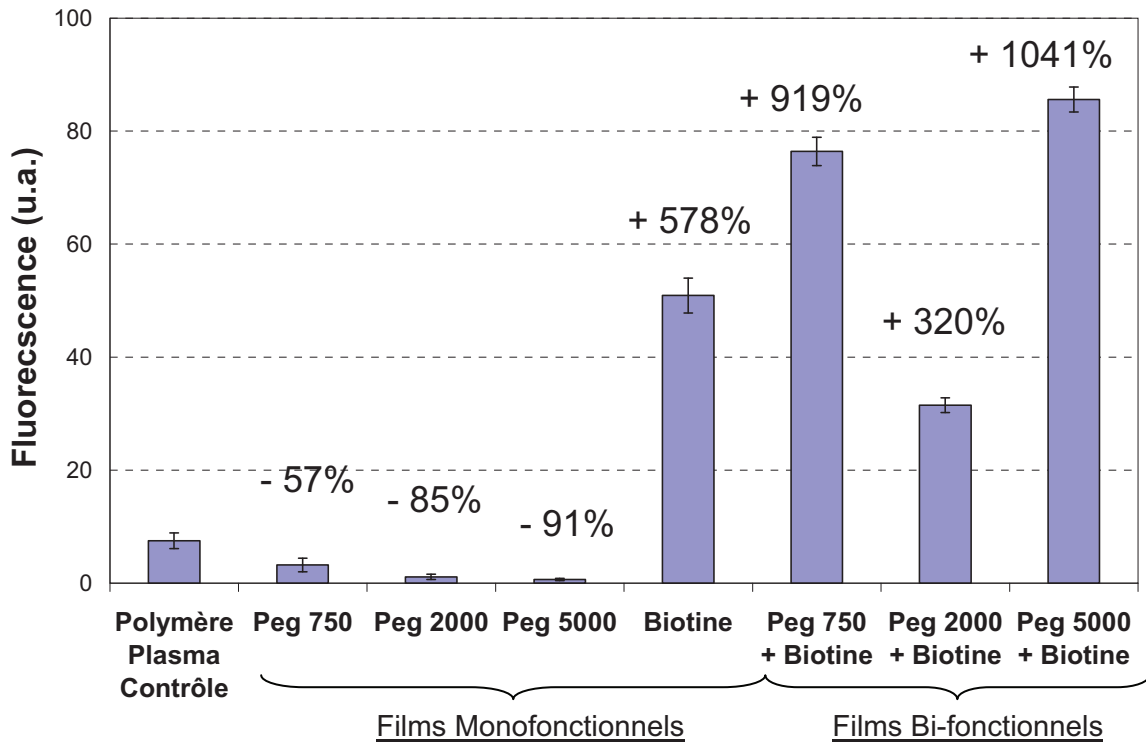


Figure 4.9: Test d'adsorption de la streptavidine par mesure de fluorescence (Marquage rhodamine) sur les surfaces de silicium traitées par polymérisation plasma puis fonctionnalisées avec des amines primaires fonctionnelles. Les variations relatives d'adsorption par rapport au contrôle sont également indiquées (%)

En ce qui concerne les films monofonctionnels, nous observons que le greffage des Pegs permet de diminuer la quantité de streptavidine adsorbée non spécifiquement sur le film polymère plasma. La diminution du signal d'intensité de fluorescence mesurée par rapport au contrôle est maximale dans le cas du Peg 5000 (-91%). Dans le cas du film fonctionnalisé avec la biotine, nous observons une très nette augmentation de la quantité de streptavidine adsorbée par rapport au contrôle (+578%). Cette importante adsorption est liée à la forte affinité de la biotine et de la streptavidine qui interagissent de manière spécifique, tandis que

l'adsorption non spécifique de la streptavidine sur le film polymère plasma est relativement faible. De ce point de vue, le substrat fonctionnalisé avec la biotine constitue un intéressant capteur pour la streptavidine.

Les surfaces bi-fonctionnelles ont été préparées en greffant alternativement les Pegs et la biotine sur le film polymère plasma. Nous remarquons que l'adsorption de la streptavidine sur ces films est considérablement plus importante que sur les substrats uniquement fonctionnalisés avec les Pegs, ce qui indique que l'effet adsorbant de la biotine l'emporte sur les propriétés des Pegs. En d'autres termes, les Pegs ne permettent pas de masquer la biotine. Nous observons cependant des différences notables en fonction de la masse moléculaires des Pegs.

En premier lieu, les systèmes Peg750/biotine et Peg5000/biotine présentent une adsorption très élevée, supérieure à l'adsorption mesurée sur un film monofonctionnel de biotine. Ce résultat peut paraître surprenant de prime abord car on s'attendrait à ce que la quantité de streptavidine adsorbée soit proportionnelle à la quantité de biotine greffée sur la surface. Or en principe, les films bi-fonctionnels contiennent moins de biotine. Ce résultat peut s'expliquer par le fait que dans le cas du film monofonctionnel de biotine, l'adsorption de la protéine sur la surface ne serait pas limitée par la quantité de biotine de surface mais par les interactions répulsives entre les protéines adjacentes. Dans le cas des surfaces bi-fonctionnelles, la présence des Pegs de part et d'autre des sites spécifiques pourrait écranter ces interactions et permettre d'augmenter la quantité relative de protéines adsorbées sur la surface. Une tendance similaire a été mise en évidence par Knoll et al⁶² sur des systèmes mixtes hydroxythiol/biotinethiol de monocouches autoassemblées. Ces travaux montrent que la dilution surfacique de la biotine permet d'augmenter la quantité de streptavidine spécifiquement adsorbée.

En second lieu, les films bi-fonctionnels Peg2000/biotine montrent un taux d'adsorption inférieur aux systèmes Peg750/biotine, Peg5000/biotine ou biotine seule. Dans l'hypothèse que la quantité de biotine dans un film Peg 5000/biotine est supérieure à la quantité de Biotine dans un film Peg 2000/biotine (hypothèse vérifiée qualitativement en comparant les taux de greffage Γ déterminés par XPS (Figure 4.6 et Figure 4.8)), ces résultats semblent indiquer qu'une partie de la biotine présente dans le film Peg2000/biotine n'est pas accessible pour la streptavidine. Aussi, dans les conditions de ce système, en première approximation, le Peg 2000 semble correspondre au meilleur compromis entre la taille du Peg et la densité de groupements réactifs de surface permettant de rendre une partie des sites spécifiques de biotine inaccessibles.

4.3.3 Fonctionnalisation des substrats de PDMS traités 6 min

Les substrats de PDMS traités 6 min par polymérisation plasma puis hydrolysés ont été fonctionnalisés avec les amino-Pegs et l'Amino-Peg₂-botine en milieux aqueux en présence d'EDC/NHS. Les surfaces fonctionnalisées ont été caractérisées par angle de contact et XPS.

4.3.3.1 Mesure d'angle de contact

Le **Tableau 4.4** présente mesures d'angle de contact de l'eau réalisées sur les substrats de PDMS traités 6 min par polymérisation plasma puis fonctionnalisés avec différentes molécules à fonctionnalité amine.

| | Avancée (±2°) | Retrait (°) (±2°) | Hystérèse relative (%) |
|---------------------------------------|--------------------------|------------------------------|-----------------------------------|
| Pol. Plasma 6 min (activé) | 100 | 15 | 85 |
| Peg₅N₃ | 95 | 20 | 79 |
| Peg 750 | 92 | 17 | 81 |
| Peg 2000 | 83 | 33 | 60 |
| Peg 5000 | 85 | 35 | 59 |
| Peg₂botine | 94 | 18 | 81 |

Tableau 4.4 : Angles de contact à l'avancée et au retrait de l'eau sur les PDMS traités 6 min par polymérisation plasma puis fonctionnalisés avec des molécules ou macromolécules à fonctionnalité amine

Pour l'ensemble des substrats fonctionnalisés, les angles de contact à l'avancée de l'eau sont plus faibles comparativement à la référence (PDMS traité 6 min puis activé par EDC/NHS et rincé), tandis que les angles au retrait sont plus élevés. Les variations les plus significatives sont observées sur les surfaces fonctionnalisées avec les Pegs 2000 et les Pegs 5000. Concernant les variations d'angle à l'avancée, les tendances observées vont dans le sens opposé comparativement aux tendances observées sur les surfaces de silicium traitées 30 min par polymérisation plasma puis fonctionnalisées avec les Pegs. En effet, nous avons vu que les angles de contact à l'avancé mesurés sur ces surfaces augmentent légèrement par rapport à la référence, car les unités $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O}-$ sont moins hydrophiles que les groupements $-\text{COOH}$. Dans le cas des substrats de PDMS traités 6 min, la surface est hétérogène. Elle se compose de fractions de polymère plasma riches en groupements acide dans une matrice de PDMS modifié, hydrophobe. Aussi le greffage des Pegs conduit au recouvrement de fractions hydrophobes du substrat, ce qui explique la diminution de l'angle de contact à l'avancée (Figure 4.10). En parallèle, les angles au retrait augmentent par

rapport à la référence et l'hystérèse relative de mouillage décroît, ce qui indique également que la composition de la surface est plus homogène.

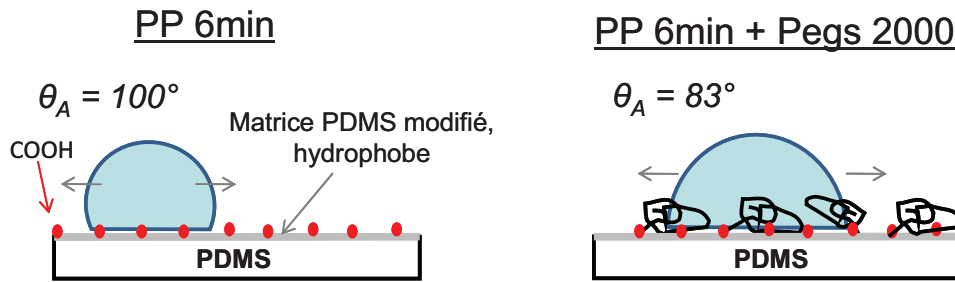


Figure 4.10 : Schéma présentant la composition chimique de la surface « vue » par la goutte d'eau lors de la mesure d'angle de contact à l'avancée, dans le cas d'un substrat de PDMS traité 6 min puis fonctionnalisé avec des Pegs de masse moléculaire élevée (2000 et 5000)

Dans le cas des molécules de masse moléculaire plus faible (Peg₂biotin, Peg₅N₃, Peg 750), les variations d'angle de contact sont plus faibles, probablement car le recouvrement des molécules sur la surface est plus faible mais également à cause de l'influence des groupements terminaux relativement hydrophobes.

4.3.3.2 Analyse XPS

Le **Tableau 4.5** présente les compositions atomiques des substrats de PDMS fonctionnalisés avec les différentes amines.

| Composition Atomique (%) | | | | |
|-------------------------------------|------|------|------|-----|
| | % C | % O | % Si | % N |
| PDMS | 43,8 | 21,6 | 34,6 | - |
| PP6min activé | 55,7 | 23,7 | 19,4 | 1,2 |
| Peg₅N₃ | 54,1 | 18,1 | 19,7 | 8 |
| Peg₂biotine | 54,2 | 20,9 | 21,2 | 3,6 |
| Peg 750 | 51,8 | 23,4 | 24 | 0,7 |
| Peg 2000 | 55,1 | 23,1 | 18,6 | 3,1 |
| Peg 5000 | 56,4 | 23,7 | 19,7 | - |

Tableau 4.5 : Composition atomique résultant de l'analyse XPS des substrats de PDMS fonctionnalisés (épaisseur analysée = 10 nm)

Pour l'ensemble des surfaces fonctionnalisées, les compositions en carbone, oxygène et silicium ne varient pas significativement par rapport à la référence (PDMS traité 6 min, activé par EDC/NHS puis rincé) en raison de la faible épaisseur modifiée et des similitudes entre les compositions atomiques du polymère plasma et des molécules greffées (principalement

du carbone et de l'oxygène). Comme nous l'avons observé précédemment sur les surfaces de silicium, le film activé de référence présente une fraction d'azote provenant des agents de couplage non rincés, probablement du NHS lié aux acides carboxyliques. Dans le cas du film fonctionnalisé avec l'azide, la fraction d'azote dans le film augmente significativement par rapport à la référence, en raison de l'importante fraction d'azote de la molécule (4 atomes / molécule). Sur l'ensemble des substrats de PDMS modifiés, le soufre n'est pas détecté alors que celui-ci avait été détecté sur les surfaces de silicium et attribué soit à la biotine soit au sulfo-NHS. Le soufre est un atome peu sensible en XPS et probablement la fraction de soufre du film est inférieure à la limite de détection de l'analyse.

Davantage d'informations peuvent être tirées de l'analyse des spectres haute résolution C(1s) du carbone, présentés **Figure 4.11**.

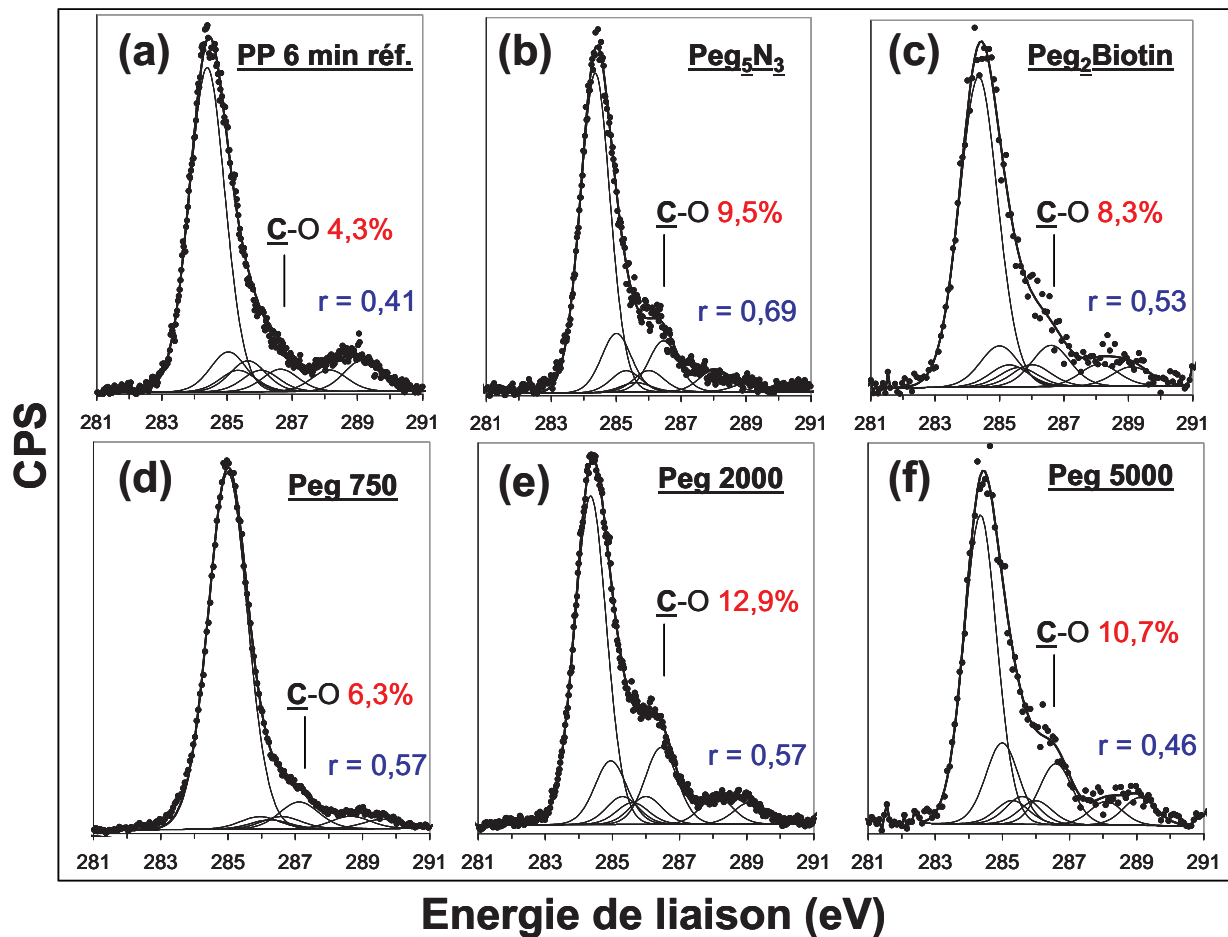


Figure 4.11 : Spectres XPS C1(s) haute résolution réalisés sur des substrats de PDMS traités 6 min par polymérisation plasma puis fonctionnalisés avec des amines en phase aqueuse (a) Film polymère plasma de référence après activation et rinçage ; Films fonctionnalisés (b) Peg₅N₃, (c) Peg₂biotine, (d) Peg 750, (e) Peg 2000, (f) Peg 5000

En appliquant la même approche que celle utilisée précédemment pour l'analyse des films déposés sur les surfaces de silicium, nous pouvons évaluer la fraction relative r d'amides et la concentration des environnements \underline{C} -O au sein des films fonctionnalisés. Remarquons cependant que dans le cas des substrats de PDMS fonctionnalisés, l'analyse XPS dont la résolution est de l'ordre de 0,2-0,3 eV ne nous permet pas de différencier les environnements de types $\underline{C}=\text{O}$ / $\text{O}-\underline{C}-\text{O}$ du polymère plasma des environnements $\text{C}(\text{O})\text{NR}$ correspondant aux amides. Par conséquent, la fraction relative d'amides r est largement surévaluée mais peut néanmoins être exploitée qualitativement. Ainsi, nous observons que la fraction relative d'amides dépend de la nature de l'amine greffée. Cette fraction diminue lorsque la masse moléculaire de l'amine augmente. r est maximal dans le cas de l'azide et minimal dans le cas du Peg 5000. Cette tendance a déjà été observée précédemment sur les surfaces de silicium fonctionnalisées. En parallèle, la concentration des environnements \underline{C} -O est maximale au sein du film fonctionnalisé avec le Peg 2000 (12,9%) et minimale dans le cas du Peg 750 (6,3%). Les tests d'adsorption de protéines nous permettront de vérifier si ces différences sont corrélées au caractère non-adsorbant des surfaces.

Le **Tableau 4.6** présente les différentes composantes obtenues à partir de la décomposition des spectres XPS haute résolution des substrats de PDMS fonctionnalisés.

| Composantes | | PP 6 min activé | | PP6min/ Peg ₅ N ₃ | | PP6min/ Peg ₂ biotin | | PP6min/ Peg 750 | | PP6min/ Peg 2000 | | PP6min/ Peg 5000 | |
|---------------|--|-----------------|-------|---|-------|---------------------------------|-------|-----------------|-------|------------------|-------|------------------|-------|
| | | E.L. (eV) | % At. | E.L. (eV) | % At. | E.L. (eV) | % At. | E.L. (eV) | % At. | E.L. (eV) | % At. | E.L. (eV) | % At. |
| C(1s) | <u>C</u> -Si | 284,3 | 63,2 | 284,3 | 61,9 | 284,3 | 62,4 | 284,3 | 81,2 | 284, | 55,1 | 284,3 | 53,4 |
| | <u>C</u> -C | 285 | 7,8 | 285 | 12,1 | 285 | 8,2 | - | - | 285 | 10,7 | 285 | 14,1 |
| | <u>C</u> -C(O)NR | 285,3 | 4,2 | 285,3 | 4,1 | 285,3 | 4,4 | 285,3 | 2,8 | 285,3 | 4,7 | 285,3 | 4,1 |
| | <u>C</u> -C(O)=O | 285,6 | 6 | 285,6 | 1,9 | 285,6 | 3,9 | 285,6 | 2,1 | 285,6 | 3,6 | 285,6 | 4,8 |
| | <u>C</u> -N | 286,1 | 4,2 | 286,1 | 4,2 | 286 | 4,4 | 286 | 2,8 | 286 | 4,7 | 286 | 4,1 |
| | <u>C</u> -O | 286,6 | 4,3 | 286,5 | 9,5 | 286,6 | 8,3 | 286,5 | 6,2 | 286,5 | 12,9 | 286,6 | 10,7 |
| | O- <u>C</u> -O/- <u>C</u> =O/ <u>C</u> (O)NR | 288,1 | 4,2 | 288 | 4,2 | 288,1 | 4,4 | 288 | 2,8 | 288,1 | 4,7 | 288,1 | 4,1 |
| | O= <u>C</u> -O- <u>C</u> =O / RO- <u>C</u> =O | 289,1 | 6 | 289,1 | 1,9 | 289,1 | 3,9 | 289 | 2,1 | 289,1 | 3,6 | 289,1 | 4,8 |
| O(1s) | RNC= <u>O</u> | 530,1 | 2,7 | 530,4 | 6,4 | 530,7 | 6,5 | 530,5 | 6,9 | 530,4 | 4,6 | 530,3 | 4,8 |
| | Si- <u>O</u> -Si / <u>O</u> =C-O-C= <u>O</u> | 531,9 | 86,5 | 531,9 | 89,8 | 531,8 | 82,3 | 531,9 | 5,2 | 531,9 | 87,2 | 532 | 84,4 |
| | O=C- <u>O</u> -C=O / RO- <u>C</u> =O | 533,8 | 10,7 | 533,4 | 2,5 | 533,3 | 11,2 | 533,5 | 87,9 | 533,3 | 8,3 | 533,5 | 10,9 |
| Si(2p) | <u>Si</u> -O- <u>Si</u> (PDMS) | 101,9 | 93,6 | 101,7 | 55,2 | 101,7 | 53,6 | 101,9 | 96,8 | 101,8 | 67,7 | 101,7 | 65,8 |
| | <u>Si</u> (O _x) 2<x<4 | 102,6 | 4,8 | 102,3 | 41,4 | 102,2 | 44,3 | - | - | 102,4 | 32,3 | 102,5 | 34,2 |
| | <u>Si</u> -O ₂ (silice) | 104,2 | 1,5 | 103,4 | 3,3 | 103,9 | 2,1 | 103,7 | 3,2 | - | - | - | - |
| N(1s) | C(O) <u>N</u> R | 399,8 | 62,4 | 400 | 76 | 399,9 | 81,2 | 399,4 | 79,2 | 399,9 | 75,1 | - | - |
| | <u>N</u> H ₃ ⁺ / O <u>N</u> (C=OR) ₂ | 401,7 | 37,6 | - | - | 402,7 | 18,8 | 401,8 | 20,8 | 402,4 | 24,9 | - | - |
| | -N ₃ | - | - | 404,4 | 24 | - | - | - | - | - | - | - | - |

Tableau 4.6 : Résultat de la décomposition des enveloppes C(1s), O(1s), Si(2p) et N(1s) des spectres XPS haute résolution réalisés sur les substrats de PDMS fonctionnalisés avec différentes amines

En considérant les composantes du silicium, uniquement liées aux fractions de PDMS modifiées et non modifiées, nous observons que la concentration des environnements Si(O_x) à ~102,4±0,2 eV attribués au PDMS partiellement oxydé (« modifié ») augmente significativement sur les substrats fonctionnalisés comparativement au substrat de référence. Or les conditions de fonctionnalisation des films en milieu aqueux ne conduisent pas à

l'oxydation du PDMS. Cet effet est attribué à l'augmentation d'épaisseur et au recouvrement latéral de la surface résultant de la fonctionnalisation du film polymère plasma, comme le montre la **Figure 4.12**.

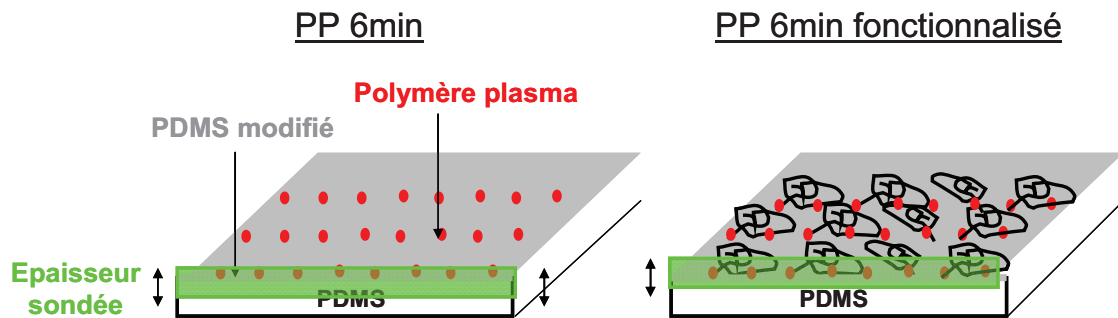


Figure 4.12 : Schéma décrivant les différentes interfaces analysées par XPS sur un substrat de PDMS traité 6 min par polymérisation plasma puis fonctionnalisées

A profondeur d'analyse constante (~ 10 nm), la proportion de PDMS non modifié (à $\sim 531,9 \pm 0,2$ eV) sondée est plus importante dans le cas du substrat uniquement traité par polymérisation plasma. Notons que par souci de simplification, la Figure 4.12 présente une couche de PDMS « modifié » continue. En réalité, il est possible que cette couche soit discontinue et dans cette hypothèse, la fonctionnalisation du film conduit au recouvrement de zones de PDMS non modifiées. Cet effet s'additionne à la modification d'épaisseur apportée par la fonctionnalisation. La valeur absolue de la variation d'épaisseur nous est inconnue dans les conditions d'ultra-vide de l'XPS et celle-ci dépend de la taille des molécules greffées. Les modifications sont probablement nanométriques, mais l'effet est clairement observé car l'épaisseur de l'interface de PDMS modifiée est du même ordre de grandeur.

Enfin, l'analyse du spectre de l'enveloppe de l'azote montre la présence de composantes correspondant aux amides à ~ 400 eV, aux amines protonées NH_3^+ ou aux environnements $\text{ON}(\text{C}=\text{OR})_2$ du NHS à ~ 402 eV. Dans le cas de l'azide, une composante est détectée à $\sim 404,4$ eV. Cette composante a également été détectée par Collmann et al.⁶³ et à été attribuée à l'azote central qui est déficient en électrons.

5 Adsorption de protéines dépendant de l'élongation

5.1 Elongation uni-axiale

5.1.1 Tests d'adsorption de l'avidine

5.1.1.1 Films monofonctionnels

La **Figure 5.1** présente les résultats des tests d'adsorption de l'avidine réalisés sur les substrats de PDMS traités 6 min par polymérisation plasma puis fonctionnalisés avec des amines en milieux aqueux.

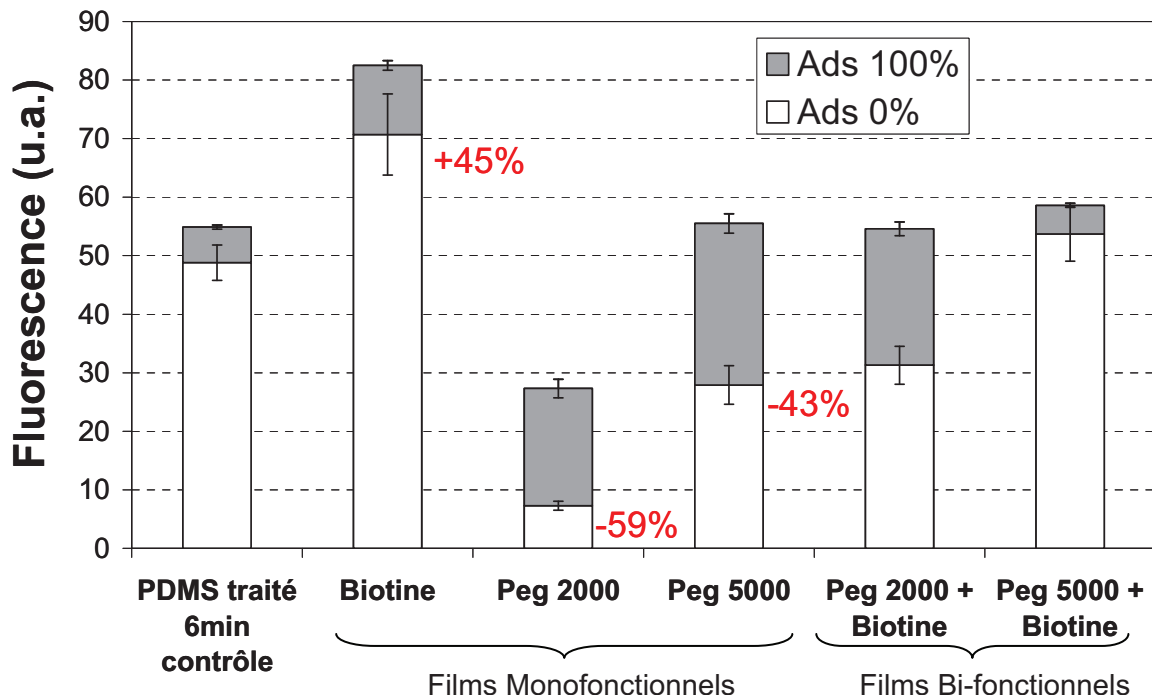


Figure 5.1 : Test d'adsorption de l'avidine par mesure de fluorescence (marquage FITC) sur les substrats de PDMS traités 6 min par polymérisation plasma puis fonctionnalisés. Les histogrammes représentent l'adsorption du substrat relaxé (0% Ads) et l'adsorption supplémentaire sous étirement uniaxial pour un taux d'allongement de 100% (100% Ads). La variation relative d'adsorption à l'état relaxé par rapport au contrôle est également indiquée en % dans le cas des films monofonctionnels

La surface de « contrôle » correspond au PDMS traité 6 min puis hydrolysé. Dans le cas de l'adsorption de l'avidine sur les films monofonctionnels à l'état relaxé, nous observons que l'adsorption relative sur le substrat fonctionnalisé avec la biotine augmente d'environ 45% par rapport au contrôle, tandis que les films fonctionnalisés avec les Pegs 2000 et 5000 montrent une diminution de l'adsorption relative de l'ordre 59% et 43%, respectivement. Ces résultats sont en accord avec la tendance observée précédemment sur les surfaces de silicium. La biotine permet d'augmenter l'adsorption par rapport au contrôle en raison des interactions spécifiques avec la protéine, tandis que le greffage des Pegs diminue l'adsorption non spécifique de la protéine sur le substrat. Nous notons également que les Pegs 2000 conduisent à une diminution plus importante que les Pegs 5000, ce qui suggère que leur taux de recouvrement sur la surface est plus important. Cette observation est en accord avec les tendances mises en évidence par les analyses de mouillabilité et d'XPS.

L'adsorption supplémentaire mesurée sous élancement (Ads. 100%) est très faible dans le cas du PDMS traité de contrôle. Nous avons montré dans le chapitre 3 que l'élancement du substrat de PDMS traité 6 min conduit à la dilution des groupements acide du plasma (mouillabilité) et à la contribution des propriétés viscoélastiques du PDMS (AFM). Or l'adsorption relative de l'avidine sur le substrat de PDMS non traité ((Fluorescence ~ 70 u.a.) est plus importante que sur le substrat de PDMS traité 6 min (Fluorescence ~ 50 u.a.), probablement en raison des interactions hydrophobes entre la protéine et le PDMS. Ainsi, la légère augmentation d'adsorption observée sous élancement peut être attribuée à la contribution de zones hydrophobes de PDMS. Le substrat fonctionnalisé avec la biotine montre également une légère augmentation de l'adsorption sous étirement, ce qui peut être attribué à la contribution du PDMS d'une part, et à une augmentation de l'accessibilité de certains sites spécifiques d'autre part. Les variations les plus importantes sous élancement sont observées sur les substrats fonctionnalisés avec les Pegs 2000 et 5000. Dans le cas du Peg 2000, l'adsorption additionnelle sous élancement est plus importante que l'adsorption à l'état relaxé tandis que dans le cas du Peg 5000 l'adsorption sous élancement est du même ordre de grandeur que l'adsorption initiale. Ces résultats montrent que les surfaces fonctionnalisées avec les Pegs ne conservent pas leur caractère non-adsorbant sous élancement. Ce phénomène est attribué à la dilution des Pegs et à la contribution du substrat de PDMS traité sous élancement, comme l'illustre la Figure 5.2.

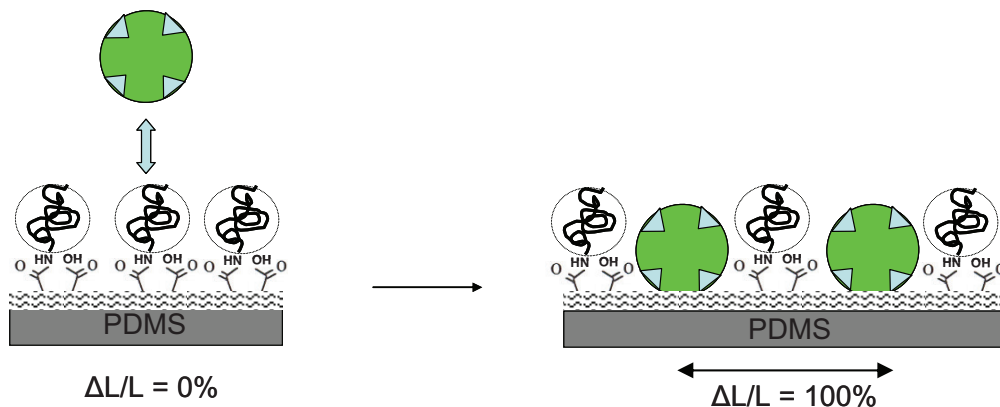


Figure 5.2 : Schéma illustrant l'adsorption de protéines dépendant de l'élancement sur un substrat de PDMS traité 6 min par polymérisation plasma puis fonctionnalisé avec des Pegs

En première approximation, en considérant le rayon de la protéine (environ 5 nm) ces résultats indiquent que l'élancement du substrat permet de promouvoir l'accessibilité de zones non couvertes par les Pegs, dont la dimension est au moins de l'ordre de quelques nanomètres. On peut alors considérer deux cas extrêmes illustrés par la **Figure 5.3**.

- Des zones riches en Pegs (« patches ») s'éloignent les uns des autres pour libérer des espaces accessibles pour la protéine.

- Des greffons de Pegs s'écartent les uns des autres pour libérer des espaces accessibles pour la protéine.

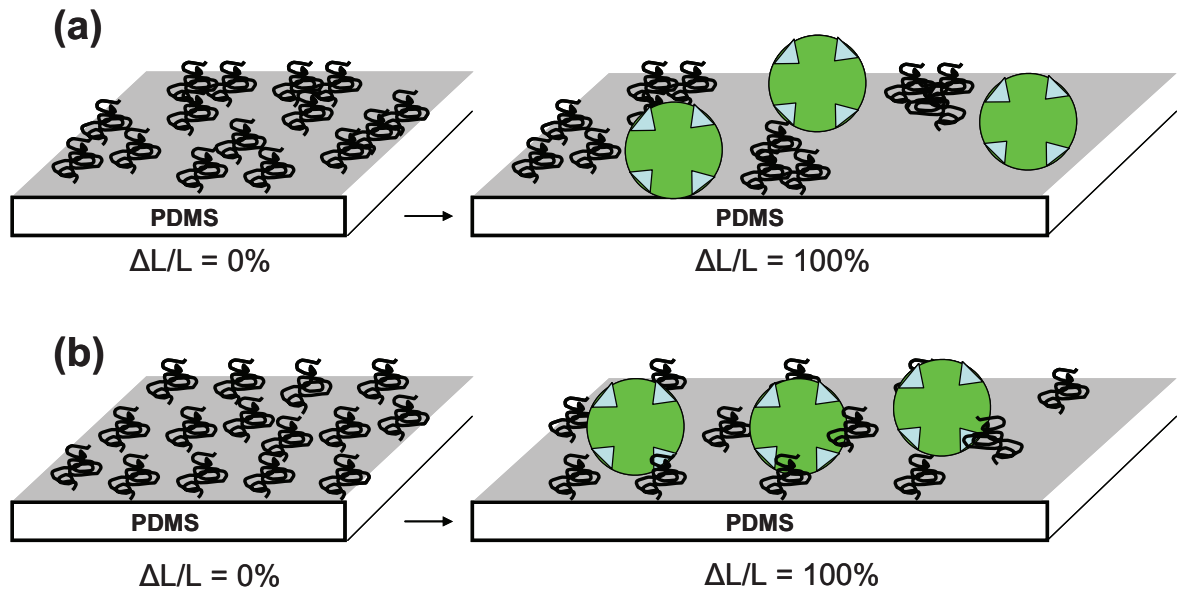


Figure 5.3 : Schéma illustrant deux modes de répartition et de dilution probables des Pegs sur la surface (a) Répartition et dilution par « patches », (b) Répartition et dilution homogènes

Le cas réel correspond probablement à un cas intermédiaire de ces deux cas limites. Remarquons enfin que dans ces modèles, c'est la distribution initiale des greffons sur la surface à l'état relaxé qui gouverne la distribution des greffons à l'état étiré, dans l'hypothèse d'une élongation homogène du substrat à l'échelle locale. Or la présence de charges de silice dans le PDMS (voir chapitre 2, effet Mullins) et la sur-réticulation partielle de la surface lors du traitement peuvent être à l'origine d'hétérogénéités locales au niveau de l'élongation du substrat, ce qui constitue un paramètre supplémentaire pouvant affecter le comportement du système sous élongation.

5.1.1.2 Films bi-fonctionnels

Les films bi-fonctionnels ont été réalisés en greffant successivement les Pegs 2000 ou 5000 puis la biotine. L'hypothèse sous-jacente à cette méthode est qu'en raison de leur taille, les Pegs ne satureront pas l'ensemble des groupements réactifs de la surface, qui demeurent des sites réactifs pour des molécules de dimensions plus faibles, telle que la biotine. Les résultats des tests d'adsorption de l'avidine sur les surfaces bi-fonctionnelles sont présentés sur la **Figure 5.1**. Nous observons en premier lieu que les systèmes Peg 2000/biotine et Peg 5000/biotine à l'état relaxé présentent une adsorption plus élevée que les films monofonctionnels Peg2000 et Peg5000. Ce résultat suggère qu'au moins une partie des sites spécifiques de biotine est accessible pour la protéine avant l'élongation du substrat.

Dans le cas du système Peg2000/biotine, l'adsorption supplémentaire sous élongation est du même ordre de grandeur que l'adsorption à l'état relaxé. Cependant, l'adsorption sous élongation est comparable à l'adsorption (non-spécifique) mesurée sur la surface monofonctionnelle de Peg2000 ce qui ne permet pas de déterminer si cette adsorption supplémentaire promue par l'élongation est spécifique ou non-spécifique. Dans le cas du système Peg5000/biotine l'adsorption sous élongation est très faible devant l'adsorption à l'état relaxé, ce qui indique que tous les sites spécifiques de biotine sont accessibles avant étirement sur ce système.

L'ensemble de ces résultats montre que les Pegs permettent de diminuer l'adsorption non spécifique de l'avidine sur le substrat à l'état relaxé d'une part, mais que le masquage de la biotine à l'état relaxé n'est pas assuré dans le cas des surfaces bi-fonctionnelles d'autre part. Ce comportement suggère que la force d'interaction entre la biotine et la streptavidine prédomine sur l'encombrement stérique des Pegs. Autrement dit, la densité surfacique de Pegs au niveau de l'environnement des sites de biotine n'est pas suffisante. Une solution potentielle consiste à greffer la biotine sur les surfaces fonctionnalisées avec les Pegs à l'état étiré, afin de greffer la biotine au niveau de sites inaccessibles à l'état relaxé. La **Figure 5.4** présente les résultats des tests d'adsorption de l'avidine sur les films Peg2000/biotine, où la Biotine est greffée à différents taux d'élongation du substrat.

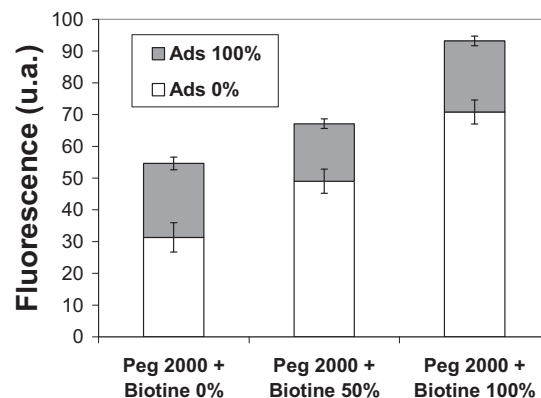


Figure 5.4 : Test d'adsorption de l'avidine sur les films bi-fonctionnels. Les Pegs 2000 sont préalablement greffés sur les substrats à l'état relaxé puis la biotine est greffée à différents taux d'allongement

Les résultats montrent que le greffage de la biotine sous étirement permet d'augmenter la quantité relative de protéines adsorbées sur les films bi-fonctionnels, ce qui suggère que l'élongation permet de greffer davantage de biotine sur le substrat. Cependant, nous remarquons que c'est l'adsorption sur les substrats à l'état relaxé qui augmente, tandis que l'adsorption supplémentaire sous élongation demeure constante, quel que soit le taux

d'élongation appliqué au substrat lors du greffage de la biotine. Ce résultat démontre que dans ces conditions la biotine n'est pas masquée par les Pegs.

5.1.2 Tests d'adsorption de la streptavidine

Des essais supplémentaires ont été réalisés avec la streptavidine car cette protéine, très similaire à l'avidine, présente généralement moins d'adsorption non-spécifique que l'avidine, ce qui permet d'augmenter le rapport signal/bruit lié aux interactions spécifiques avec la biotine. La **Figure 5.5** présente les résultats des tests d'adsorption de la streptavidine sur les substrats de PDMS fonctionnalisés.

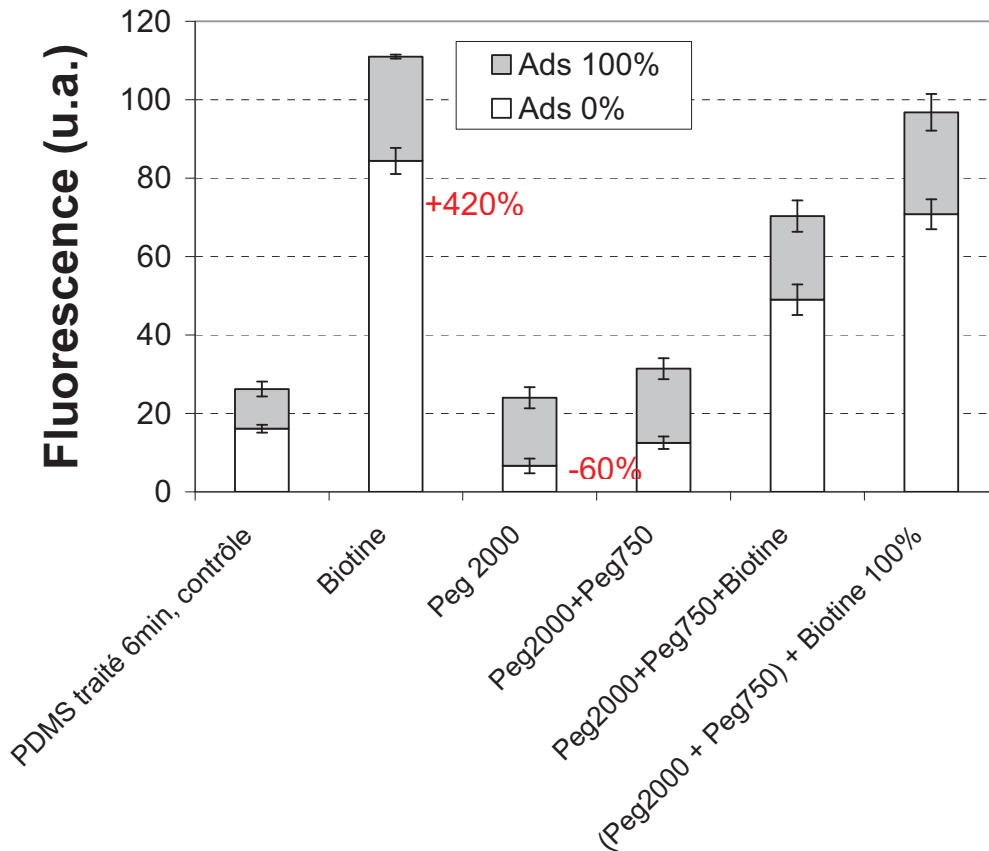


Figure 5.5 : Test d'adsorption de la streptavidine par mesure de fluorescence (marquage FITC) sur les substrats de PDMS traités 6 min par polymérisation plasma puis fonctionnalisés. Les histogrammes représentent l'adsorption du substrat relaxé (0% Ads) et l'adsorption supplémentaire sous étirement uni-axial pour un taux d'allongement de 100% (100% Ads). La variation relative d'adsorption à l'état relaxé par rapport au contrôle est également indiquée en % dans le cas des films monofonctionnels

Nous remarquons en premier lieu que, d'un point de vue qualitatif, l'adsorption relative de la streptavidine sur le substrat de PDMS traité est plus faible comparativement à l'avidine. (Cette comparaison est possible dans la mesure où les fractions molaires du marqueur FITC des deux protéines sont similaires et les tests d'adsorption ont été réalisés dans les mêmes

conditions). Cette tendance peut s'expliquer par les différences de points isoélectriques des protéines : l'avidine, dont le point isoélectrique est de $\sim 10,5$ est positivement chargée à $\text{pH} = 7,4$ tandis que la streptavidine, qui présente un point isoélectrique de ~ 5 est négativement chargée au pH auquel sont réalisées les mesures. Or nous avons montré dans le chapitre 3 que les groupements diacide du film sont partiellement ionisés (i.e. négativement chargés) à cette valeur de pH , ce qui favorise les interactions électrostatiques attractives avec des espèces positivement chargées. Notons également que l'adsorption relative de la streptavidine est plus faible que l'adsorption de l'avidine sur le PDMS, (respectivement 45 u.a. et 70 u.a. de fluorescence), ce qui suggère que les interactions hydrophobes entre la streptavidine et le PDMS sont moins importantes que dans le cas de l'avidine.

Par conséquent, le signal lié à l'adsorption spécifique sur les films fonctionnalisés avec la biotine est largement plus important dans le cas de la streptavidine comparativement à l'avidine (respectivement $\sim 420\%$ et $\sim 45\%$ d'augmentation par rapport au contrôle). La diminution de l'adsorption non-spécifique sur les substrats fonctionnalisés avec les Pegs 2000, de l'ordre de 60% par rapport au contrôle, est comparable aux résultats obtenus avec l'avidine. De même, l'adsorption sous élévation est plus importante que l'adsorption à l'état relaxé sur les films fonctionnalisés avec les Pegs 2000, car le substrat est alors plus accessible pour les protéines.

Les surfaces bi-fonctionnelles Peg2000/Peg750/biotine ont été préparées par le greffage successif des Pegs 2000, Pegs 750 et de la biotine. Les Pegs 750 ont été ajoutés dans le but d'augmenter le taux de couverture des Pegs sur la surface en fonctionnalisant des sites réactifs inaccessibles pour les Pegs 2000. Mais les résultats des tests d'adsorption de protéine n'indiquent pas de différences significatives entre les films fonctionnalisés avec les Pegs 2000 et le système Peg2000/Peg750. Le film bi-fonctionnel Peg2000/Peg750/biotine montre une adsorption importante à l'état relaxé tandis que l'adsorption supplémentaire sur le substrat étiré est comparable à celle mesurée sur le film Peg2000/Peg750 de référence. Comme observé précédemment avec l'avidine, les sites spécifiques sont accessibles avant l'élévation du substrat et le signal supplémentaire après élévation est probablement lié à l'adsorption non-spécifique. Enfin, comme nous l'avons observé précédemment, le greffage de la biotine sur le substrat à l'état étiré permet d'augmenter la quantité de streptavidine adsorbée, mais cette adsorption supplémentaire est obtenue avant l'élévation du substrat.

Une solution potentielle permettant d'augmenter la densité de greffage des Pegs sur le substrat consiste à greffer les Pegs lorsque le substrat est à l'état étiré. La **Figure 5.6** présente les résultats des tests d'adsorption de la streptavidine sur des films bi-fonctionnels Peg2000/biotine pour lesquels les Pegs 2000 sont greffés sous étirement.

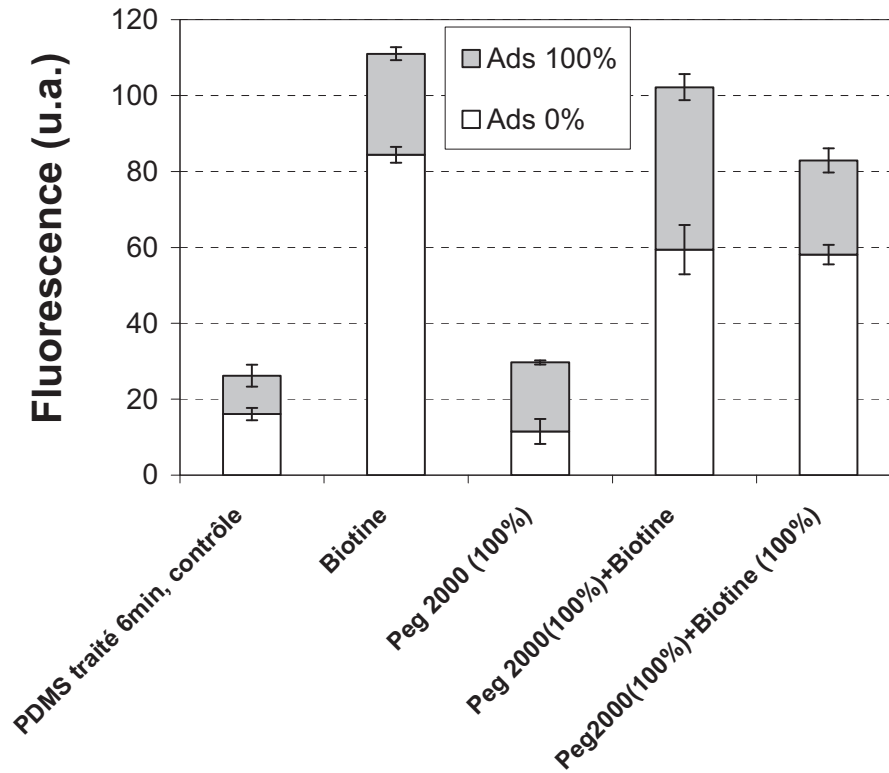


Figure 5.6 : Test d'adsorption de la streptavidine sur les films bi-fonctionnels. Les Pegs 2000 sont préalablement greffés sur les substrats à l'état étiré ($\epsilon=100\%$), puis la biotine est greffée sur le substrat à l'état rétracté ou étiré ($\epsilon=100\%$)

Les résultats indiquent que le greffage des Pegs sous étirement ne permet pas de masquer la biotine qui demeure accessible avant élongation, que celle-ci soit greffée à l'état étiré ou non. Cependant, lorsque la biotine est greffée à l'état relaxé, la quantité relative de streptavidine adsorbée sous élongation est plus importante que sur les films monofonctionnels de Peg 2000(100%) ou de biotine. Ces conditions sembleraient donc favoriser le masquage d'une fraction de la Biotine qui serait uniquement accessible sous élongation. Cependant, cette fraction demeure faible devant la fraction de biotine accessible avant l'élongation.

5.1.3 Bilan

Nous avons montré que la fonctionnalisation des substrats de PDMS traités conduit à une diminution de l'adsorption non-spécifique des protéines (avidine et streptavidine) dans le cas des Pegs, et à une augmentation de l'adsorption dans le cas de la biotine. L'avidine montre un taux d'adsorption (non-spécifique) plus élevé que la streptavidine sur le substrat de PDMS traité, ce qui permet de mettre clairement en évidence que les Pegs 2000 sont plus performants que les Pegs 5000 en ce qui concerne la réduction de l'adsorption non-

spécifique des protéines sur le substrat. Ainsi, le taux de recouvrement de la surface est probablement plus important dans le cas des Pegs 2000. Sous élongation, la quantité de protéines adsorbées augmente significativement, ce qui est attribué à la diminution du taux de recouvrement des Pegs sur la surface.

En ce qui concerne les films bi-fonctionnels composés de Pegs et de biotine, les résultats montrent que l'adsorption (spécifique) augmente comparativement aux films monofonctionnels de Pegs en raison des interactions spécifiques avec la biotine. Cependant, cette adsorption supplémentaire est observée avant l'élongation du substrat, ce qui indique que les Pegs ne permettent pas de masquer la biotine dans ces conditions. Le comportement des systèmes bi-fonctionnels est probablement gouverné par la compétition entre l'affinité de la protéine pour le récepteur et la répulsion stérique des Pegs tendant à s'opposer à l'adsorption des protéines sur le substrat. Si la répulsion stérique des Pegs est suffisante pour diminuer l'adsorption non spécifique des protéines sur le substrat de PDMS traité, celle-ci est insuffisante lorsque les récepteurs sont greffés sur la surface. Le masquage de la biotine requiert probablement d'augmenter la densité des Pegs dans l'environnement des sites spécifiques de biotine. Dans ce but, il est possible de greffer davantage de biotine sous élongation mais l'adsorption supplémentaire associée est observée avant élongation du substrat. Le greffage de deux masses moléculaires de Pegs (Peg2000/Peg750) ne permet pas non plus de masquer davantage la biotine. Les résultats les plus encourageants sont obtenus lorsque les Pegs sont préalablement greffés sur le substrat à l'état étiré et la biotine est ensuite greffée sur le substrat à l'état relaxé. Dans ce cas, une fraction de protéines semble être adsorbée spécifiquement sous élongation mais cette fraction demeure largement inférieure à la fraction adsorbée sur le substrat à l'état relaxé.

Or, l'optimisation du système et la démonstration du concept de la surface adaptative doivent satisfaire à deux conditions:

- Le signal de fluorescence lié à l'adsorption des protéines sous élongation doit être significativement plus important que le signal lié à l'adsorption des protéines sur le substrat à l'état relaxé.
- L'intensité du signal mesuré sous élongation doit être plus importante que l'intensité mesurée sur le substrat de référence ne présentant pas de récepteurs spécifiques, afin de garantir le caractère spécifique de l'adsorption.

La **Figure 5.7** illustre ces conditions en représentant l'objectif à atteindre en termes de signal pour valider le concept.

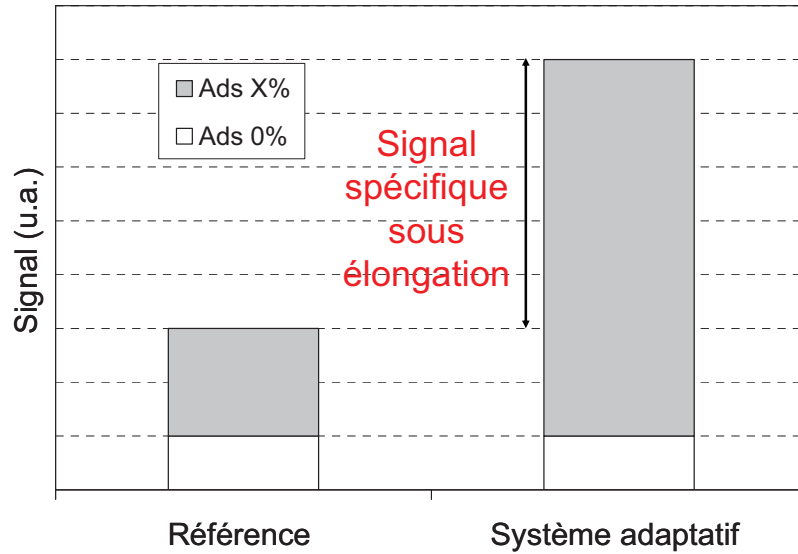


Figure 5.7 : Schéma illustrant l'objectif à atteindre en termes de signal lié à l'adsorption de protéines (fluorescence ou autre) permettant de démontrer le concept de surface adaptative répondant à un stimulus mécanique

En conservant la même stratégie consistant à élaborer un système bi-fonctionnel composé de Pegs linéaires et de récepteurs spécifiques, nous avons décidé d'améliorer la réponse du système en élaborant un dispositif d'élongation multiaxial d'une part, et en utilisant un marqueur fluorescent plus sensible d'autre part.

Le dispositif d'élongation est un système triaxial élaboré au laboratoire. Celui-ci est décrit dans la partie matériel et méthodes (partie 3.2.4). L'élongation triaxiale permettra ainsi d'améliorer l'homogénéité de l'élongation en réduisant la contraction transversale du substrat de PDMS lors de l'élongation. Ce dispositif est également pourvu d'un accessoire permettant de réaliser des greffages sous élongation.

La protéine utilisée dans la suite de l'étude est la streptavidine marquée à la rhodamine, car ce marqueur est plus sensible (nombre de photons émis/mol de protéines) que le marquage FITC. La **Figure 5.8** présente le résultat du test d'adsorption de la streptavidine marquée FITC ou rhodamine sur un substrat de PDMS traité 6 min par polymérisation plasma et fonctionnalisé avec la biotine. Le marquage à la rhodamine conduit à une augmentation du signal de l'ordre de 30% comparativement au marquage FITC.

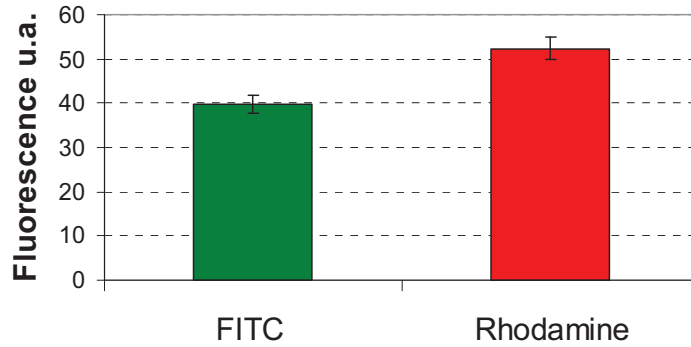


Figure 5.8 : Comparaison entre la fluorescence relative ($I-I_0$) mesurée sur un substrat de PDMS fonctionnalisé avec la Biotine et mis en contact avec la streptavidine (0,1 mg/ml) marquée FITC ou rhodamine. Le temps d'exposition est de 1s, l'intensité du bruit de fond « autofluorescence » $I_0 \sim 10$ u.a. est comparable dans le vert et dans le rouge

5.2 Elongation triaxiale

5.2.1 Films monofonctionnels

5.2.1.1 Films de Pegs

La Figure 5.9 présente les résultats des tests d'adsorption de la streptavidine (marquage rhodamine) dépendant de l'élongation (triaxiale) réalisée sur les substrats de PDMS traités 6 min par polymérisation plasma puis fonctionnalisés avec différents amino-Pegs.

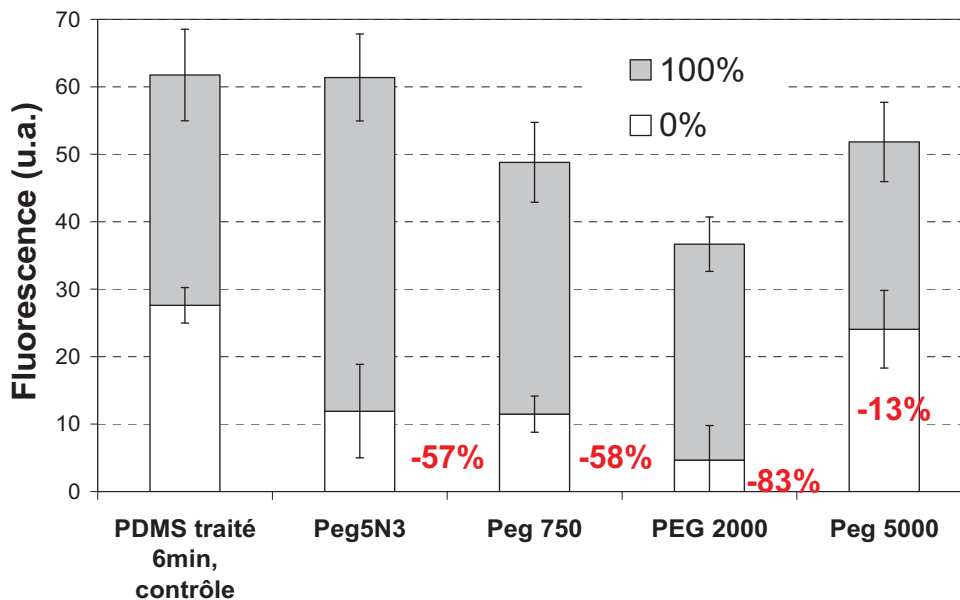


Figure 5.9 : Test d'adsorption de la streptavidine par mesure de fluorescence (marquage rhodamine) sur les substrats de PDMS traités 6 min par polymérisation plasma puis fonctionnalisés par différents amino-Pegs. Les histogrammes représentent l'adsorption du substrat relaxé et l'adsorption supplémentaire sous étirement triaxial pour un taux d'allongement de 100%. La variation relative d'adsorption à l'état relaxé par rapport au contrôle est également indiquée en % dans le cas des films monofonctionnels

Les résultats montrent que l'ensemble des Pegs testés conduit à une diminution de l'adsorption de la streptavidine par rapport au contrôle lorsque les substrats sont à l'état relaxé. En particulier, les meilleurs résultats sont obtenus avec les Pegs 2000 qui permettent de diminuer l'adsorption relative de l'ordre de 80% comparativement au contrôle. La diminution du signal de fluorescence, de l'ordre de 13% est la plus faible dans le cas des Pegs 5000. L'azido-Peg et le Peg 750, de faibles tailles ($R_F \sim 0,9$ nm et $R_F \sim 1,9$ nm, respectivement), conduisent également à une diminution de l'adsorption relative de l'ordre de 60%. Il est intéressant de noter que les groupements azide ne semblent pas favoriser l'adhésion de la streptavidine.

L'ensemble des films présente une importante adsorption supplémentaire lors de l'élongation triaxiale des substrats à un taux d'élongation de 100%. Dans le cas du contrôle correspondant au PDMS traité 6 min, cette adsorption supplémentaire est légèrement plus importante que l'adsorption initiale avant étirement du substrat. Dans le cas des tests réalisés sous élongation uni-axiale, nous avons montré que l'adsorption supplémentaire sous élongation est inférieure à l'adsorption initiale. Cette différence est attribuée à l'effet de dilution plus important dans le cas de l'élongation triaxiale. Ainsi des fractions hydrophobes plus importantes du PDMS sont révélées ce qui conduit à une augmentation de la quantité de streptavidine adsorbée par interaction hydrophobe sous élongation. Notons que sur un PDMS non traité le signal de fluorescence lié à l'adsorption non spécifique de la streptavidine est de l'ordre de 120 u.a. à l'état relaxé, puis augmente d'environ 30 u.a. pour un taux d'allongement de 100%. Cependant l'adsorption totale sur le PDMS traité demeure bien inférieure à celle du PDMS non traité (~60 u.a. contre ~150 u.a., respectivement). En ce qui concerne les films fonctionnalisés avec les Pegs, l'adsorption supplémentaire sous élongation est généralement plus importante que l'adsorption initiale. Dans le cas des Peg₅N₃, de faible taille, l'adsorption totale est alors équivalente au contrôle, ce qui suggère que l'effet anti-adsorbant des Pegs devient négligeable lorsque ceux-ci sont « dilués » sous élongation. Notons que dans le cas des Pegs 2000 l'adsorption totale demeure significativement inférieure à l'adsorption du contrôle, ce qui indique que leur taux de recouvrement sur la surface n'est pas négligeable sous élongation.

5.2.1.2 Films de biotine

La **Figure 5.10** présente les résultats des tests d'adsorption de la streptavidine sur les films fonctionnalisés avec la biotine. Deux types d'amino-Peg-biotine ont été greffés : l'amino-Peg₂-biotine et l'amino-Peg₁₂-biotine présentant un espaceur plus long.

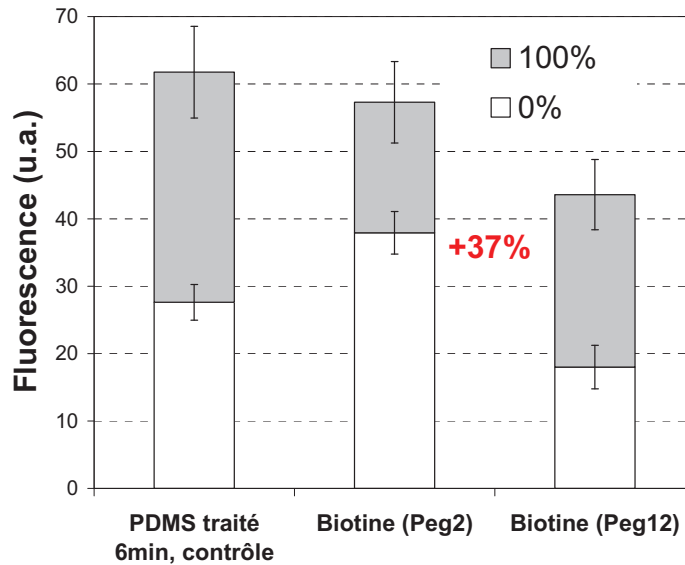


Figure 5.10 : Test d'adsorption de la streptavidine sur les substrats de PDMS traités 6 min par polymérisation plasma puis fonctionnalisés avec des amino-Peg-Biotines présentant des espaceurs de longueur différente (Peg₂ et Peg₁₂). Les histogrammes représentent l'adsorption du substrat relaxé (0%) et l'adsorption supplémentaire sous étirement tri-axial pour un taux d'allongement de 100%

Les résultats montrent que les films fonctionnalisés avec l'amino-Peg₂-Biotine présentent une quantité de protéines adsorbées plus importantes que le contrôle (augmentation de l'ordre de 37% par rapport au contrôle). A l'opposé, les films fonctionnalisés avec l'amino-Peg₁₂-biotine présentent une adsorption plus faible que le contrôle. Cette différence est probablement liée au fait que le greffage de la molécule avec l'espaceur le plus long conduit à une densité surfacique de biotine plus faible d'une part, et l'espaceur long permet probablement de réduire la composante non spécifique du signal d'autre part. Ces résultats indiquent également que l'espaceur court est suffisant pour permettre la fixation de la protéine. Par conséquent, la biotine-Peg₂ semble plus intéressante pour l'élaboration de surfaces bi-fonctionnelles car sa faible taille est plus favorable au masquage.

5.2.2 Films bi-fonctionnels

5.2.2.1 Greffages sur les substrats à l'état relaxé

La Figure 5.11 présente les résultats des tests d'adsorption de la streptavidine sur la surface bi-fonctionnelle Peg2000/biotine lorsque les Pegs 2000 et la biotine sont greffés successivement sur le substrat relaxé.

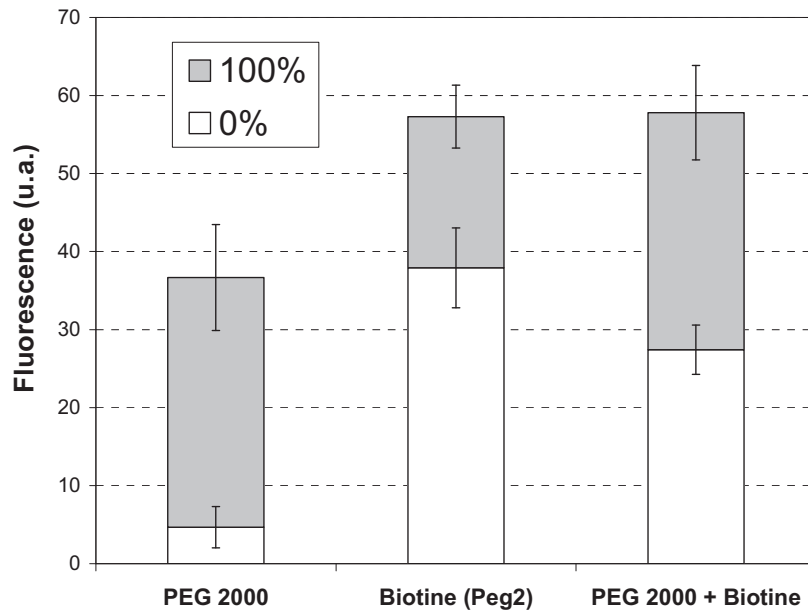


Figure 5.11 : Test d'adsorption de la streptavidine sur les films bi-fonctionnels Peg 2000/biotine. Les PEGs 2000 et la biotine sont successivement greffés sur le substrat à l'état relaxé. Les résultats sont comparés aux résultats obtenus dans le cas de films mono-fonctionnels Peg 2000 et biotine

Le film Peg2000/biotine présente une adsorption à l'état relaxé supérieure à la référence (Peg 2000), ce qui indique qu'une fraction importante de biotine n'est pas masquée par les PEGs, comme observé précédemment avec l'avidine en élongation uni-axiale. Après élongation triaxiale, l'adsorption sur le système Peg2000/biotine augmente significativement, le signal de fluorescence étant doublé. Cependant, cette augmentation demeure comparable au signal d'adsorption non-spécifique observée sur la référence (Peg 2000), ce qui ne permet pas de déterminer si l'adsorption supplémentaire promue par l'élongation est spécifique. De plus, le signal total ($I_{0\%} + I_{100\%}$) du système bi-fonctionnel est comparable au signal total du film monofonctionnel de biotine, ce qui tend à indiquer que tous les sites de biotine sont couplés aux protéines, et ce principalement avant l'élongation du substrat.

Ainsi, les résultats obtenus à l'aide du dispositif triaxial sont qualitativement comparables aux résultats obtenus dans le cas d'une élongation uni-axiale, ce qui confirme que les films bi-fonctionnels préparés dans ces conditions ne permettent pas de masquer la biotine.

5.2.2.2 Greffages sur les substrats à l'état étiré

La Figure 5.12 présente les résultats des tests d'adsorption de la streptavidine dépendant de l'élongation (triaxiale) de films bi-fonctionnels préparés en greffant successivement, les PEGs 2000 sur le substrat à l'état relaxé puis étiré, et la Biotine sur le substrat à l'état étiré ou relaxé.

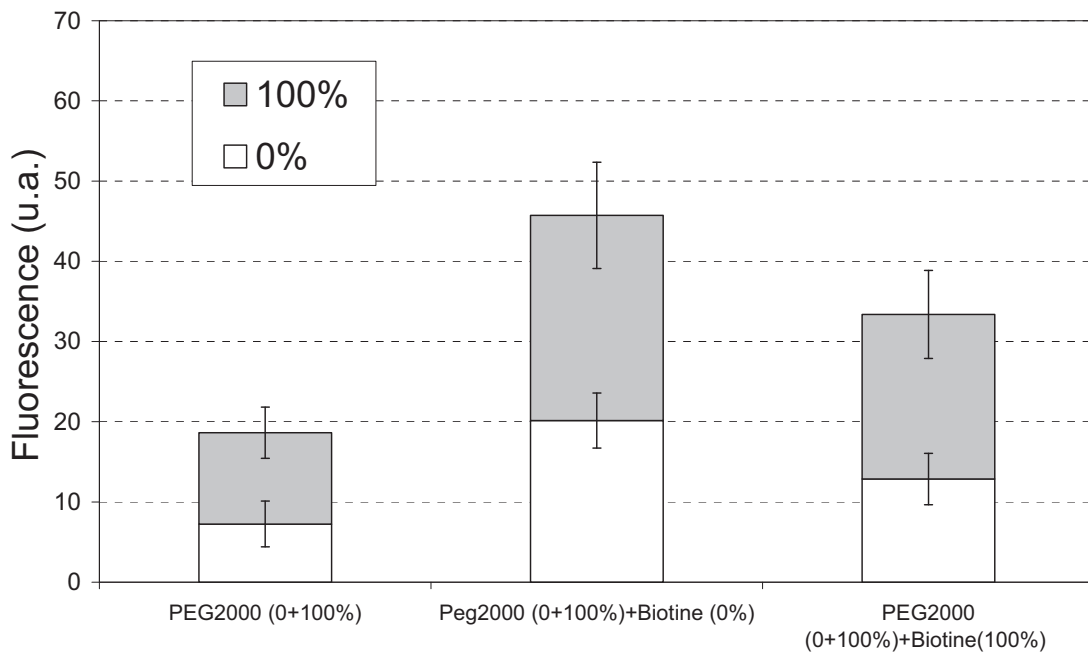


Figure 5.12 : Tests d'adsorption de la streptavidine sur les films bi-fonctionnels Peg 2000/biotine. Les Pegs 2000 sont préalablement greffés sur le substrat à l'état relaxé (0%) puis étiré (100%), la biotine est greffée ensuite sur le substrat à l'état relaxé (0%) ou étiré (100%). Les résultats sont comparés à la référence correspondant au film monofonctionnel Peg 2000 (0+100%) sans biotine

Nous observons en premier lieu que le film monofonctionnel Peg2000 (0+100%) présente une adsorption à l'état étiré considérablement réduite comparativement à un échantillon ayant subi une seule étape de greffage à l'état relaxé (voir Figure 5.11). Ainsi l'étape supplémentaire de greffage des Pegs sous étirement semble permettre d'augmenter le taux de couverture du substrat. En effet, l'élongation du substrat conduit à la séparation des sites réactifs, ce qui permet à des sites encombrés de réagir lorsque le substrat est étiré, comme l'illustre la Figure 5.13.

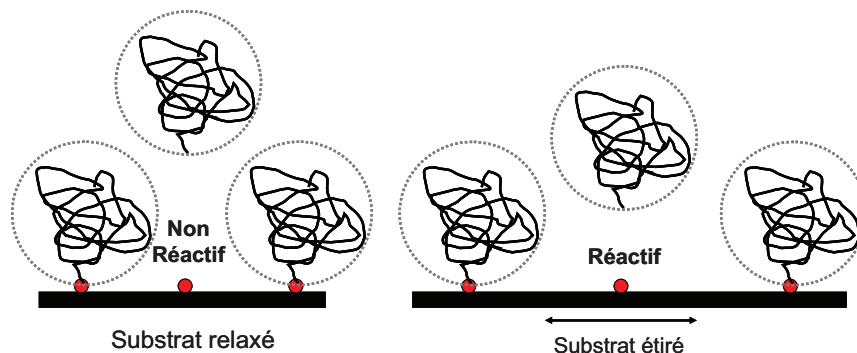


Figure 5.13 : Schéma illustrant l'accessibilité d'un site réactif promue par l'élongation du substrat

Les surfaces bi-fonctionnelles ainsi préparées présentent toujours une adsorption à l'état relaxé supérieure à la référence (sans biotine), mais l'adsorption sous élongation est plus importante que l'adsorption initiale. De plus, l'adsorption sous élongation est également plus importante que dans le cas de la référence sans biotine, ce qui tend à montrer que l'adsorption supplémentaire promue sous élongation est de nature spécifique. Remarquons enfin que l'adsorption est globalement plus importante lorsque la biotine est greffée à l'état relaxé. Ce résultat est surprenant dans la mesure où l'on s'attendrait à ce que l'élongation du substrat conduise à un taux de greffage plus important de la biotine. Une interprétation possible est que dans ces conditions, c'est à dire lorsque le Peg 2000 et la biotine sont greffés sous étirement, une partie de la biotine est davantage masquée et n'est pas accessible à un taux d'élongation équivalent à celui appliqué lors du greffage. On voit alors apparaître la potentialité d'un paramètre supplémentaire, à savoir le ratio entre le taux d'élongation appliqué au substrat lors du greffage et le taux d'élongation appliqué au substrat lors du test d'adsorption de protéines.

Ainsi, le greffage des Pegs sur le substrat à l'état étiré semble constituer une méthode permettant de masquer une partie de la biotine. L'adsorption sous étirement est alors comparable à l'adsorption à l'état relaxé. Cependant, l'inconvénient de cette méthode est qu'elle demande plusieurs étapes de greffage, ce qui pose des problèmes de reproductibilité.

A ce stade, le système est probablement limité par la densité des Pegs qui est insuffisante pour masquer la biotine. Dans la partie suivante, nous présenterons une méthode alternative permettant d'augmenter considérablement le taux de recouvrement des Pegs sur la surface.

6 Greffages de Pegs dans des conditions de « Cloud Point »

6.1 Généralités

Une propriété caractéristique des chaînes de Pegs en solution est de montrer une séparation de phase par augmentation de la température. Lorsque la température s'approche du point trouble (« Cloud Point »), la diminution de solubilité des Pegs se manifeste par un changement de conformation, sous forme de contraction et de déshydratation. Cet effet augmente en présence de sels, en particulier les sels divalents.

De manière analogue, la contraction de polymères contenant des chaînes Peg attachés au niveau d'une interface a été mise en évidence lors de l'augmentation de la température. En raison de cet effet, la densité de greffage de chaînes de Pegs peut être augmentée par augmentation de la température. Cette méthode a été utilisée par V. Alstine et al^{64, 65} pour la

fonctionnalisation de surfaces de quartz ou de silicium présentant des groupements amines avec des Pegs-époxyde 5000. Ces travaux montrent que la densité de chaînes est de 0,004 chaînes/nm² lorsque la fonctionnalisation est réalisée à 30°C, 0,07 chaînes/nm² à 40°C et de 0,12 chaînes à 80°C. L'adsorption non-spécifique de fibrinogène est minimale sur les substrats présentant la densité maximale de Pegs.

Cette stratégie a également été utilisée par Griesser et al⁶⁶ afin de fonctionnaliser des films polymère plasma de n-heptylamine (faible densité d'amines) ou de allylamine (densité élevée d'amines) déposés sur des substrats de PET. Dans cette étude, les Pegs 5000 à terminaison aldéhyde ont été couplés aux amines du polymère plasma en utilisant NaCNBH₃ comme agent réducteur (formation d'un intermédiaire sous la forme d'une base de Schiff). Dans cette étude, différentes températures (22°C et 60°C) et concentrations en sulfate de potassium K₂SO₄ (0,2 M et 0,6 M) ont été testées. Les analyses XPS indiquent que l'association de conditions de température et de concentration en sel élevées conduisent à la densité de greffage la plus importante, en particulier sur les films présentant la densité de groupements réactifs de surface la plus élevée.

6.2 Analyse préliminaire de surfaces de silicium fonctionnalisées

Les substrats de silicium traités 30 min par polymérisation plasma ont été fonctionnalisés avec les Pegs 750, 2000 et 5000 dans les conditions de « Cloud Point » utilisées par Griesser et al⁶⁶ (60°C, Na₂SO₄ 0,6 M). Ces conditions doivent permettre d'augmenter la densité de greffage de Pegs de masse moléculaire élevée sur un substrat présentant une importante densité surfacique de groupements réactifs. Les surfaces de silicium traitées constituent ici un modèle permettant de mettre en évidence les bénéfices apportés par ces conditions par rapport aux conditions normales de greffage (température ambiante, PBS).

6.2.1 Mesures d'angle de contact

Le **Tableau 6.1** compare les angles de contact de l'eau mesurés sur les surfaces de silicium traitées 30 min par polymérisation plasma puis fonctionnalisées avec les Pegs dans les conditions normales ou dans les conditions de « Cloud Point ». Notons que la fonctionnalisation avec les Pegs 2000 conduit à la délamination du film polymère plasma. Probablement cette masse moléculaire est critique et induit des contraintes interfaciales supérieures à l'adhésion du film sur le substrat. A l'opposé, les films fonctionnalisés avec les Pegs 750 et des Pegs 5000 sont stables. Ainsi, nous comparerons ici uniquement ces deux types de films préparés dans les conditions « Cloud Point » aux films préparés dans les conditions normales.

| | Avancée ($\pm 2^\circ$) | Retrait ($^\circ$) ($\pm 2^\circ$) | Hystérèse relative (%) |
|---------------------------|---|---|-----------------------------------|
| Pol. Plasma 30 min | 34 | <10 | >59 |
| Peg 750 | 41 | 17 | 58 |
| Peg 750 CP | 36 | 16 | 55 |
| Peg 5000 | 38 | 23 | 39 |
| Peg 5000 CP | 42 | 15 | 64 |

Tableau 6.1 : Angles de contact à l'avancée et au retrait de l'eau sur les substrats de silicium traités 30 min par polymérisation plasma puis fonctionnalisés avec des Peg 750 ou 5000 dans les conditions normales (T° ambiante, PBS) ou dans les conditions de « Cloud Point » CP (60°C , Na_2SO_4 0,6M)

Dans le cas des Pegs 750, l'angle de contact de l'eau à l'avancée est légèrement plus faible dans les conditions de « Cloud Point » que dans les conditions « normales » de greffage tandis que les angles au retrait ne présentent pas de différences significatives.

Une tendance opposée est observée dans le cas des Pegs 5000 puisque l'angle de l'eau à l'avancée est légèrement plus élevé dans les conditions de « Cloud Point » tandis que l'angle au retrait est plus faible. Il en résulte une augmentation de l'hystérèse de mouillage.

Ces différences sont faibles et difficiles à interpréter. Lors du greffage des amino-Pegs sur le film polymère plasma, un groupement acide du film réagit avec l'amine pour former un amide. Il y a alors recouvrement d'une partie du film avec des groupements $-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{O}$ moins hydrophiles que les groupements $-\text{COOH}$ mais plus hydrophiles que les environnements hydrocarbonés du film polymère plasma. Il en résulte une légère augmentation des angles de contact à l'avancée et au retrait lorsque les films sont fonctionnalisés avec des Pegs. En principe, lorsque la densité de greffage des Pegs augmente, les angles de contact doivent augmenter avec leurs taux de recouvrement sur la surface. Mais l'augmentation de la densité de greffage des Pegs peut également favoriser leur alignement selon une structure de type « peigne », induisant probablement des changements de comportement en termes de mouillage.

D'après ces considérations, les conditions de « Cloud Point » sembleraient conduire à une augmentation du taux de greffage des Pegs 5000 dans la mesure où l'angle à l'avancée est augmenté comparativement au film préparé dans les conditions « normales » de greffage. A l'opposé, ces conditions ne semblent pas permettre d'augmenter le taux de greffage des Peg 750. Notons cependant que ces changements de mouillabilité sont faibles par rapport à l'incertitude de la mesure. Aussi ces tendances doivent être confirmées par l'analyse XPS.

6.2.2 Analyse XPS

Le Tableau 6.2 compare les compositions atomiques résultant de l'analyse XPS des films fonctionnalisés avec les Pegs 750 ou 5000 dans des conditions de greffage « normales » ou de « Cloud Point ».

| Composition Atomique (%) | | | | | |
|--------------------------|------|------|------|-----|------|
| | % C | % O | % Si | % N | O/C |
| Peg 750 | 67,2 | 22,7 | 4 | 5,9 | 0,34 |
| Peg 750 CP | 66,2 | 23,7 | 4,2 | 5,8 | 0,36 |
| Peg 5000 | 65,9 | 21,8 | 4,9 | 6,8 | 0,33 |
| Peg 5000 CP | 68,8 | 29,8 | 0,4 | 0,9 | 0,43 |

Tableau 6.2 : Composition atomique résultant de l'analyse XPS des substrats de silicium fonctionnalisés avec les Pegs dans les conditions normales ou de « Cloud Point » (épaisseur analysée = 10 nm)

Dans le cas des Pegs 750, les compositions des films préparés selon les deux types de conditions sont similaires, tandis que des changements significatifs sont observés dans les cas des Pegs 5000 greffés dans les conditions de « Cloud Point ». Les films présentent une augmentation du pourcentage atomique de carbone et d'oxygène, et le rapport O/C est de 0,43 (le rapport théorique d'une couche épaisse et uniforme de Pegs est de 0,5). En parallèle, les fractions de silicium et d'azote sont considérablement atténuées dans ces conditions. Ces résultats semblent indiquer que les conditions de « Cloud Point » permettent d'augmenter la densité de greffage des Pegs 5000, ainsi que leur taux de recouvrement sur la surface et probablement l'épaisseur du film. La **Figure 6.1** présente les spectres C(1s) de ces films.

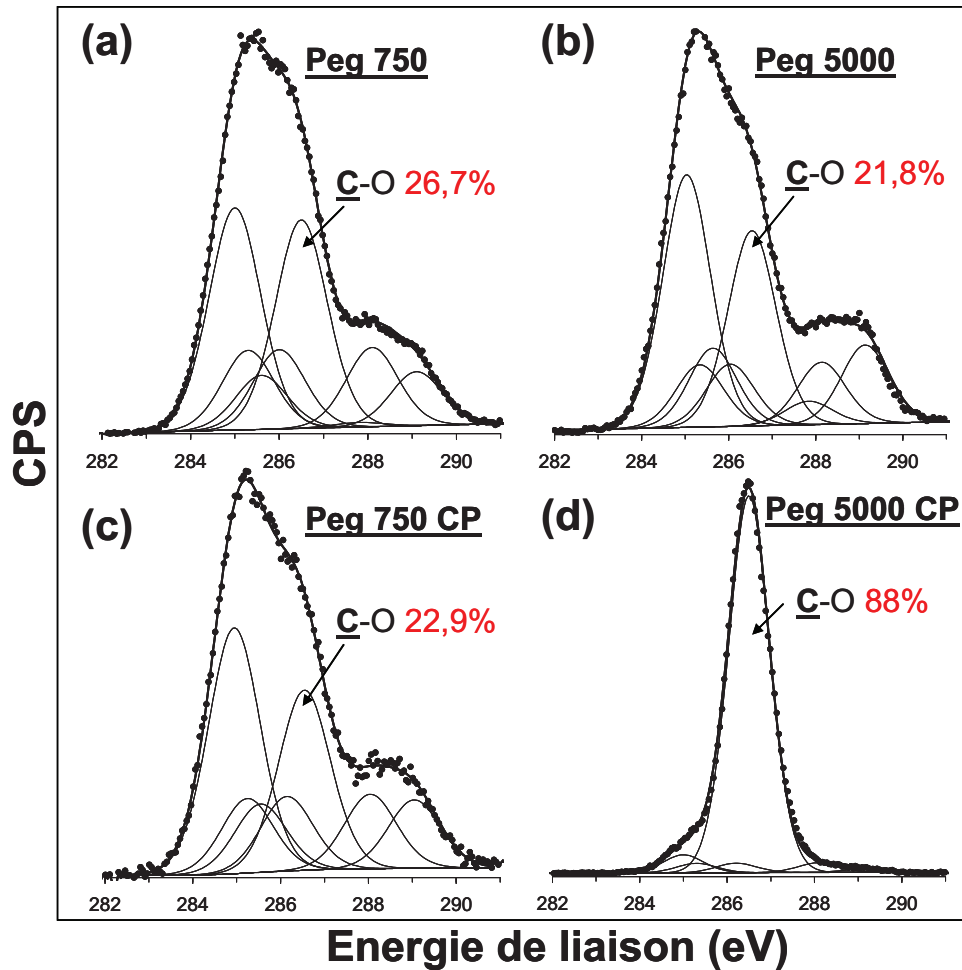


Figure 6.1 : Spectres XPS C1(s) haute résolution réalisés sur des substrats de silicium traités 30 min par polymérisation plasma puis fonctionnalisés avec des amino-Pegs dans des conditions normales (T° ambiante, PBS) (a) Peg 750, (b) Peg 5000 ou dans des conditions de « Cloud Point » (60°C , Na_2SO_4 0,6M) (c) Peg 750 CP, (d) Peg 5000 CP

Dans le cas des Pegs 750, la concentration en environnements $\text{-}\underline{\text{C}}\text{-O}$ est légèrement plus faible dans les conditions de « Cloud Point » que dans les conditions « normales ». Ce résultat indique que pour cette masse moléculaire, les conditions de « Cloud Point » ne permettent pas d'augmenter la densité de greffage. En d'autres termes, la densité de greffage n'est pas limitée par la taille des molécules, comme l'illustre la **Figure 6.2(a)**. La légère diminution de la densité de greffage peut être attribuée à une diminution de l'efficacité des agents de couplage (en particulier l'hydrolyse de l'EDC) à température élevée.

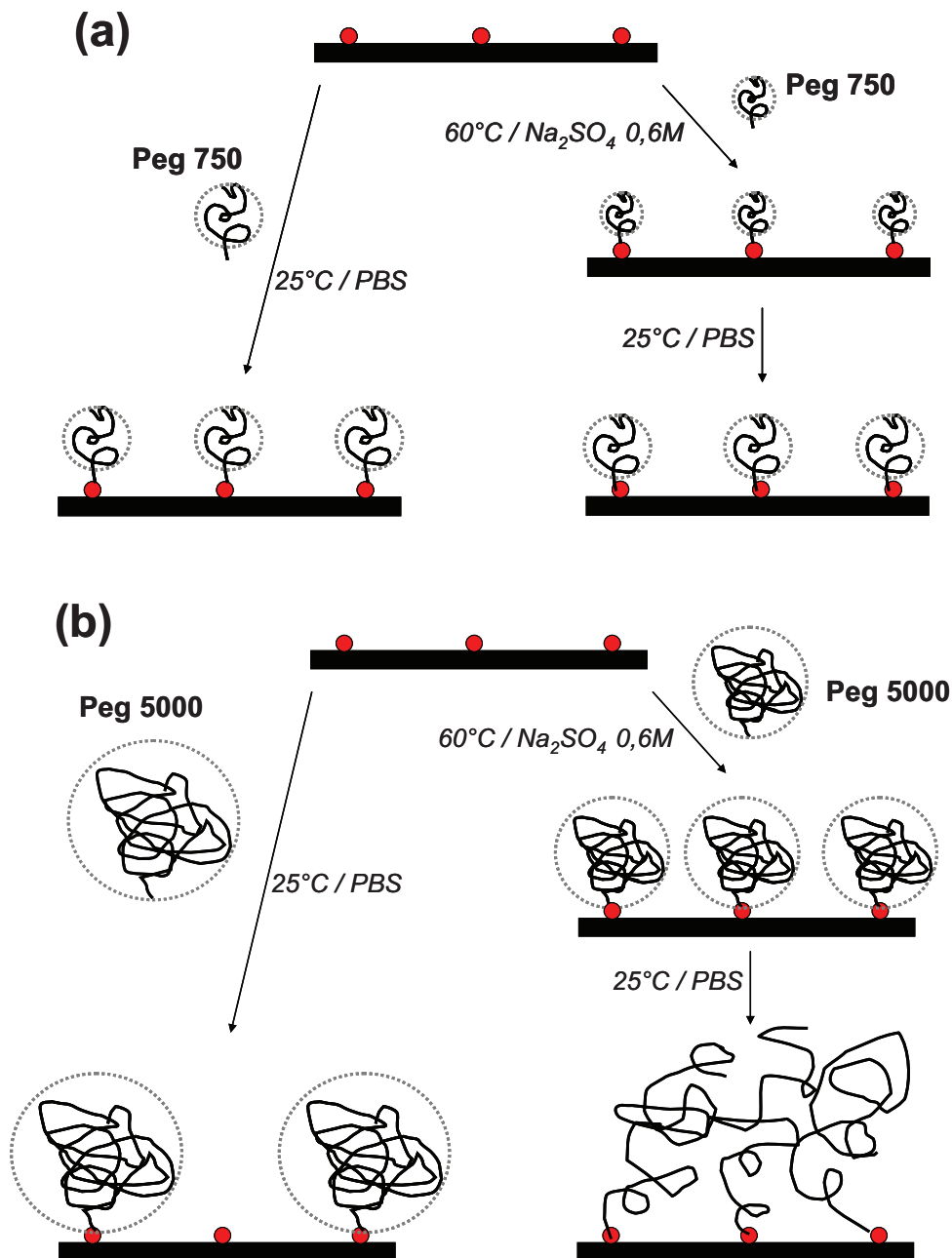


Figure 6.2 : Schéma illustrant les différences probables de densités de greffage et de conformation des Pegs obtenues dans les conditions « normales » (25°C/PBS) et dans les conditions de « Cloud Point » (60°C/Na₂SO₄), (a) Peg 750, (b) Peg 5000

Dans le cas des films fonctionnalisés avec les Pegs 5000, la proportion des environnements \underline{C} -O du carbone des films préparés dans les conditions de « Cloud Point » est de l'ordre de 88% contre 22% dans les conditions « normales » de greffage. Ce résultat démontre que les conditions de « Cloud Point » permettent d'augmenter considérablement la densité de greffage de Pegs de masse moléculaire élevée. Les composantes \underline{C} -C, \underline{C} OOH et \underline{C} (O)NR du polymère plasma sont fortement atténuées comparativement au film

fonctionnalisé avec les Pegs 5000 dans les conditions « normales » de greffage. Deux effets illustrés **Figure 6.2(b)** permettent d'expliquer ce phénomène. En premier lieu, le taux de recouvrement moyen des Pegs sur la surface est plus important, ce qui conduit à une atténuation du signal du substrat. En second lieu, l'augmentation de la densité de greffage des Pegs conduit probablement à une augmentation d'épaisseur liée à un changement de conformation des Pegs qui tendent à s'aligner pour adopter une conformation de type « peigne ». Rappelons cependant que l'analyse XPS est réalisée sous ultravide ce qui implique que les Pegs adoptent probablement une conformation interfaciale différente qu'en solution, car leur degré d'hydratation est plus faible à l'air.

Ces résultats montrent que l'augmentation de la température et de la concentration en sel divalent augmente considérablement la densité de greffage des Pegs de masse moléculaire élevée. Ces résultats ont été obtenus à partir de surfaces de silicium traitées 30 min par polymérisation plasma, dont la densité surfacique moyenne de groupements réactifs est plus élevée que dans le cas d'un substrat de PDMS traité 6 min. Cependant, dans l'hypothèse d'une croissance hétérogène du polymère plasma sur la surface de PDMS aux temps de dépôt courts, il est probable que la densité locale de groupements réactifs soit élevée (« îlots » riches en anhydrides) et que les conditions de « Cloud Point » permettent également d'augmenter la densité de greffage. Nous tenterons de vérifier cette hypothèse dans la suite.

6.2.3 Adsorption de protéines

La **Figure 6.3** compare l'adsorption de la streptavidine sur les substrats de silicium bi-fonctionnels Peg750/biotine ou Peg5000/biotine préparés dans les conditions « normales » ou de « Cloud Point ». Sur l'ensemble des films bi-fonctionnels, l'amino-Peg₁₂biotine greffée dans les conditions « normales ». En premier lieu, nous observons que les films monofonctionnels constitués de Pegs 750 ou 5000 ne présentent pas de différence significative d'adsorption en fonction des conditions de greffage. Dans les deux cas, les Pegs 5000 présentent le caractère anti-adsorbant le plus prononcé, le signal de fluorescence associé à l'adsorption de protéines est négligeable.

Les films bi-fonctionnels préparés dans les conditions de « Cloud Point » présentent une adsorption relative plus élevée que les films monofonctionnels préparés dans les mêmes conditions, ce qui indique qu'au moins une partie de la biotine greffée consécutivement aux Pegs est accessible. Cependant, l'adsorption relative de la streptavidine sur ces films est considérablement diminuée comparativement aux films correspondants préparés dans les conditions « normales » de greffage. Cette différence est liée au fait que les conditions de « Cloud Point » conduisent à un taux de greffage plus élevé des Pegs sur la surface ce qui réduit le nombre de sites réactifs pour le greffage de la biotine d'une part, et peut également

favoriser le masquage de la biotine d'autre part. Dans le cas des Pegs 5000, cette tendance est en accord avec les analyses XPS (Figure 6.1) qui montrent clairement l'augmentation du taux de greffage dans les conditions de « Cloud Point ». Ces résultats sont plus surprenants dans le cas des Pegs 750 dans la mesure où l'analyse XPS n'indique pas d'augmentation significative du taux de greffage dans les conditions de « Cloud Point ».

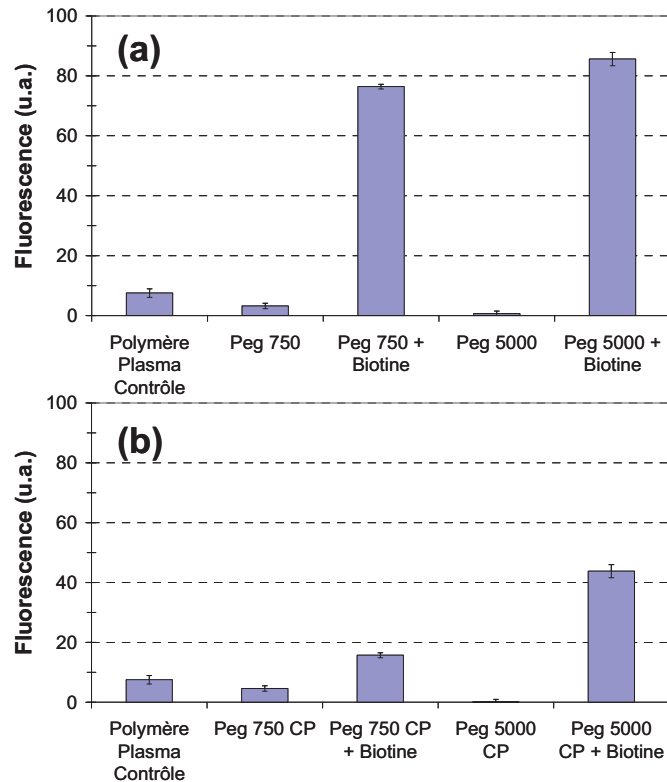


Figure 6.3 : Tests d'adsorption de la streptavidine sur les surfaces de silicium traitées 30 min par polymérisation plasma puis fonctionnalisées avec des Pegs dans les conditions (a) « normales » ou (b) de « Cloud Point » CP. Les surfaces bi-fonctionnelles Peg + biotine ont été préparées en greffant la biotine dans les conditions « normales » de greffage après le greffage des Pegs dans les conditions « normales » ou de « Cloud Point » CP

6.3 Fonctionnalisation des substrats de PDMS traités 6 min

Les substrats de PDMS traités 6 min par polymérisation plasma ont été fonctionnalisés avec les Pegs 2000 et 5000 dans les conditions de « Cloud Point », c'est-à-dire dans une solution de Na_2SO_4 0,6M maintenue à 60°C. Les analyses de mouillabilité et XPS des films ainsi fonctionnalisés seront comparées aux résultats obtenus dans les conditions « normales » de greffage (température ambiante, PBS).

6.3.1 Mesure d'angle de contact

Le **Tableau 6.3** compare les résultats des analyses de mouillabilité réalisées sur les substrats de PDMS traités 6 min puis fonctionnalisés avec les Pegs 2000 ou 5000 dans les conditions de « Cloud Point » ou dans les conditions « normale » de greffage.

Nous observons que les angles de contact de l'eau à l'avancée sont significativement plus faibles dans le cas des substrats fonctionnalisés avec les Pegs 2000 ou 5000 que dans les conditions de « Cloud Point ». Ce résultat montre que le taux de recouvrement des Pegs sur le substrat hydrophobe de PDMS modifié augmente comparativement aux conditions « normales » de greffage. En parallèle, les angles au retrait présentent des valeurs légèrement plus faibles ($\theta_R \sim 22^\circ$ au lieu de $\theta_R \sim 34^\circ$). Nous notons également que le film polymère plasma activé puis mis dans les conditions de « Cloud Point » en l'absence de réactifs présente un angle à l'avancée plus élevé que le film activé et soumis aux conditions « normales » ($\theta_A \sim 108^\circ$ au lieu de $\theta_A \sim 100^\circ$), ce qui suggère que le film subit des modifications conduisant à une augmentation de son hydrophobicité dans les conditions de température et de sel élevées. Deux phénomènes peuvent être à l'origine de cette augmentation : la dissolution de fragments de polymère plasma d'une part et la migration de chaînes de PDMS vers la surface favorisée par l'augmentation de la température d'autre part. Malgré ces effets probables, le greffage des Pegs dans les conditions de « Cloud Point » permet de rendre la surface plus hydrophile que dans les conditions « normales » de greffage.

| | Avancée ($\pm 2^\circ$) | Retrait ($^\circ$) ($\pm 2^\circ$) | Hystérèse relative (%) |
|--|---|---|-----------------------------------|
| Pol. Plasma 6 min (activé) | 100 | 15 | 85 |
| Pol. Plasma 6 min (activé CP) | 108 | 15 | 86 |
| Peg 2000 | 83 | 33 | 60 |
| Peg 2000 CP | 68 | 22 | 68 |
| Peg 5000 | 85 | 35 | 59 |
| Peg 5000 CP | 65 | 21 | 68 |

Tableau 6.3 : Angles de contact à l'avancée et au retrait de l'eau sur les substrats de PDMS traités 6 min par polymérisation plasma puis fonctionnalisés avec des Peg 2000 ou 5000 dans les conditions normales ($T=25^\circ\text{C}$, PBS) ou dans les conditions de « Cloud Point » CP (60°C , Na_2SO_4 0,6M)

6.3.2 Analyse XPS

Le **Tableau 6.4** présente la composition atomique des films préparés dans les différentes conditions.

| Composition Atomique (%) | | | | |
|--------------------------|------|------|------|-----|
| | % C | % O | % Si | % N |
| PDMS | 43,8 | 21,6 | 34,6 | - |
| PP6min activé | 55,7 | 23,7 | 19,4 | 1,2 |
| PP6min activé CP | 50,5 | 22,5 | 25,9 | 1,1 |
| Peg 2000 | 55,1 | 23,1 | 18,6 | 3,1 |
| Peg 2000 CP | 56,9 | 22,9 | 19 | 1,3 |
| Peg 5000 | 56,4 | 23,7 | 19,7 | - |
| Peg 5000 CP | 57,5 | 21,8 | 19,4 | 1,3 |

Tableau 6.4 : Composition atomique résultant de l'analyse XPS des substrats de PDMS fonctionnalisés (épaisseur analysée = 10 nm)

En premier lieu, nous notons que le film polymère plasma de référence, activé et soumis aux conditions de « Cloud Point » en l'absence d'amine, présente une concentration de silicium supérieure au film de référence dans les conditions « normales » (25,9 % au lieu de 19,4%), ce qui confirme les analyses de mouillabilité suggérant que le film subit des modifications sous l'effet de la température et de la concentration élevée en Na_2SO_4 . Comparativement à cette référence, les films fonctionnalisés dans les conditions de « Cloud Point » avec les Pegs 2000 et 5000 présentent une concentration en silicium plus faible (~19% au lieu de ~26%), à cause du recouvrement et de l'épaisseur de la couche de Pegs sur le substrat. Notons que de tels changements ne sont pas observés dans les conditions normales pour lesquelles la fraction de silicium détectée dans les films fonctionnalisés est équivalente à la fraction de la référence. La **Figure 6.4** présente les décompositions des spectres C(1s) résultant de l'analyse XPS des substrats de PDMS fonctionnalisés avec les Pegs 2000 ou 5000 dans les deux types de conditions de greffage.

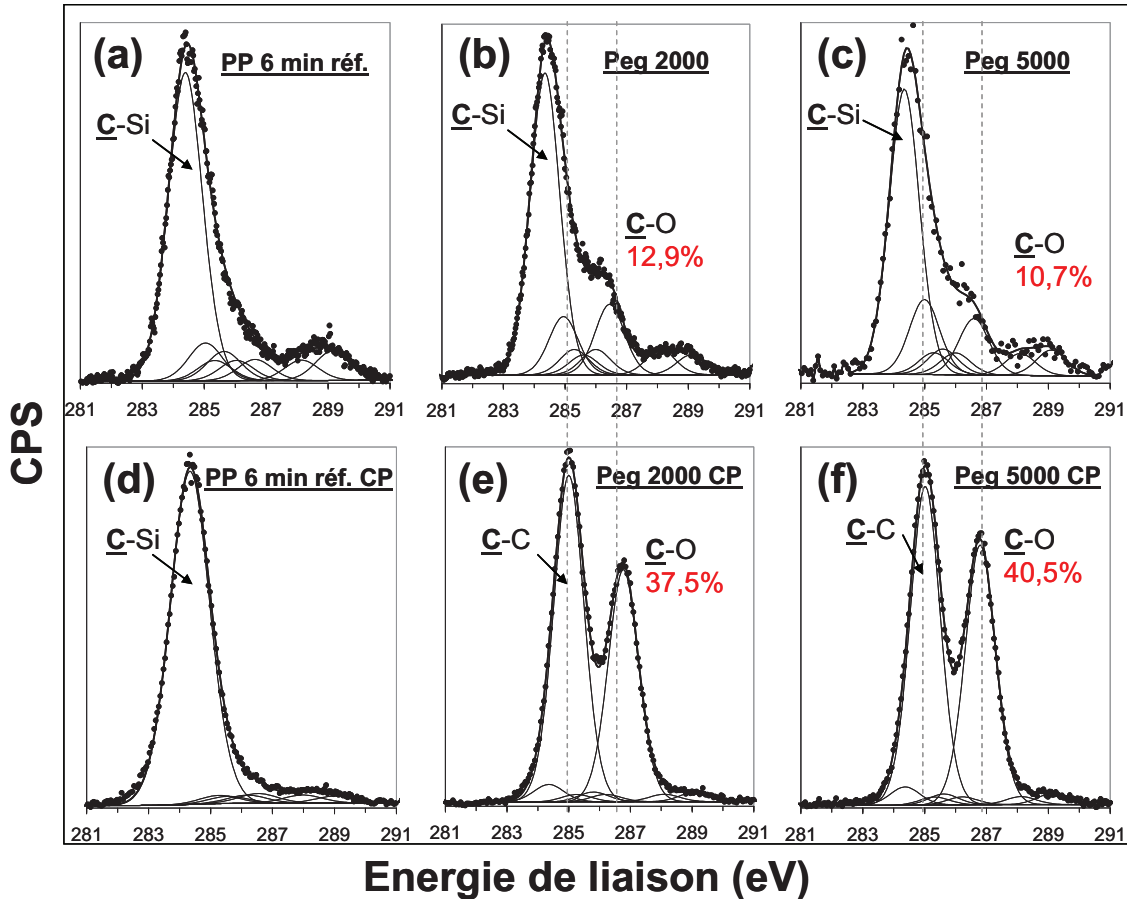


Figure 6.4: Spectres XPS C1(s) haute résolution réalisés sur les substrats de PDMS traités 6 min par polymérisation plasma puis fonctionnalisés avec des amino-Pegs dans des conditions normales (T° ambiante, PBS) (a) Film polymère plasma de référence après activation et rinçage, (b) Peg 2000, (c) Peg 5000 ou dans des conditions de « Cloud Point » (60°C , Na_2SO_4 0,6M) (d) Film polymère plasma de référence placé dans les conditions CP, (e) Peg 2000 CP, (f) Peg 5000 CP

La concentration globale des environnements polaires du polymère plasma correspondant à des atomes de carbone liés à un ou deux atomes d'oxygène (dont les énergies sont situées entre 286 et 289 eV (-COOH, -C-O, -C=O, etc.) est plus faible dans le cas du film de référence soumis aux conditions de « Cloud Point » (Figure 6.4(d)), comparativement à la référence dans les conditions « normales » (Figure 6.4(a)). Cependant, les films fonctionnalisés avec les Pegs dans les conditions de « Cloud Point » présentent une concentration en environnement -C-O significativement plus élevée que dans le cas des conditions « normales » de greffage. Ainsi, la fraction la plus élevée est détectée dans le cas des films fonctionnalisés avec les Pegs 5000 qui présentent une concentration en environnement -C-O de l'ordre de 40% (Figure 6.4(f)) alors que celle-ci est de l'ordre de 11% (Figure 6.4(c)) dans les conditions « normales » de greffage. Ce résultat est en accord avec les mesures de mouillabilité qui montrent que l'angle de contact de l'eau à l'avancée le

plus faible est mesuré dans cas du substrat fonctionnalisé avec les Pegs 5000 dans les conditions de « Cloud Point ». Ainsi, comme nous l'avons suggéré précédemment lors de l'analyse préliminaire des surfaces de silicium fonctionnalisées, l'augmentation de la température et de la concentration en sels divalents conduit à une augmentation drastique du taux de greffage des Pegs de masse moléculaire élevée.

Une seconde modification remarquable de la composition chimique de la surface sur une profondeur d'analyse de 10 nm est observée lorsque les substrats sont modifiés dans les conditions de « Cloud Point ». Comme le montre la Figure 6.4, la composante $\underline{\text{C}}\text{-Si}$ de type PDMS à 284,6 eV est majoritaire dans le cas des substrats fonctionnalisés dans les conditions « normales » de greffage. Lorsque les substrats sont fonctionnalisés dans les conditions de « Cloud Point », cette composante devient quasiment négligeable, celle-ci étant décalée vers une composante $\underline{\text{C}}\text{-C}$ attribuable uniquement au polymère plasma à 285 eV dans le cas des greffages réalisés dans les conditions de « Cloud Point ». Le **Tableau 6.5** présente de manière détaillée le résultat des décompositions des enveloppes C(1s), O(1s), Si(2p) et N(1s) des films fonctionnalisés dans les deux types de conditions. La composante principale de l'enveloppe Si(2p) du silicium est décalée vers des énergies de l'ordre de 102,5 eV de type SiO_xC_y avec $2 < x < 4$ (PDMS oxydé ou « modifié ») lorsque les films sont fonctionnalisés dans les conditions de « Cloud Point ». L'atténuation quasiment totale des composantes $\underline{\text{C}}\text{-Si}$ et $\text{Si}\underline{\text{O}}\text{-Si}$ du PDMS résulte à la fois d'une augmentation du taux de recouvrement et de l'épaisseur des Pegs sur le substrat traité lorsque ceux-ci sont greffés dans les conditions de « Cloud Point ». Cet effet, bien que moins prononcé, a été mentionné et illustré précédemment dans le cas des films fonctionnalisés avec des Pegs dans les conditions normales (voir Figure 4.12).

| Composantes | | PP 6min activé | | PP6min activé CP | | PP6min/ Peg 2000 | | PP6min/ Peg 2000 CP | | PP6min/ Peg 5000 | | PP6min/ Peg 5000 CP | |
|---------------|--|----------------|-------|------------------|-------|------------------|-------|---------------------|-------|------------------|-------|---------------------|-------|
| | | E.L. (eV) | % At. | E.L. (eV) | % At. | E.L. (eV) | % At. | E.L. (eV) | % At. | E.L. (eV) | % At. | E.L. (eV) | % At. |
| C(1s) | $\underline{\text{C}}\text{-Si}$ | 284,3 | 63,2 | 284,3 | 87,3 | 284,3 | 55,1 | 284,3 | 2,8 | 284,3 | 53,4 | 284,3 | 3 |
| | $\underline{\text{C}}\text{-C}$ | 285 | 7,8 | 285 | - | 285 | 10,7 | 285 | 52,8 | 285 | 14,1 | 285 | 40,2 |
| | $\underline{\text{C}}\text{-C(O)NR}$ | 285,3 | 4,2 | 285,3 | 2,1 | 285,3 | 4,7 | 285,3 | 1,2 | 285,3 | 4,1 | 285,3 | 1,3 |
| | $\underline{\text{C}}\text{-C(O)=O}$ | 285,6 | 6 | 285,6 | 1,9 | 285,6 | 3,6 | 285,6 | 1,6 | 285,6 | 4,8 | 285,6 | 1,7 |
| | $\underline{\text{C}}\text{-N}$ | 286,1 | 4,2 | 286,1 | 2,1 | 286 | 4,7 | 286,2 | 1,2 | 286 | 4,1 | 286 | 1,3 |
| | $\underline{\text{C}}\text{-O}$ | 286,6 | 4,3 | 286,5 | 2,5 | 286,5 | 12,9 | 286,7 | 37,5 | 286,6 | 10,7 | 286,6 | 40,5 |
| | $\text{O}\text{-}\underline{\text{C}}\text{-O}/\text{-}\underline{\text{C}}\text{=O}/\underline{\text{C}}\text{(O)NR}$ | 288,1 | 4,2 | 288 | 2,1 | 288,1 | 4,7 | 288,1 | 1,2 | 288,1 | 4,1 | 288,1 | 1,7 |
| | $\text{O}=\underline{\text{C}}\text{-O}\text{-}\underline{\text{C}}\text{=O} / \text{RO}\text{-}\underline{\text{C}}\text{=O}$ | 289,1 | 6 | 289,1 | 1,9 | 289,1 | 3,6 | 289,1 | 1,6 | 289,1 | 4,8 | 289,1 | 1,3 |
| O(1s) | $\text{RNC}=\underline{\text{O}}$ | 530,1 | 2,7 | 530,4 | 4,7 | 530,4 | 4,6 | 530,8 | 5,2 | 530,3 | 4,8 | 530,8 | 2,5 |
| | $\text{Si}\text{-}\underline{\text{O}}\text{-Si} / \underline{\text{O}}\text{=C-O-C}=\underline{\text{O}}$ | 531,9 | 86,5 | 531,9 | 91,1 | 531,9 | 87,2 | - | - | 532 | 84,4 | - | - |
| | $\text{-C}\text{-}\underline{\text{O}}\text{-C}\text{-} / \text{Si}(\underline{\text{O}}\text{x})_{2<x<4}$ | - | - | - | - | - | - | 532,6 | 71,8 | - | - | 532,7 | 96,1 |
| | $\text{O}=\text{C}\text{-}\underline{\text{O}}\text{-C}=\text{O} / \text{RO}\text{-}\underline{\text{C}}\text{=O}$ | 533,8 | 10,7 | 533,5 | 4,1 | 533,3 | 8,3 | 533,2 | 23 | 533,5 | 10,9 | 533,2 | 5,8 |
| Si(2p) | $\underline{\text{Si}}\text{-O-Si}$ (PDMS) | 101,9 | 93,6 | 101,9 | 96,2 | 101,8 | 67,7 | - | - | 101,7 | 65,8 | - | - |
| | $\underline{\text{Si}}(\text{Ox})_{2<x<4}$ | 102,6 | 4,8 | - | - | 102,4 | 32,3 | 102,6 | 95,4 | 102,5 | 34,2 | 102,5 | 98,8 |
| | $\underline{\text{Si}}\text{-O}_2$ (silice) | 104,2 | 1,5 | 103,9 | 3,8 | - | - | 103,9 | 4,6 | - | - | 104,5 | 1,2 |
| N(1s) | $\text{C(O)}\underline{\text{N}}\text{R}$ | 399,8 | 62,4 | 399,9 | 87 | 399,9 | 75,1 | - | - | - | - | - | - |
| | $\underline{\text{N}}\text{H}_3^+ / \underline{\text{O}}\underline{\text{N}}(\text{C}=\text{OR})_2$ | 401,7 | 37,6 | 402,4 | 13 | 402,4 | 24,9 | - | - | - | - | - | - |

Tableau 6.5 : Résultat de la décomposition des enveloppes C(1s), O(1s), Si(2p) et N(1s) des spectres XPS haute résolution réalisés sur les substrats de PDMS fonctionnalisés avec des Pegs 2000 ou 5000, dans les conditions « normales » ou de « Cloud Point »

La fonctionnalisation des films avec des Pegs 2000 ou 5000 dans les conditions de « Cloud Point » permet d'augmenter considérablement la densité de greffage et le taux de recouvrement des Pegs sur la surface. Dans la partie suivante, les tests d'adsorption de protéines seront réalisés en fonction de l'élongation sur les films bi-fonctionnels préparés dans ces conditions.

6.3.3 Influence de l'élongation sur l'adsorption de protéines

La **Figure 6.5** présente les tests d'adsorption de la streptavidine sur les substrats de PDMS fonctionnalisés avec les Pegs 2000 ou 5000 dans les conditions de « Cloud Point » d'une part, et sur les films bi-fonctionnels Peg2000/biotine et Peg5000/biotine préparés dans ces conditions d'autre part.

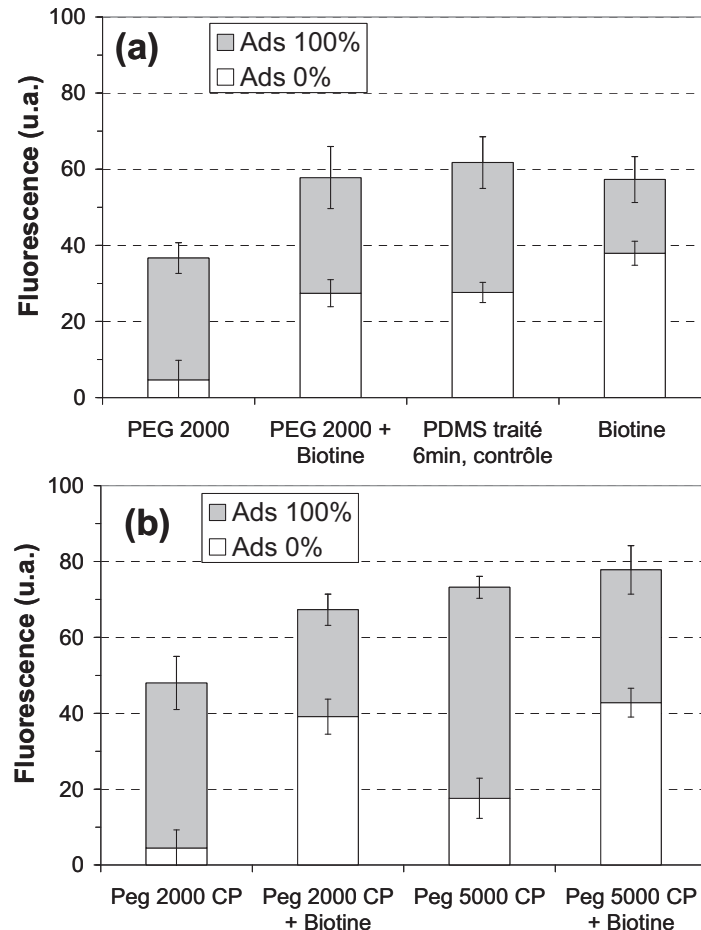


Figure 6.5 : Tests d'adsorption de la streptavidine sur les substrats de PDMS traités 6min par polymérisation plasma puis fonctionnalisés avec des Pegs dans les conditions (a) « normales » ou (b) de « Cloud Point ». Les surfaces bi-fonctionnelles Peg + biotine sont préparées en greffant la Biotine dans les conditions « normales » consécutivement aux Pegs

Les films monofonctionnels de Peg 2000 ou 5000 préparés dans les conditions de « Cloud Point » présentent un comportement similaire que les films correspondants préparés dans les conditions « normales » de greffage (résultats présentés partie 5.2.1.1, Figure 5.9). L'adsorption de la streptavidine est plus faible comparativement au contrôle à l'état relaxé, tandis que l'adsorption augmente significativement sous élongation. Comme nous l'avons observé précédemment dans les conditions « normales » de greffage, les films fonctionnalisés avec les Pegs 2000 présentent l'adsorption la plus faible.

Dans le cas des films bi-fonctionnels Peg2000/biotine ou Peg5000/biotine préparés dans les conditions de « Cloud Point », l'adsorption à l'état relaxé est plus importante que l'adsorption sur les films monofonctionnels. Ce comportement, également observé dans les conditions « normales » de greffage (Figure 6.5(a)), indique qu'au moins une partie de la biotine demeure accessible avant l'élongation du substrat. De plus, sous élongation, l'adsorption supplémentaire mesurée sur les surfaces bi-fonctionnelles est inférieure à l'adsorption correspondante sur les films monofonctionnels ce qui ne permet pas de déterminer si l'adsorption induite par l'élongation est spécifique.

Finalement, si les conditions de « Cloud Point » permettent d'augmenter considérablement le taux de greffage des Pegs sur la surface, comme l'attestent les analyses de mouillabilité et d'XPS, les substrats ainsi fonctionnalisés présentent des comportements similaires en termes d'adsorption de protéines. La quantité relative de streptavidine adsorbée sur la surface est faible à l'état relaxé à cause de la barrière interfaciale non-adsorbante formée par les Pegs tandis que l'adsorption de protéines augmente considérablement sous élongation car le taux de recouvrement des Pegs n'est plus suffisant pour établir cette barrière interfaciale. La similitude des comportements observés pour des densités de greffage différentes suggère que l'augmentation de la densité de greffage obtenue dans les conditions de « Cloud Point » se produit au niveau de régions de la surface présentant une densité importante de groupements réactifs (« patches »). La **Figure 6.6** illustre ce modèle de répartition des Pegs sur le substrat, et les conséquences en termes d'adsorption de protéines en fonction de l'élongation.

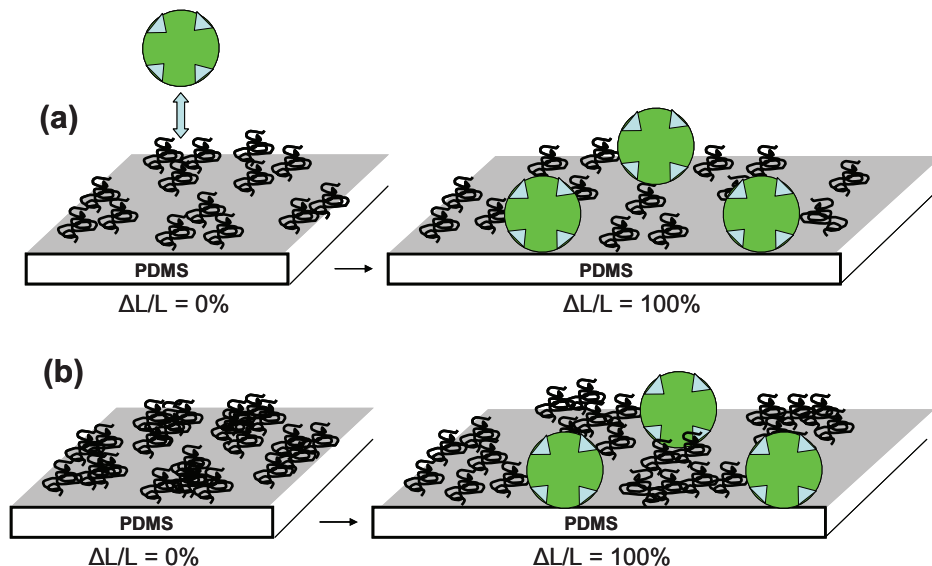


Figure 6.6 : Schéma illustrant l'hypothèse de répartition hétérogène « patches » des Pegs sur le substrat en fonction du taux d'élongation, selon les deux types de conditions de greffage (a) Conditions « normales », taux de greffage faible (b) Conditions de « Cloud Point », taux de greffage élevé

Lorsque le substrat est à l'état relaxé, les patchs sont suffisamment proches les uns des autres pour créer une barrière interfaciale empêchant l'adsorption des protéines, et ce pour des densités faibles ou élevées de Pegs au sein des « patchs ». Sous élongation, les patchs s'éloignent les uns des autres et la surface devient alors accessible pour les protéines. Selon ce modèle, les « patchs » s'éloignent les uns des autres lors de l'élongation du substrat, mais la question de la dilution des Pegs au sein des « patchs » reste en suspens.

Par ailleurs, un modèle de répartition homogène des groupements réactifs sur la surface paraît ici moins probable. En effet, la densité moyenne de groupements acides est faible (l'angle de contact de l'eau sur le PDMS traité 6 min est élevée, de l'ordre de 100°) alors que les conditions de « Cloud Point » permettent tout de même d'augmenter considérablement la densité de greffage, ce qui suggère fortement que le substrat présente localement des régions avec des densités élevées de groupements réactifs.

Enfin, les résultats montrent que l'augmentation de la densité des Pegs greffés dans les conditions de « Cloud Point » ne conduit pas au masquage de la Biotine. Soit la biotine est greffée en dehors des « patchs » riches en Pegs, soit la biotine est greffée au sein des « patchs » mais dans tous les cas de figure, dans ces conditions, son affinité pour la streptavidine est plus forte que la répulsion stérique des Pegs. Rappelons que les résultats obtenus sur les surfaces de silicium fonctionnalisés avec les systèmes bi-fonctionnels Peg/biotine ont montré qu'au moins une partie de la biotine est accessible, bien que la densité de Pegs soit élevée. Mais ces résultats n'excluent pas le fait qu'une proportion de la biotine puisse être effectivement masquée.

Nous avons montré précédemment, dans le cas des conditions « normales » de greffage que l'addition d'une étape de greffage des Pegs, lorsque le substrat est étiré, permet de diminuer l'adsorption non-spécifique des substrats sous étirement (voir partie 5.2.2.2, Figure 5.12). Nous avons reproduit ici cette méthode dans le cas des Peg 2000 CP en ajoutant une étape de greffage des Peg (25°C, Na₂SO₄ 0,6M) lorsque le substrat est maintenu sous élongation. La **Figure 6.7** présente les résultats des tests d'adsorption de protéines réalisés sur ces substrats.

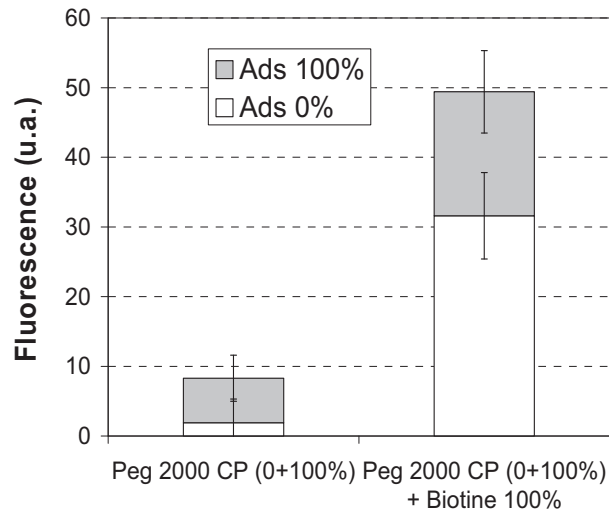


Figure 6.7 : Tests d'adsorption de la streptavidine sur les films bi-fonctionnels Peg 2000/biotine. Les Pegs 2000 sont préalablement greffés dans les conditions de « Cloud Point » sur le substrat à l'état relaxé (0%, 0,6M Na₂SO₄, 60°C) puis étiré (100%, 0,6M Na₂SO₄, 25°C), la biotine est greffée ensuite dans les conditions « normales » sur le substrat à l'état étiré (100%). Les résultats sont comparés à la référence correspondant au film monofonctionnel Peg 2000 (0+100%) sans biotine

Nous remarquons que l'étape de greffage sous élongation permet encore une fois de réduire de manière considérable l'adsorption supplémentaire sous élongation du film monofonctionnel de Peg 2000. Mais la surface bi-fonctionnelle obtenue après le greffage de la biotine sous élongation présente une adsorption élevée à l'état relaxé, ce qui indique qu'une fraction importante de biotine demeure accessible avant élongation. Cependant, bien que plus faible que la première adsorption, l'adsorption sous élongation est plus élevée que celle de la référence (sans biotine), ce qui suggère qu'une fraction de la seconde adsorption est spécifique.

Ainsi, dans ces conditions, les plus favorables en termes de densité de Pegs, le masquage de la biotine n'est pas assuré.

7 Conclusion

Dans ce chapitre, il est montré qu'il est possible de fonctionnaliser le substrat de PDMS traité par polymérisation plasma par le greffage covalent d'amines primaires. Les Pegs et la biotine sont greffés en milieux aqueux, en présence d'EDC/NHS. Les résultats montrent que la fonctionnalisation du substrat avec les Pegs permet de diminuer l'adsorption non spécifique de la streptavidine. En particulier, les meilleurs résultats sont obtenus avec les Pegs 2000. Par ailleurs, ces films présentent une augmentation significative de l'adsorption

non spécifique sous élongation, ce qui suggère que dans ces conditions les Pegs ne forment plus une barrière interfaciale suffisante pour s'opposer à l'adsorption de protéines sur le substrat. De manière opposée, la fonctionnalisation du film avec la biotine permet d'augmenter la quantité relative de protéines adsorbée comparativement aux films non fonctionnalisés.

Des films bi-fonctionnels sont obtenus en réalisant le greffage successif des Pegs et de la biotine. L'idée est masquer la biotine avec les Pegs lorsque le substrat se trouve à l'état relaxé, puis de rendre ces récepteurs accessibles pour la streptavidine lors de l'élongation du substrat. Cependant, les résultats montrent que, dans les conditions utilisées dans travaux, la biotine est accessible avant élongation du substrat. De plus, la majorité de l'adsorption supplémentaire mesurée sous élongation est de nature non spécifique. Le greffage des Pegs dans les conditions de « Cloud Point » (i.e. température et concentration en sels élevées) conduit à une augmentation significative du taux de greffage des Pegs, mais cette amélioration demeure insuffisante pour masquer la biotine. Finalement, le greffage des Pegs lorsque le substrat est maintenu sous élongation permet de réduire l'adsorption non spécifique sous élongation mais la biotine demeure accessible avant élongation. Le concept de reconnaissance moléculaire activé par un stimulus mécanique n'a donc pas pu être démontré dans cette étude. Dans le chapitre suivant les différents facteurs de limitation du système seront discutés et des perspectives d'amélioration seront proposées.

8 Références

- ¹ B.D. Ratner, *New ideas in Biomaterials Science-a Path to Engineered Biomaterials*, J. Biomed. Mater. Res. **1993**, 27, 837-850.
- ² P. Kingshott, H.J. Griesser, *Surfaces that Resist Bioadhesion*, Curr. Opinions Sol. State Mater. Sci. **1999**, 4, 403-412.
- ³ S.L. McArthur, K.M. McLean, P. Kingshott, H.A.W. St. John, R.C. Chatelier, H.J. Griesser, *Effect of Polysaccharide Structure on Protein Adsorption*, Colloids Surf B: Biointerfaces **2000**, 17, 37-48.
- ⁴ L. Ruiz, J.G. Hilborn, D. Léonard, H.J. Mathieu, *Synthesis Structure and Surface Dynamics of Phosphorylcholine Functional Biomimicking Polymers*, Biomaterials **1998**, 19, 987-998.
- ⁵ P. Harder, M. Grunze, R. Dahint, G.M. Whitesides, P.E. Laibinis, *Molecular Conformation in Oligo(ethylene glycol)-Terminated Self-Assembled Monolayers on Gold And Silver Surfaces Determines Their Ability to Resist Protein Adsorption*, J. Phys. Chem. B **1998**, 102, 426-436.
- ⁶ S.I. Jeon, J.H. Lee, J.D. Andrade, P.G. deGennes, *Protein-Surface Interactions in the Presence of Polyethylene Oxide, I. Simplified Theory*, J. Coll. Interface Sci. **1991**, 142, 149-158.
- ⁷ K.L. Prime, G.M. Whitesides, *Adsorption of Proteins onto Surfaces Containing End-Attached Oligo(ethylene oxide): A Model System using Self-Assembled Monolayers*, J. Am. Chem. Soc. **1993**, 115, 10714-10621.
- ⁸ M. Malmsten, K. Emoto, J. M. Van Alstine, *Effect of Chain Density on Inhibition of Protein Adsorption by Poly(ethylene glycol) Based Coatings*, J. Coll. Interface Sci. **1998**, 202, 505-517.
- ⁹ M. Erol, H. Du, S. Sukhishvili, *Control of Specific Attachment of Proteins by Adsorption of Polymer Layers*, Langmuir **2006**, 22, 11329-11336.
- ¹⁰ N. Xian Y. Hu, D.W. Grainger, D.G. Castner, *Functionalized Poly(ethylene glycol)-Grafted Polysiloxane Monolayers for Control of Protein Binding*, Langmuir **2002**, 18, 3255-3262
- ¹¹ S. Pasche, J. Vörös, H.J. Griesser, N.D. Spencer, M. Textor, *Effects of Ionic Strength and Surface Charge on Protein Adsorption at PEGylated Surfaces*, J. Phys. Chem. B **2005**, 109, 17545-17552.
- ¹² S. Lee, N.D. Spencer, *Adsorption Properties of Poly(L-lysine)-graft_poly(ethylene glycol) (PLL-g-Peg) at a Hydrophobic Interface: Influence of Tribological Stress, pH, Salt Concentration, and Polymer Molecular Weight*, Langmuir **2008**, 24, 9479-9488.
- ¹³ C.D. Heyes, J. Groll, M. Möller, G.U. Nienhaus, *Synthesis, patterning and applications of Star-shaped Poly(ethylene glycol) Biofunctionalized Surfaces*. Mol. BioSyst. **2007**, 3, 419-430.

- ¹⁴ S.R Benhabbour, H. Sheardown, A. Adronov, *Protein Resistance of PEG-functionalized Dendronized Surfaces: Effect of PEG Molecular Weight and Dendron Generation*. *Macromolecules* **2008**, *41*, 4817–23.
- ¹⁵ Z. Zhang, B. Menges, R.B. Timmons, W. Knoll, R. Förch, *Surface Plasmon Resonance Studies of Protein Binding on Plasma Polymerized Di(ethylene glycol) Monovinyl Ether Films*, *Langmuir* **2003**, *19*, 4765-4770.
- ¹⁶ S. Belegriinou, I. Manneli, P. Lisboa, F. Bretagnol, A. Valsesia, G. Ceccone, P. Colpo, H. Rauscher, F. Rossi, *pH-Dependent Immobilization of Proteins on Surfaces Functionalized by Plasma-Enhanced Chemical Vapor Deposition of Poly(acrylic acid) and Poly(ethylene oxide)-like Films*, *Langmuir* **2008**, *24*, 7251-7261.
- ¹⁷ P.G. deGennes, *Polymers at an Interface: a Simplified View*, *Adv. Coll. Interface Sci.* **1987**, *27*, 189-209.
- ¹⁸ A.K. Kenworthy, K. Hristova, D. Needham, T.J. McIntosh, *Range and Magnitude of the Steric Pressure Between Bilayer Containing Phospholipids with Covalently Attached Poly(ethylene glycol)*, *Biophys. J.* **1995**, *68*, 1921-1936.
- ¹⁹ N.M. Green, *The Nature of the Biotin binding site*, *Biochem. J.* **1963** *89*, 599-609.
- ²⁰ J. Knappe, *Mechanism of Biotin Action*, *Annu. Rev. Biochem.* **1970**, *39*, 757-776.
- ²¹ A. Holmberg, A. Biomstergren, O. Nord, M. Lukacs, J. Lundeberg, M. Uhlén, *The Biotin-Streptavidin Interaction can be Reversibly Broken Using Water at Elevated Temperatures*, *Electrophoresis* **2005**, *26*, 501-510.
- ²² M. Wilchek, E.A. Bayer, *The Avidin-Biotin Complex in Bioanalytical Applications*, *Analyt. Biochem.* **1988**, *171*, 1-32.
- ²³ M. Levi, E. Sparvoli, S. Sgorbati, D. Chiantante, *Biotin-Streptavidin Immunofluorescent Detection of DNA Replication in Root Meristems through Brd Urd Incorporation: Cytological and Microfluorimetric Applications*, *Physiol. Plant.* **1990**, *79*, 231-235.
- ²⁴ R. Armstrong, V.L. Friedrich, K.V. Holmes, M. Dubois-Dalcq, *In vitro Analysis of the Oligodendrocyte Lineage in Mice during Demyelination and Remyelination*, *J. Cell Biol.* **1990**, *111*, 1183-1195.
- ²⁵ R. P. Haugland, W. W. You, *Coupling of Antibodies with Biotin*, *The Protein Protocols Handbook*, 2nd Edition, Edited by J.M. Walker, Humana Press Inc., Totowa, NJ
- ²⁶ R. Heuberger, G. Sukhorukov, J. Vörös, M. Textor, H. Möhwald, *Biofunctional Polyelectrolyte Multilayers and Microcapsules: Control of Non-Specific and Bio-Specific Protein Adsorption*, *Adv. Funct. Mater.* **2005**, *15*, 357-366.
- ²⁷ C. D. Heyes, J. Groll, M. Möller, G. U. Nienhaus, *Synthesis, Patterning and Applications of Star-shaped Poly(ethylene glycol) Biofunctionalized Surfaces*, *Mol. BioSyst.*, **2007**, *3*, 419 - 430
- ²⁸ S. Herrwerth, T. Rosendahl, C. Feng, J. Fick, W. Eck, M. Himmelhaus, R. Dahint, M. Grunze, *Covalent Coupling of Antibodies to Self-Assembled Monolayer of Carboxy-*

Functionalized Poly(ethyleneglycol) : Protein Resistance and Specific Binding of Biomolecules, Langmuir **2003**, 19, 1880-1887.

²⁹ N. W. Moore, T. L. Kuhl, *Bimodal Polymer Mushrooms: Compressive Forces and Specificity toward Receptor Surfaces*, Langmuir **2006**, 22, 2485-8491.

³⁰ D. H. Kim, A. L. Klibanov, D. Needham, *The Influence of Tiered Layers of Surface-Grafted Poly(ethylene glycol) on Teceptor-Ligand Mediated Adhesion between Phospholipid Monolayer-Stabilized Microbubbles and Coated Glass Beads*, Langmuir **2000**, 16, 2808-2817.

³¹ K. E. Nelson, L. Gamble, L. S. Jung, M. S. Boeckl, E. Naeemi, S.L. Golledge, T. Sasaki, D. G. Castner, C. T. Campbell, P. S. Stayton, *Surface Characterization of Mixed Self-Assembled Monolayers Designed for Streptavidin Immobilization*, Langmuir **2001**, 17, 2807-2816.

³² D. A. Noppl-Simson, D. Needham, *Avidin-Biotin Interactions at Vesicle Surfaces: Adsorption and Binding, Cross-Bridge Formation and Lateral Interactions*, Biophys. J. **1996**, 70, 1391-1401.

³³ A.K. Kenworthy, K. Hristova, T.J. McIntosh, D. Needham, *Range of Magnitude of the Steric Pressure Between Bilayers Containing Lipids with Covalently Attached Polyethylene Glycol*, Biophys. J. **1995**, 68, 1921-1926.

³⁴ T. Kaasgaard, O. G. Mouritsen, K. Jørgensen, *Screening effect of PEG on Avidin Binding to Liposome Surface Receptors*, Int. J.of Pharm. **2001**, 214, 63-65.

³⁵ A. Chilkoti, B.D. Ratner, D. Briggs, *Plasma-Deposited Polymeric Films Prepared from Carbonyl-Containing Volatile Precursors: XPS Chemical Derivatization and Static SIMS Surface Characterization*, Chem. Mater. **1991**, 3, 51-61.

³⁶ S. A. Evenson, C.A. Fail, J.P.S. Badyal, *Controlled Monomolecular Functionalization and Adhesion of Solid Surfaces*, Chem. Mater. **2000**, 12, 3038-3043

³⁷ J.V. Staros, R.W. Wright, D.M. Swingle, *Enhancement by N-hydroxysulfosuccinimide of water-soluble carbodiimide-mediated coupling reactions*, Anal. Biochem. **1986** 156, 220-222.

³⁸ N. Nakajima, Y. Ikada, *Mechanism of Amide Formation by Carbodiimide for Bioconjugation in Aqueous Media*, Bioconjugate. Chem. **1995**, 6, 125-130.

³⁹ T. Pompe, S. Zschoche, N. Herold, K. Salchert, M.-F. Gouzy, C. Sperling, C. Werner, *Maleic Anhydride Copolymers – A Versatile Platform for Molecular Biosurface Engineering*, Biomacromolecules, **2003**, 4, 1072–1079.

⁴⁰ A. N. Chifen, R. Förch, W. Knoll, P. J. Cameron, H. L. Khor, T. L. Williams, A.T. A. Jenkins, *Attachment and Phospholipase A2-Induced Lysis of Phospholipid Bilayer Vesicles to Plasma-Polymerized Maleic Anhydride/SiO₂ Multilayers*, Langmuir **2007**, 23, 6294-6298.

⁴¹ H. C. Kolb, M. G. Finn, K. B. Sharpless, *Click Chemistry: Diverse Chemical Function from a Few Good Reactions*, Angew. Chem. Int. Ed. **2001**, 40, 2004-2021.

⁴² W. H. Binder, R. Sachsenhofer, *‘Click’ Chemistry in Polymer and Materials Science*, Macromol. Rapid Commun. **2007**, 28, 15-54

- ⁴³ D.E. Bergbreiter, S.B. Chance, "Click"-based covalent layer-by-layer assembly on polyethylene using water-soluble polymeric reagents, *Macromolecules* **2007**, *40*, 5337-5343.
- ⁴⁴ S. Schiller, J. Hu, A. T. A. Jenkins, R. B. Timmons, F. S. Sanchez-Estrada, W. Knoll, R. Förch, *Chemical Structure and Properties of Plasma-Polymerized Maleic Anhydride Films*, *Chem. Mater.* **2002**, *14*, 235–242.
- ⁴⁵ A. Reisch, J. Hemmerlé, J.C. Voegel, E. Gauthier, G. Decher, N. Benkirane-Jessel, A. Chassepot, D. Mertz, P. Lavallo, P. Mésini, P. Schaaf, *Polyelectrolyte Multilayer Coatings that Resist Protein Adsorption at Rest and Under Stretching*, *J. Mater. Chem.* **2008**, *18*, 4242-4245.
- ⁴⁶ M. R. Alexander, P. V. Wright, B. D. Ratner, *Trifluoroethanol Derivatization of Carboxylic Acid-containing Polymers for Quantitative XPS Analysis*, *Surf. Interface Anal.* **1996**, *24*, 217-220.
- ⁴⁷ J.M. Yang, H.T. Lin, T.H. Wu, C.C. Chen, *Wettability and Antibacterial Assessment of Chitosan Containing Radiation-induced Graft Nonwoven Fabric of Polypropylene-g-acrylic acid*. *J. Appl. Polym. Sci.* **2003**, *90*, 1331-1336.
- ⁴⁸ N. Medart, J.-C. Soutif, F. Poncin-Epaillard, *Characterization of CO₂ Plasma-Treated Polyethylene Surface Bearing Carboxylic groups*. *Surf Coat Technol* **2002**, *160*, 197-205.
- ⁴⁹ V.B. Ivanov, J. Benish, A. Hollander, F. Mehdorn, H. Zimmermann, *Determination of Functional Groups on Polymer Surfaces using Fluorescence Labelling*. *Surf. Interface Anal.* **1996**, *24*, 257-262.
- ⁵⁰ R.C. Chatelier, T.R. Gengenbach, Z.R. Vasic, H.J. Griesser, *Covalent Attachment and Non-specific Binding of Reactive Probe Molecules onto Surfaces*, *J. Biomater. Sci. Polym. Ed.* **1995**, *7*, 601-622.
- ⁵¹ J. Carlsson, H. Drevin, R. Axén, *Protein Thiolation and Reversible Protein-Protein Conjugation*, *Biochem. J.* **1978**, *173*, 723-737.
- ⁵² M. Ghasemi, M. Minier, M. Tatoulian, F. Arefi-Khonsari, *Determination of Amine and Aldehyde Surface Densities: Application to the Study of Aged Plasma Treated Polyethylene Films*, *Langmuir* **2007**, *23*, 11554-11561
- ⁵³ G. Theodoridis, M. A. Lontou, F. Michopoulos, M. Sucha, T. Gondova, *Study of multiple solid-phase microextraction combined off-line with high performance liquid chromatography: Application in the analysis of pharmaceuticals in urine*, *Analytica Chimica Acta* **2004**, *516*, 197-204
- ⁵⁴ M. W. Toepke, D. J. Beebe, *PDMS Adsorption of Small Molecules and Consequences in Microfluidic Applications*, *Lab Chip* **2006**, *6*, 1484-1486
- ⁵⁵ M.R. Alexander, T.M. Duc, *A Study of the Interaction of Acrylic Acid/1,7-Octadiène Plasma Deposits with Water and Other Solvents*, *Polymer* **1999**, *40*, 5479-5488.
- ⁵⁶ S. J. Sofia, V. Premnath, E. W. Merrill, *Poly(ethylene oxide) Grafted to Silicon Surfaces: Grafting Density and Protein Adsorption*, *Macromolecules* **1998**, *31*, 5059-5070

- ⁵⁷ P. G. de Gennes, *Conformations of Polymers Attached to an Interface*, *Macromolecules* **1980**, *13*, 1069-1075
- ⁵⁸ A. Kopf, J. Baschnagel, J. Wittmer, K. Binder, *On the Adsorption Process in Polymer Brushes: A Monte Carlo Study*, *Macromolecules* **1996**, *29*, 1433-1441.
- ⁵⁹ K. C. Popat, S. Sharma, T. A. Desai, *Quantitative XPS Analysis of PEG-Modified Silicon Surfaces*, *J. Phys. Chem. B* **2004**, *108*, 5185-5188.
- ⁶⁰ L. D. Unsworth, H. Sheardown, J.L. Brash, *Protein Resistance of Surfaces Prepared by Sorption of End-Thiolated Poly(ethylene glycol) to Gold: Effect of Surface Chain Density*, *Langmuir* **2005**, *21*, 1036-1041
- ⁶¹ A. Papra, N. Gadegaard, N. B. Larsen, *Characterization of Ultrathin Poly(ethylene glycol) Monolayers on Silicon Substrates*, *Langmuir* **2001**, *17*, 1457-1460.
- ⁶² J. Spinke, M. Liley, F.J. Schmitt, H.J. Guder, L. Angermaier, W. Knoll, *Molecular Recognition at Self-Assembled Monolayers: Optimization of Surface Functionalization*, *J. Chem. Phys.* **1993**, *99*, 7012-7019
- ⁶³ J.P. Collmann, N.K. Devaraj, T.P.A. Eberspacher, C.E.D. Chidsey, *Mixed Azide-Terminated Monolayers : A Platform for Modifying Electrode Surfaces*, *Langmuir* **2006**, *22*, 2457-2464.
- ⁶⁴ K Emoto, J.M.Harris, J.M. Van Alstine *Grafting of Poly(ethyleneglycol) Epoxide to Amino-Derivatized Quartz : Effect of Temperature and pH on Grafting Density*, *Anal. Chem.* **1996**, *68*, 3751-3757.
- ⁶⁵ M. Malmsten, K. Emoto, J.M. Van Alstine, *Effect of Chain Density on Inhibition of Protein Adsorption by Poly(ethylene glycol) Based Coating*, *J. Coll. Interface Sci.* **1998**, *202*, 507-517.
- ⁶⁶ P. Kingshott, H. Thissen, H.J. Griesser, *Effects of Cloud-Point Grafting, Chain Length, and Density of PEG Layers on Competitive Adsorption of Ocular Proteins*, *Biomaterials* **2002**, *23*, 2043-2056.

CHAPITRE 5

LIMITES ET PERSPECTIVES

| | | |
|----------|--|------------|
| 1 | SYNTHESE DES PRINCIPAUX RESULTATS | 234 |
| 2 | FACTEURS DE LIMITATION ET PERSPECTIVES D'AMELIORATION | 235 |
| 2.1 | Substrat de PDMS | 235 |
| 2.2 | Distribution des groupements réactifs sur le substrat..... | 236 |
| 2.3 | Stratégie de préparation des films bi-fonctionnels..... | 239 |
| 2.4 | Méthode de détection | 243 |
| 2.5 | Le système récepteur/ligand..... | 246 |
| 3 | REFERENCES | 250 |

1 Synthèse des principaux résultats

Rappelons que l'objectif de ce travail était de développer une surface adaptative répondant à un stimulus mécanique. Ce matériau doit permettre de contrôler l'accessibilité de sites spécifiques de surface en fonction de l'élongation macroscopique du substrat.

La stratégie d'élaboration mise au point dans ce travail consiste (i) à traiter un substrat élastique de PDMS par polymérisation plasma afin d'y introduire des groupements réactifs (ii) à fonctionnaliser cette « plate-forme » par le greffage covalent de Pegs linéaires et de biotine.

L'idée est de masquer la Biotine avec les Pegs lorsque le substrat est à l'état relaxé, puis de promouvoir le démasquage des sites spécifiques sous élongation. Dans ce but, le matériau doit répondre à plusieurs critères :

- L'élongation macroscopique du substrat doit permettre de promouvoir la séparation (dilution) homogène des groupements réactifs de surface, à une échelle locale.
- Les conditions de greffage doivent conduire au masquage de la biotine par les Pegs.
- La biotine doit être démasquée sous élongation.

La densité et la distribution surfacique des groupements réactifs sur le substrat, le taux de greffage et le recouvrement des Pegs sur la surface, ainsi que l'homogénéité de l'élongation du substrat à l'échelle locale constituent les paramètres clé du système.

Les résultats montrent que l'élongation du substrat de PDMS traité 6 min par polymérisation plasma conduit à la « dilution » des groupements réactifs de surface. Par ailleurs, la fonctionnalisation du substrat avec des chaînes de Pegs greffées de manière covalente sur ces sites réactifs conduit à une diminution de l'adsorption non-spécifique de la streptavidine sur le substrat. Les meilleurs résultats sont obtenus avec les Pegs 2000, probablement en raison d'un meilleur recouvrement de la surface. Lorsque le substrat est étiré à un taux d'élongation de 100%, l'adsorption (non-spécifique) augmente significativement car la barrière interfaciale formée par les Pegs n'est plus suffisante pour masquer le substrat. Cependant, dans le cas de films bi-fonctionnels Peg/biotine, les sites spécifiques de biotine sont accessibles avant l'élongation du substrat, ce qui indique que la barrière interfaciale formée par les Pegs n'est pas suffisante pour s'opposer à la forte affinité de la biotine et de la streptavidine. Nous avons émis l'hypothèse que la densité de greffage des Pegs est insuffisante pour masquer la biotine. Les conditions de greffage de « Cloud Point » permettent d'augmenter significativement cette densité de greffage, mais le comportement des films en termes d'adsorption de streptavidine sous élongation demeure équivalent à celui observé sur les films présentant une faible densité de groupements. L'addition d'une étape de greffage des Pegs sous élongation semble permettre de réduire

l'adsorption non-spécifique des films sous élongation, mais la majeure partie de la biotine demeure accessible avant l'élongation du substrat.

Dans ces conditions, le système semble montrer ses limites. Celles-ci peuvent trouver leur origine à différents niveaux du matériau : le substrat de PDMS, le traitement court par polymérisation plasma, la stratégie de fonctionnalisation et le choix du système récepteur/ligand. Dans la partie suivante, nous allons revenir sur l'ensemble de ces limites afin d'essayer de comprendre pourquoi la stratégie développée dans ce travail ne permet pas, en l'état actuel des choses, d'atteindre l'objectif visé. En outre, des solutions alternatives, envisageables dans le cadre de travaux futurs seront également proposées.

2 Facteurs de limitation et perspectives d'amélioration

2.1 Substrat de PDMS

Quelle que soit la distribution des groupements réactifs sur le substrat après le traitement de 6 min par polymérisation plasma, homogène ou hétérogène, il se pose également la question de l'élongation du substrat de PDMS à l'échelle locale. Considérons en premier lieu le substrat de PDMS non traité. Deux facteurs peuvent affecter la distribution locale de la déformation de l'élongation du substrat:

- La contraction du substrat dans la direction perpendiculaire à la direction d'élongation (le PDMS est incompressible en première approximation, le coefficient de poisson est de 0,5)
- La présence de charges renforçantes de silice (« fillers ») : les zones de polymère entre les agglomérats de particules sont davantage étirées qu'au niveau des agglomérats (effet Mullins).

L'élongation triaxiale du substrat permet probablement de réduire, « en moyenne » les effets de la contraction du substrat observés dans le cas d'une élongation uni-axiale mais la répartition locale de la déformation n'a pas été déterminée dans le cadre de ces travaux. La méthode mise au point par Genzer et al¹ permet d'accéder à cette information par spectroscopie NEXAFS (Combinatorial Near-Edge Adsorption Fine Structure) à partir de la cartographie de l'intensité d'émission électronique de monocouches fluorées uniformément greffées sur le substrat.

En ce qui concerne l'influence des charges, les travaux de Clément et al² décrivent l'évolution de la répartition des particules de silice lors de l'élongation uni-axiale d'un substrat élastomère de silicone. Les deux principales conclusions de cette étude réalisée par AFM sont les suivantes : (i) la distribution de la déformation est très hétérogène et dépend de la concentration locale de charges et (ii) la déformation la plus importante au niveau de

l'élastomère est observée dans les régions où la distance entre les agrégats de silice est la plus courte.

Ces deux effets liés au caractère incompressible et composite du substrat d'une part, et aux conditions d'élongation (dispositif, taux d'élongation) d'autre part, n'ont pas pu être quantifiés dans le cadre de ces travaux mais doivent être pris en compte pour la compréhension du comportement du système sous élongation.

2.2 Distribution des groupements réactifs sur le substrat

Dans le premier chapitre, nous avons montré qu'un traitement de 6 min du substrat de PDMS par polymérisation plasma permet d'introduire des groupements anhydride réactifs dans une matrice de PDMS partiellement oxydé. Dans ces conditions, la concentration surfacique de groupements réactifs est faible mais la surface ne présente pas de craquelures sous élongation. Dans le second chapitre, les propriétés acide-base caractéristiques des groupements acide du polymère plasma nous ont permis de mettre en évidence la dilution de ces groupements lors de l'élongation macroscopique du substrat. Par ailleurs, la fonctionnalisation des films avec les Pegs permet de réduire l'adsorption de la streptavidine dont le rayon est de l'ordre de 5 nm, ce qui suggère que la distance moyenne maximale entre les sites réactifs est de l'ordre de quelques nanomètres. Lors de l'élongation du substrat, l'adsorption augmente significativement. Ce comportement sous élongation est attribué à la dilution des Pegs, le substrat étant alors accessible pour les protéines. Enfin, l'augmentation significative de la densité de Pegs lors du greffage dans les conditions de « Cloud Point » suggère que le substrat de PDMS traité 6 min présente localement des zones de fortes densités de groupements réactifs (« patches »).

Ainsi, sous élongation, les hétérogénéités chimiques liées au traitement du substrat par polymérisation plasma s'additionnent à la déformation non-homogène du substrat de PDMS. Mais les hétérogénéités chimiques générées par le traitement du substrat sont-elles liées à la présence de charges au sein du substrat de PDMS ?

En premier lieu, si les hétérogénéités sont d'origine statistique, les zones riches en groupements réactifs « patches » sont réparties aléatoirement, indépendamment de la présence des charges (initialement recouvertes d'une couche de polymère).

A l'opposé, si les hétérogénéités sont liées à la présence des charges, les « patches » riches en groupements réactifs présentent une distribution similaire à la distribution des agglomérats de charges ou des zones riches en polymère. Ce phénomène est envisageable si l'ablation de la couche de polymère recouvrant les charges (probablement quelques nanomètres d'épaisseur) est suffisante pour révéler les charges ou une partie de leurs propriétés. En effet, les mécanismes de croissance du film polymère plasma diffèrent en

fonction de la chimie de surface et des propriétés mécaniques du substrat (rigidité). Dans le premier chapitre, nous avons mis en évidence des changements de rugosité liés à l'ablation et à la surréticulation de la couche de polymère recouvrant les charges. Ainsi, il est possible que la croissance du polymère plasma, et par conséquent la densité d'anhydride maléique, diffère entre les zones riches en charges et les zones riches en polymères. La **Figure 2.1** schématise différentes évolutions possibles de la répartition des « patches » lors de l'élongation du substrat, selon que celle-ci soit liée ou non aux hétérogénéités (agrégats de charges) du substrat de PDMS.

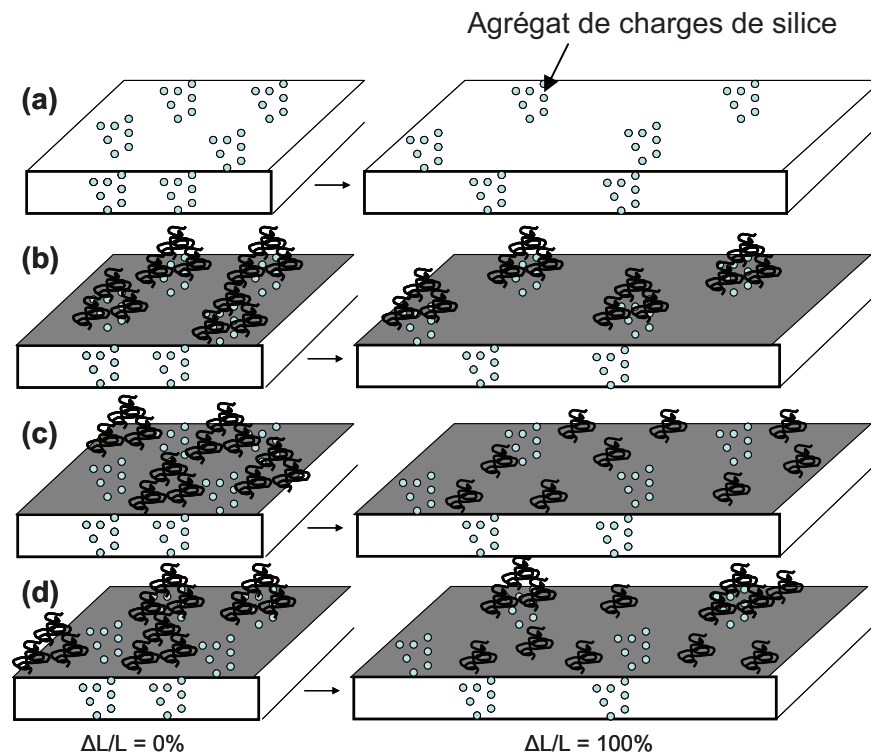


Figure 2.1 : Schéma décrivant l'évolution de la répartition des « patches » de Pegs lors de l'élongation du substrat, en fonction de la localisation des groupements réactifs du polymère plasma, (a) PDMS chargé non traité, (b) groupements réactifs au niveau des charges, (c) groupements réactifs au niveau de la matrice de PDMS, (d) groupements réactifs aléatoirement répartis sur le substrat

Si la densité de groupements réactifs est plus importante au niveau des agrégats, les « patches » se séparent les uns des autres mais la séparation des groupements au sein des patches est faible lors de l'élongation du substrat (Figure 2.1(b)). Au contraire, si la densité de groupements est plus importante au niveau de la matrice de PDMS, c'est la séparation des groupements au sein des « patches » qui est favorisée sous élongation (Figure 2.1(c)). Enfin, dans le cas d'une répartition statistique des « patches » sur le substrat, les groupements se

séparent les uns des autres dans la matrice polymère tandis que ceux-ci demeurent compacts au niveau des agrégats ((Figure 2.1(d)).

La répartition surfacique des hétérogénéités chimiques à l'échelle locale n'est pas accessible dans le cadre de cette étude, et par conséquent l'influence réelle des charges sur la croissance du film n'est pas résolue. Rappelons cependant que les dimensions des agrégats de charges et des zones riches en polymères sont de l'ordre de quelques centaines de nanomètres, alors que la dimension des protéines dont on souhaite contrôler l'adsorption est de l'ordre de quelques nanomètres. Or le greffage des Pegs ($R_F \sim$ quelques nanomètres) conduit à une réduction globale de l'adsorption des protéines. Aussi les groupements réactifs ne peuvent pas être exclusivement répartis au niveau des agrégats ou de la matrice polymère, car dans ce cas les espaces entre les « patches » de Pegs seraient grands devant la taille des protéines, ce qui ne permettrait pas d'empêcher l'adsorption non spécifique des protéines sur le substrat.

En réalité, il est raisonnable de considérer que les groupements réactifs sont statistiquement répartis sur le substrat, probablement sous la forme de « patches », en tenant compte du fait que les hétérogénéités du PDMS peuvent éventuellement affecter cette statistique. La question du mécanisme de croissance du film polymère plasma dans les premiers instants du dépôt, à l'échelle moléculaire, en fonction de la nature du substrat n'est pas résolue. Une couche mince de PDMS déposée par « spin coating » sur un substrat de silicium constituerait un système d'étude intéressant par AFM en raison de la faible rugosité et de la rigidité du support. Notons que le PDMS est déposé à l'état liquide et que cette méthode requiert une étape de réticulation, sous irradiation par exemple. Il serait alors envisageable, si le contraste chimique est suffisant, de réaliser des cartographies de forces d'adhésion ou de friction avec une résolution latérale de l'ordre d'une dizaine de nanomètres, afin de mettre en évidence les hétérogénéités chimiques de la surface à différents temps de dépôt. Par exemple, Hellmich et al.³ présentent des images AFM de films de PDMS oxydés et fonctionnalisés avec des Pegs-silanes. La faible rugosité du substrat permet alors de d'imager les Pegs de différentes masses moléculaires, comme le montre la **Figure 2.2**.

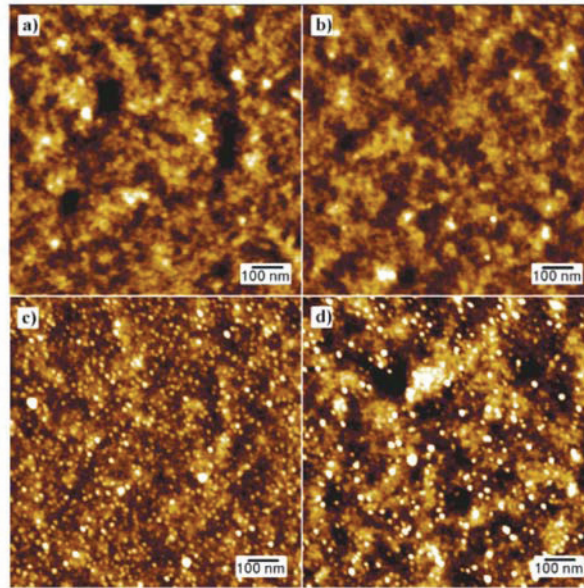


Figure 1. AFM images under ambient conditions of (a) an oxidized PDMS surface in comparison to (b) Si-POE₍₈₎, (c) Si-POE₍₇₀₎-Si, and (d) Si-POE₍₁₀₉₎ treated surfaces. The *z* scale is from 0 to 5 nm.

Figure 2.2 : Images AFM d'une surface de PDMS oxydée et fonctionnalisée avec des Pegs-silanes de différentes masses moléculaires (d'après la référence 3)

Si la préparation de surfaces modèles de PDMS sur des substrats de silicium paraît intéressante du point de vue de la compréhension des mécanismes de croissance du polymère plasma dans les premiers instants du dépôt, de telles surfaces ne peuvent pas être étirées. L'utilisation de substrats de PDMS non chargés permettrait d'éliminer la source potentielle d'hétérogénéités qui émanent des charges, mais les taux d'élongation applicables aux substrats, ainsi que leur résistance à la déchirure, seraient considérablement réduits. Une alternative consisterait à recouvrir un élastomère chargé d'une fine couche de PDMS non chargé.⁴

2.3 Stratégie de préparation des films bi-fonctionnels

La stratégie mise en œuvre pour l'élaboration des surfaces bi-fonctionnelles Peg/biotine consiste à greffer la biotine consécutivement aux Pegs. Cette stratégie est basée sur le principe selon lequel les Pegs, en raison de leur encombrement, ne saturent pas les groupements réactifs de surface, ce qui permet le greffage de la biotine, de taille plus faible, lors d'une seconde étape de greffage. Selon ce principe, la réalisation des étapes de greffage dans l'ordre inverse conduirait à la saturation des sites réactifs avec la biotine, avant l'introduction des Pegs. Rappelons que des concentrations importantes de réactifs, de l'ordre de 10^{-2} M sont utilisées afin d'augmenter la probabilité de rencontre de l'entité réactive de la molécule avec les groupements de surface. La concentration absolue de groupements

réactifs (nombre de moles / unité d'aire) est alors très faible devant la concentration des réactifs en solution. L'analyse XPS des films bi-fonctionnels préparés sur des surfaces de silicium nous a permis de valider cette méthode puisque les Pegs et la biotine sont détectés sur le film préparé dans ces conditions.

L'inconvénient de cette méthode est que les taux de greffages respectifs des Pegs et de la biotine ne sont pas contrôlés. Rappelons que dans le cas de la fonctionnalisation de membranes lipidiques de vésicules, la dimension et la concentration des vésicules en solution sont connues. Ainsi, en connaissant le nombre de sites réactifs par vésicule, on a accès à la concentration de sites surfaciques réactifs, ce qui permet de contrôler le taux de greffage en ajustant la concentration des réactifs en solution. Par conséquent, sur ce type de système, il est possible de contrôler de manière précise les taux de greffage et les proportions respectives de Pegs et de biotine, ce qui n'est pas envisageable dans le cas de surfaces planes présentant une distribution hétérogène de groupements réactifs de surface.

Notre stratégie a consisté à faire varier la taille des Pegs, selon le principe que les Pegs de masse moléculaire élevée présentent le taux de greffage le plus faible à cause de leur encombrement stérique. Nous avons émis l'hypothèse qu'il existe une taille de Pegs optimale conduisant au masquage de la biotine. Les résultats de l'étude préliminaire réalisée à partir de surfaces de silicium fonctionnalisées suggèrent que le système Peg2000/biotine favorise le masquage d'une fraction de biotine. Cependant, les films bi-fonctionnels Peg 2000/biotine préparés sur des substrats de PDMS traités 6 min par polymérisation plasma présentent une adsorption élevée à l'état relaxé, indiquant qu'une fraction importante, sinon la totalité de la biotine est accessible avant élongation. La fonctionnalisation des films dans les conditions de « Cloud Point » permet d'augmenter considérablement le taux de greffage des Pegs mais les comportements des films demeurent équivalents en termes d'adsorption de protéines. Ce comportement peut paraître paradoxal dans la mesure où les Pegs constituent une barrière interfaciale empêchant l'adsorption non spécifique des protéines sur le substrat de PDMS modifié. Il est fort probable que dans le cas des surfaces bi-fonctionnelles préparées dans ces conditions, l'affinité entre la Biotine et la streptavidine l'emporte sur la répulsion stérique des Pegs. Probablement la densité de Pegs dans l'environnement des sites spécifiques est trop faible pour masquer la biotine. Dans l'hypothèse d'une répartition hétérogène des groupements réactifs de surface, la **Figure 2.3** décrit une configuration possible des films bi-fonctionnels Peg/biotine, dans laquelle la biotine est greffée au sein de régions présentant une forte densité de Pegs (« patches ») et dans les zones de faible densité.

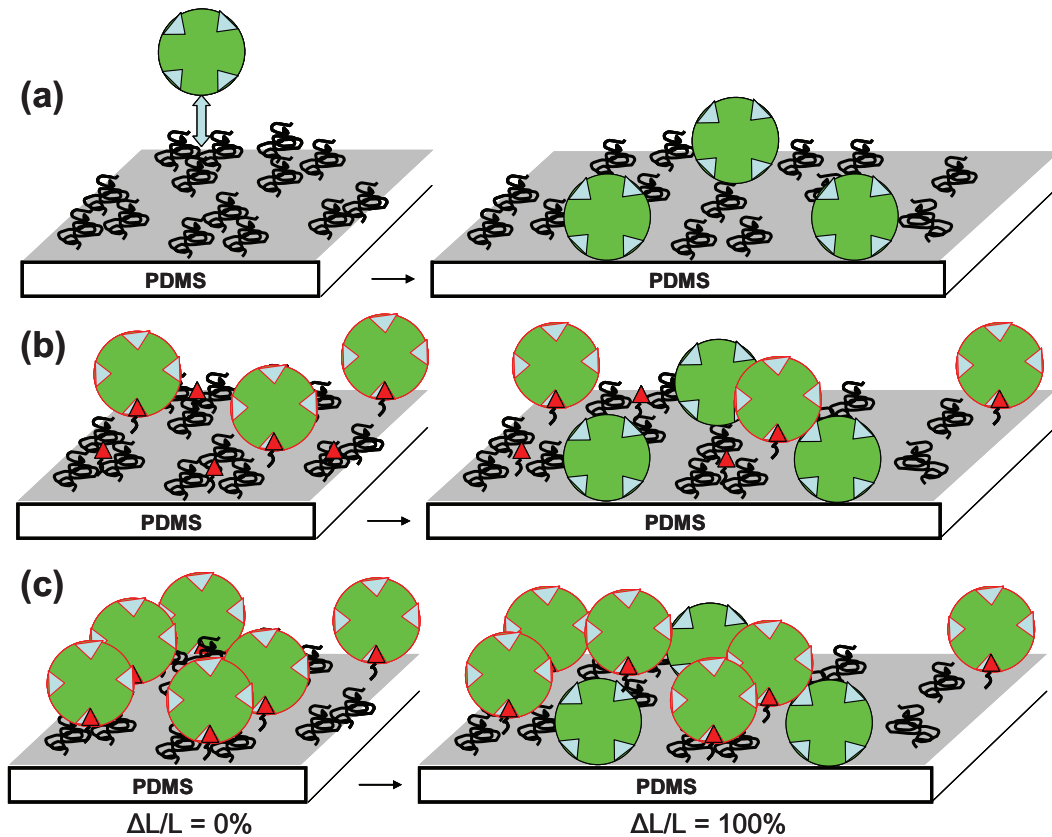


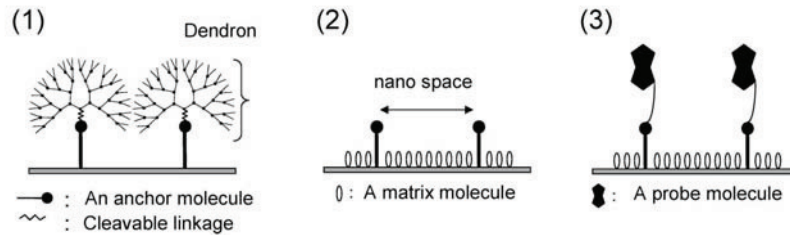
Figure 2.3 : Schéma illustrant l'adsorption spécifique (contour rouge) et non-spécifique de la streptavidine sur les films bi-fonctionnels Peg/biotine (a) Film monofonctionnel de Peg, (b) Film bi-fonctionnel, dans l'hypothèse de sites spécifiques demeurant masqués, (c) Film bi-fonctionnel, hypothèse de la totalité des sites spécifiques accessibles avant l'élongation

Les tests d'adsorption de protéines montrent qu'au moins une partie de la biotine est accessible avant élongation. En principe, les sites spécifiques les plus accessibles sont situés au niveau des régions présentant une faible densité de Pegs, tandis que les sites situés au sein des « patches » de Pegs sont moins accessibles. La Figure 2.3(b) présente le comportement du film dans l'hypothèse où les sites situés dans les « patches » ne sont pas accessibles avant élongation. Sous élongation, l'adsorption des films bi-fonctionnels augmente de façon équivalente aux films monofonctionnels de Peg de contrôle, ce qui suggère que l'élongation ne permet pas de promouvoir d'adsorption spécifique supplémentaire. Aussi, dans le cas présenté Figure 2.3(b), les sites spécifiques demeurent inaccessibles sous élongation, la dilution des Pegs au sein des « patches » étant insuffisante pour favoriser le démasquage de la biotine. Un tel cas de figure est envisageable si la dilution des Pegs lors de l'élongation du substrat est faible dans les zones riches en groupements fonctionnels. De manière opposée, la Figure 2.3(c) décrit le comportement du film dans l'hypothèse où tous les sites spécifiques de biotine sont accessibles avant élongation.

Ainsi la stratégie mise en œuvre dans ces travaux, consistant à masquer la biotine avec des Pegs linéaires greffés de manière covalente sur le substrat traité 6 min par polymérisation plasma, montre ses limites. Ni la répartition des groupements réactifs introduits par polymérisation plasma, ni les taux de greffage des Pegs et de la biotine ne sont contrôlés. En effet, l'inconvénient inhérent à la polymérisation plasma est de ne pas permettre le contrôle de la chimie de surface à l'échelle moléculaire, comme dans le cas de systèmes modèles tels que des monocouches autoassemblées ou de bicouches lipidiques. De plus, le traitement court de 6 min, ne conduisant pas à une couche épaisse et homogène, est également un facteur d'hétérogénéités, mais ces conditions de traitement sont nécessaires pour conserver les propriétés élastiques du substrat.

La stratégie décrite par Whitesides et al^{5,6} pour la préparation de monocouches autoassemblées mixtes d'alcanethiols $\text{HS}(\text{CH}_2)_n\text{X}/\text{HS}(\text{CH}_2)_n\text{Y}$ consiste à greffer les deux composants simultanément en faisant varier le ratio des concentrations respectives de chaque composant. Sur ce type de système binaire, les composants présentent des propriétés de diffusion et une réactivité équivalente, la composition de la monocouche étant gouvernée par les propriétés thermodynamiques des espèces en solution et au sein de la monocouche (activité, interactions spécifiques, etc.). Cette méthode a également été utilisée pour préparer des systèmes mixtes $\text{HS}(\text{CH}_2)_n\text{OH} / \text{HS}(\text{CH}_2)_n\text{Biotine}$ afin de diluer la fraction surfacique de biotine.⁷ Dans le cas présent, les amino-Pegs présentent un volume hydrodynamique important, ce qui réduit considérablement les probabilités de rencontre (diffusion) entre la fonction réactive et la surface comparativement à la biotine. De plus, dans l'objectif de masquer la biotine, il est nécessaire de conserver un espaceur Peg court au niveau de l'amino-Peg_n-biotine par rapport à la longueur de l'amino-Peg. Les greffages des Pegs dans les conditions de « Cloud Point » ont cependant permis de d'augmenter considérablement le taux de greffage des Pegs en raison de leur taille plus faible en solution. Bien que leur réactivité demeure probablement plus faible que celle de la biotine dans ces conditions, le greffage simultané des Pegs et de la biotine paraît alors envisageable en optimisant le ratio de concentration entre les Pegs et la biotine.

Une stratégie potentielle permettrait de contrôler le taux de greffage de la biotine lors de la première étape : les travaux récents de Tokuhisa et al⁸ décrivent une stratégie permettant de contrôler l'espacement de biomolécules greffées sur une surface, à partir de dendrimères labiles. La **Figure 2.4** décrit le principe de cette stratégie.



^a (1) Fabrication of a dendrimer monolayer. (2) Removal of dendron spacers and introduction of a matrix molecule. (3) Modification of a probe molecule.

Figure 2.4 : Schéma décrivant une méthode d'immobilisation permettant de contrôler l'espace entre des récepteurs spécifiques, d'après la référence 8

Ainsi, en appliquant une stratégie similaire, il serait possible de contrôler la densité de greffage de la biotine tout en conservant des groupements réactifs pour le greffage des Pegs et le masquage de la biotine lors d'une seconde étape de greffage.

Enfin, une stratégie alternative consisterait à fonctionnaliser les substrats de PDMS traités 6min avec une molécule présentant à la fois la chaîne de Peg et la biotine, comme le montre la **Figure 2.5**.



Figure 2.5 : Surface bi-fonctionnelle obtenue par greffage de molécules bi-fonctionnelles

Un tel système présenterait l'avantage d'être constitué d'un seul composant dont les propriétés (longueurs relatives de la chaîne Peg et de l'espaceur) sont ajustables lors de la synthèse. Une autre solution consisterait à greffer des polymères branchés présentant des taux de greffage de Pegs et de biotine contrôlés.

2.4 Méthode de détection

Le principal inconvénient des tests d'adsorption de protéines réalisés par mesure de fluorescence est qu'ils ne permettent pas de distinguer le signal lié à l'adsorption spécifique de celui lié à l'adsorption non-spécifique. Dans ce travail, nous avons estimé qualitativement la composante spécifique du signal de fluorescence des films bi-fonctionnels Pegs/biotine par comparaison avec le film monofonctionnel de Pegs, utilisé comme contrôle. Mais cette méthode montre ses limites lorsque les films bi-fonctionnels présentent un signal comparable à celui du contrôle. Les résultats les plus encourageants ont été obtenus dans le cas des films bi-fonctionnels lorsque les Pegs sont greffés en deux étapes, à l'état relaxé puis sous

élongation. Bien qu'une partie de la biotine demeure accessible avant l'élongation du substrat, le signal supplémentaire mesuré sous élongation est plus important que celui de la référence ce qui semble indiquer qu'une partie de l'adsorption spécifique est promue par l'élongation du substrat. Mais la différence de signal avec le contrôle n'est pas suffisante pour démontrer cet effet. Afin d'augmenter le rapport signal/bruit, une méthode utilisée lors des tests ELISA consiste à bloquer les sites non spécifiques avec des protéines présentant une forte affinité pour le substrat. La BSA (Bovine Serum Albumine) et le lait écrémé en poudre (« Skimmed Milk ») sont couramment utilisés à cet effet.⁹ L'idée est de masquer les sites d'interactions spécifiques par immersion des substrats dans des solutions concentrées d'agents de blocage, avant de mettre les substrats au contact des protéines ou des antigènes spécifiques. En principe, l'affinité des protéines (ou des antigènes) avec les récepteur spécifique (ou les anticorps) favorise le déplacement des agents de blocage (effet Vroman¹⁰).

Ni la BSA, ni le lait écrémé ne permettent de réduire le signal d'adsorption non-spécifique sur les échantillons de PDMS traités 6 min par polymérisation plasma. Les essais ont été réalisés soit par immersion successive des substrats dans les solutions d'agents de blocage (20 mg/ml de PBS, 1 heure), puis de streptavidine (0,1 mg/ml de PBS, 5 minutes), soit par immersion des substrats dans un mélange d'agents de blocage et de streptavidine (respectivement 20mg/ml et 0,1 mg/ml de PBS, 5 minutes). Il est difficile d'expliquer ces résultats mais il est envisageable que les interactions non spécifiques de la streptavidine avec le substrat prédominent ou que la streptavidine interagisse avec les agents de blocage.

La mesure de forces par AFM pourrait constituer une méthode complémentaire afin de mettre en évidence les interactions spécifiques entre la Biotine et la streptavidine. La mesure de forces d'adhésion entre une pointe AFM fonctionnalisée avec la streptavidine et un substrat d'agarose fonctionnalisé avec la biotine a été décrite par Florin et al¹¹ Cette technique a également été appliquée à l'analyse de plaques de microtitration commerciales en polystyrène utilisées pour les tests ELISA.¹² Cette méthode pourrait être mise à profit afin de mettre en évidence le démasquage de la biotine sous élongation. Comme nous l'avons vu au chapitre 3, il est possible de modifier la pointe AFM par polymérisation plasma de l'anhydride maléique. Il est ensuite possible de fonctionnaliser la pointe en milieu aqueux avec des amines, en présence d'EDC/NHS. Nous avons ainsi fonctionnalisé une pointe AFM avec la Biotine avant d'immerger la pointe dans une solution de streptavidine marquée. La **Figure 2.6** présente les images de microscopie à fluorescence du levier supportant la pointe avant et après immersion dans une solution de streptavidine marquée.

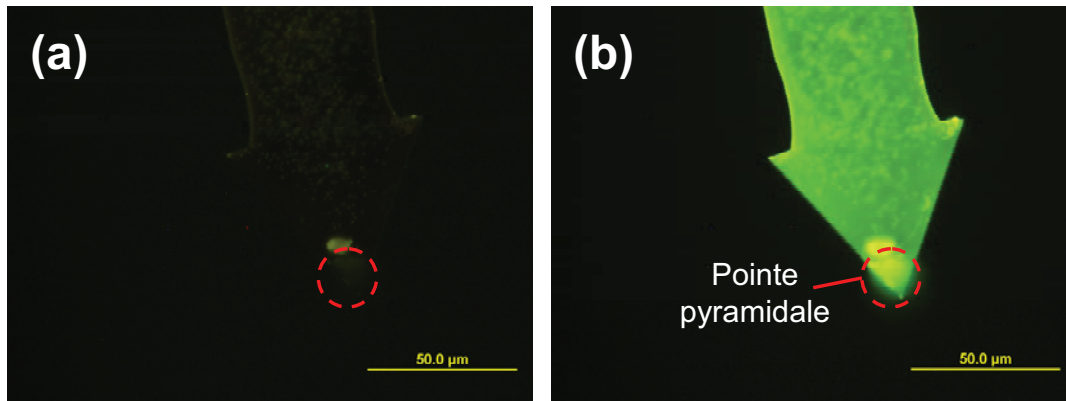


Figure 2.6 : Image de microscopie à fluorescence d'un levier supportant une pointe AFM traité par polymérisation plasma et fonctionnalisé avec la Biotine (a) Avant immersion dans la solution de streptavidine marquée (b) Après immersion (5 min) dans une solution de streptavidine marquée et rinçage (PBS, 2x3 min)

Les forces d'adhésion entre pointes et surface fonctionnalisées avec la biotine et la streptavidine sont généralement de l'ordre de 0,1 à 0,5 nN, ce qui requiert l'utilisation d'un levier de très faible constante de raideur ($k \sim 0,05 \text{ N.m}^{-1}$) d'une part, et de se placer dans des conditions telles que les forces d'adhésion entre la pointe recouverte de streptavidine et le substrat de contrôle soient négligeables en l'absence de biotine, d'autre part. Cette analyse n'a pas pu être réalisée dans le cadre de ces travaux mais celle-ci représente un moyen potentiel de mettre en évidence le démasquage de la biotine lors de l'élongation du substrat.

Citons enfin les avancées réalisées dans le domaine de la reconnaissance moléculaire par AFM en modulation d'amplitude, permettant de coupler image de topographie et signal de reconnaissance moléculaire, comme l'illustre la **Figure 2.7**.¹³

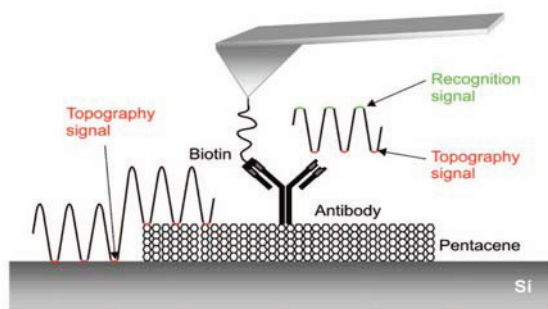


Figure 1. Scheme of the simultaneous topography and recognition AFM imaging of antibiotin antibodies adsorbed on pentacene islands. A magnetically driven cantilever oscillates across the surface. The oscillation signal is split into two parts of which the lower part is used to generate the topography (topography signal, red) and the upper part is used for the recognition image (recognition signal, green).

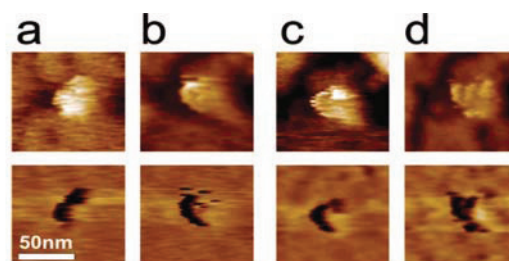


Figure 5. Topography (top) and recognition images (bottom) of antibiotin antibodies adsorbed on pentacene islands. Different shapes of recognition spots were observed, which can be attributed to different orientations of the Fab fragments of the adsorbed antibodies. (Color scale range: topography images, 0–13 nm; recognition images, -0.5–0.7 nm)

Figure 2.7 : Imagerie simultanée de topographie et de reconnaissance moléculaire d'antigènes adsorbés sur un îlot de pentacène (semi-conducteur organique), d'après la référence 13

2.5 Le système récepteur/ligand

Nous avons montré que, dans la stratégie d'élaboration mise en œuvre dans cette étude, une fraction importante de la biotine est accessible avant élongation du substrat ce qui ne permet pas de démontrer le concept de reconnaissance moléculaire activée par un stimulus mécanique. Rappelons que l'interaction biotine/streptavidine représente l'interaction non-covalente la plus forte connue à ce jour. Une solution potentielle permettant d'améliorer le comportement du système consisterait à utiliser un système récepteur/ligand présentant une affinité moins importante. Par exemple, Stayton et al¹⁴ utilisent différents types de streptavidine génétiquement modifiées afin d'étudier les mécanismes d'adsorption spécifique et non spécifique sur des monocouches autoassemblées. Les complexes biotine-streptavidine modifiée présentent des constantes d'affinité K_a plus faibles que la streptavidine naturelle ($3,7 \times 10^{11} \text{ M}^{-1}$ ou $9 \times 10^6 \text{ M}^{-1}$ contre $2,5 \times 10^{13} \text{ M}^{-1}$).

Une autre alternative consisterait à changer de système récepteur-ligand. Par exemple, le cibacron est un récepteur spécifique de l'albumine, couramment utilisé en chromatographie d'affinité.¹⁵ La constante de dissociation du système cibacron-albumine, de l'ordre de 10^{-6} M , est considérablement plus élevée que la constante de dissociation du système biotine-streptavidine.

La **Figure 2.8** présente les résultats de l'analyse XPS réalisée à partir d'un substrat de PDMS traité 6min par polymérisation plasma puis fonctionnalisé avec l' amino-Peg₂-cibacron en présence d'EDC/NHS. La composition atomique du film présente une fraction d'azote et de soufre entrant dans la composition du cibacron tandis que l'enveloppe C(1s) présente un enrichissement en environnements $\underline{\text{C}}\text{-O}$ et C(O)NR/C=O . Ces résultats indiquent que le cibacron est introduit sur la surface.

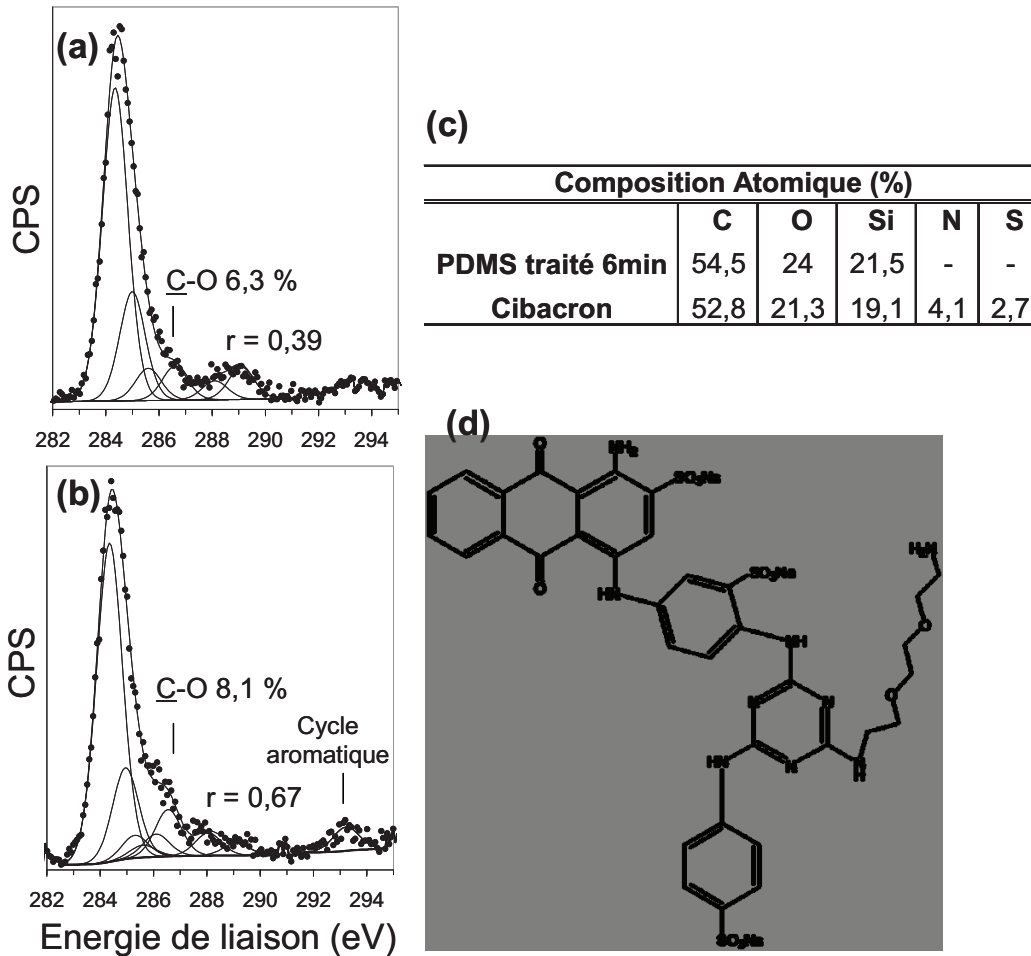


Figure 2.8 : Analyse XPS du substrat de PDMS traité 6min par polymérisation plasma puis fonctionnalisé avec l'amino-Peg₂-cibacron (a) Enveloppe C(1s) du substrat de PDMS traité 6min, (b) Enveloppe C(1s) du film fonctionnalisé avec le cibacron, (c) Composition atomique du film avant et après fonctionnalisation avec le cibacron, (d) Structure moléculaire de l'amino-Peg₂-cibacron

La **Figure 2.9(a)** présente les résultats des tests d'adsorption de l'albumine (Human Serum Albumin HSA, 1 mg/ml) sur les substrats de PDMS traités 6 min par polymérisation plasma puis fonctionnalisés avec l'AminoPeg2000, l'Amino-Peg₂-cibacron et l'amino-Peg₁₂-cibacron. Il a été montré que l'HSA présente une meilleure affinité pour le cibacron que la BSA (Bovine Serum Albumin).¹⁶ Les résultats indiquent que le greffage des Pegs 2000 permet de réduire considérablement l'adsorption non spécifique de l'albumine sur le substrat de PDMS traité. Par ailleurs, lorsque les substrats sont fonctionnalisés avec le cibacron, l'adsorption est également considérablement réduite par rapport au substrat de PDMS traité. Ce résultat est étonnant car cela signifie que l'introduction du cibacron sur la surface conduit à une diminution de l'adsorption non-spécifique de l'albumine sur la surface alors que l'on s'attendrait à une augmentation de l'adsorption à cause de l'affinité du cibacron et de la

streptavidine. Ce résultat suggère que les conditions utilisées dans ces essais ne permettent pas de favoriser l'adsorption spécifique de l'albumine sur la surface. Une explication possible est que le cibacron greffé sur la surface ne soit pas suffisamment accessible pour la protéine. En effet, cette molécule est « rigide » car elle présente des cycles aromatiques. Ces cycles aromatiques hydrophobes sont également susceptibles d'interagir avec le substrat de PDMS modifié par interactions hydrophobes, ce qui défavoriserait l'orientation de la molécule au niveau de l'interface.

Une autre possibilité est que les conditions dans lesquels les tests d'adsorption sont réalisés dans ces essais ne sont pas optimales pour favoriser les interactions spécifiques. Contrairement à l'interaction entre la biotine et la streptavidine, l'interaction entre le cibacron et l'albumine dépend des conditions de pH et de la force ionique du milieu.^{17,18}

Des tests d'adsorption supplémentaires ont été réalisés dans un tampon acétate 100 mM à pH = 5 (concentration d'HSA de 1 mg/ml), d'après les conditions les plus favorables décrites dans la référence 17. Les tests d'adsorption de l'albumine ne présentent pas de changements significatifs dans ces conditions (résultats non montrés).

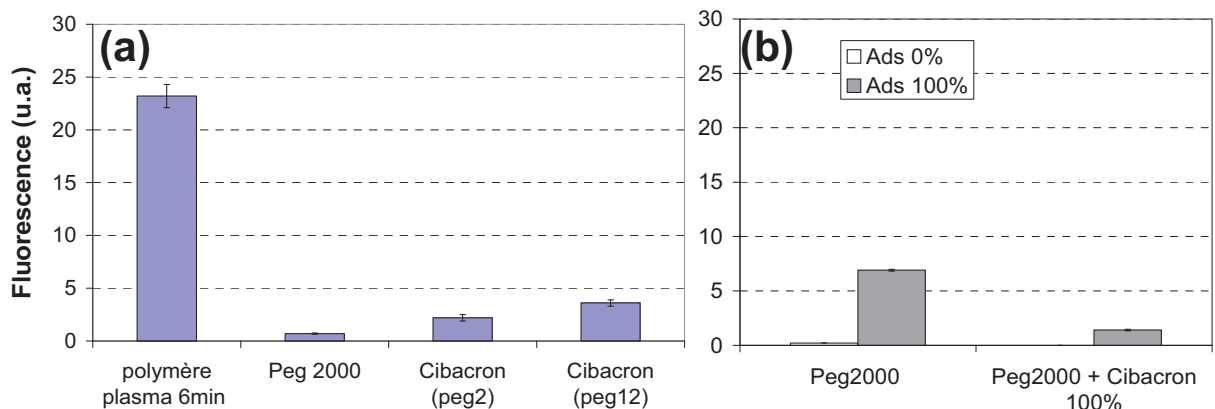


Figure 2.9 : Tests d'adsorption de l'albumine (Human Serum Albumine HSA, 1 mg/ml) sur différents types de films (a) monofonctionnels ou (b) bi-fonctionnels, préparés à partir de substrats de PDMS traités 6 min par polymérisation plasma

Par conséquent, comme le montre la **Figure 2.9(b)**, les essais réalisés sur le film bi-fonctionnel Peg2000/cibacron ne permettent de mettre en évidence l'adsorption spécifique de l'albumine promue sous élévation puisque le signal mesuré sous élévation est plus faible que le signal du substrat monofonctionnel Peg 2000 de contrôle.

Finalement, les essais réalisés avec le système cibacron-albumine ne sont pas concluants. L'utilisation de ce système nécessite une étude préliminaire sur des surfaces de silicium fonctionnalisées visant à déterminer les conditions des tests d'adsorption (concentration d'HSA, pH, nature et concentration des sels, etc.) optimales permettant de mettre en évidence l'adsorption spécifique de l'albumine.

Enfin, les systèmes anticorps antigène/anticorps tels que le système IgG/anti-IgG¹⁹ ou la culture cellulaire à partir de séquences peptidiques RGD²⁰ peuvent également constituer systèmes potentiels pour la démonstration du concept de reconnaissance moléculaire activé sous élongation.

3 Références

-
- ¹ J. Genzer, D.A. Fischer, K. Efimenko, *Fabricating Two-Dimensional Molecular Gradients via Assymetric Deformation of Uniformly-Coated Elastomer Sheets*, *Advanced Materials* **2003**, *15*, 1545-1547
- ² A. Lapra, F. Clément, L. Bokobza, L. Monnerie, *Straining Effects in Silica-filled Elastomers Investigated by Atomic Force Microscopy : from Macroscopic Stretching to Nanoscale Strainfield*, *Rubber Chem. Technol.*, **2003**, *76*, 60-81.
- ³ W. Hellmich, J. Regtmeier, T.T. Duong, R. Ros, D. Anselmetti, A. Ros, *Poly(oxyethylene) Based Surface Coatings for Poly(dimethylsiloxane) Microchannels*, *Langmuir* **2005**, *21*, 7551-7557.
- ⁴ M. Watanabe, *Wrinkles Formed on a Thin Gold Film Deposited onto Stretched Elastic Substrates*, *Polymers for Advanced Technologies*, *Polym. Adv. Technol.* **2005**, *16*, 744-748.
- ⁵ C. D. Bain, J. Evall, G.M. Whitesides, *Formation of Monolayers by the Coadsorption of Thiols on Gold: Variation in the Head Groups, Tail Group, and Solvent*, *J. Am. Chem. Soc.* **1989**, *111*, 7155-7164.
- ⁶ C. D. Bain, G.M. Whitesides, *Formation of Monolayers by the Coadsorption of Thiols on Gold: Variation in the Length of the Alkyl Chain*, *J. Am. Chem. Soc.* **1989**, *111*, 7164-7175.
- ⁷ J. Spinke, M. Liley, F.J. Schmitt, H.J. Guder, L. Angermaier, W. Knoll, *Molecular Recognition at Self-Assembled Monolayers: Optimization of Surface Functionalization*, *J. Chem. Phys.* **1993**, *99*, 7012-7019
- ⁸ H. Tokuhisa, J. Liu, K. Omori, M. Kanosato, K. Hiratani, L. A. Baker, *Efficient Biosensor Interface Based on Space-Controlled Self-Assembled Monolayers*, *Langmuir* **2009**, *25*, 1633-1637.
- ⁹ M. A. Sentendreu, L. Aubry, F. Toldra, A. Ouali, *Blocking Agents for ELISA Quantification of Compounds Coming from Bovine Muscle Crude Extracts*, *Eur. Food Res Technol* **2007**, *224*, 623-628.
- ¹⁰ H. Noh, E. A. Vogler, *Volumetric interpretation of protein adsorption: Competition from mixtures and the Vroman effect*, *Biomaterials* **2007**, *28*, 405-422.
- ¹¹ E.L. Florin, V.T. Moy, H.E. Gaub, *Adhesion forces between individual ligand-receptor pairs*, *Science* **1994**, *264*, 415-417
- ¹² S. Allen, J. Davies, A.C. Dawkes, M.C. Davies, J.C. Edwards, M.C. Parker, C.J. Roberts, J. Sefton, S.J.B. Tendler, P.M. Williams, *In Situ Observation of Streptavidin-Biotin Binding on an Immunoassay Well Surface Using an Atomic Force Microscope*, *FEBS Letters* **1996**, *390*, 161-164.
- ¹³ J. Preiner, N.S. Losilla, A. Ebner, P. Annibale, F. Biscarini, R. Garcia, P. Hinterdorfer, *Imaging and Detection of Single Molecule Recognition Events on Organic Semiconductor Surfaces*, *Nano Letters* **2009**, *9*, 571-575.

- ¹⁴ V. H. Pérez-Luna, M. J. O'Brien, K. A. Opperman, P. D. Hampton, G.P. Lopez, L. A. Klumb, P. S. Stayton, *Molecular Recognition Between Genetically Engineered Streptavidin and Surface-Bound Biotin*, J. Am. Chem. Soc. **1999**, 121, 6469-6478.
- ¹⁵ A. Denizli, E. Pizkin, *Dye-Ligand Affinity Systems*, J. Biochem. Biophys. Methods **2001**, 49, 391-416.
- ¹⁶ R.J. Leatherbarrow, P.D.G. Dean, *Studies on the Mechanism of Binding of Serum Albumins to Immobilized Cibacron F3GA*, Biochem. J. **1980**, 189, 27-34.
- ¹⁷ A. Kassab, H. Yavuz, M. Odabasi, A. Denizli, *Human Serum Albumin Chromatography by Cibacron Blue F3GA-Derived Microporous Polyamide Hollow-Fiber Affinity Membranes*, J. Chrom. B **2000**, 746, 123-132.
- ¹⁸ Z.Y. Ma, Y.P. Guan, H. Z. Liu, *Affinity Adsorption of Albumin on Cibacron Blue F3GA-Coupled Non-Porous Micrometer-Sized Magnetic Polymer Microspheres*, React. Funct. Pol. **2006**, 66, 618-624.
- ¹⁹ S. Herrwerth, T. Rosendahl, C. Feng, J. Fick, W. Eck, M. Himmelhaus, R. Dahint, M. Grunze, *Covalent Coupling of Antibodies to Self-Assembled Monolayer of Carboxy-Functionalized Poly(ethyleneglycol) : Protein Resistance and Specific Binding of Biomolecules*, Langmuir **2003**, 19, 1880-1887.
- ²⁰ A. Wirsén, H. Sun, L. Emilsson, A.-C. Albertsson, *Solvent Free Vapor Phase Photographing of Maleic Anhydride onto Poly(ethylene terephthalate) and Surface Coupling of Fluorinated Probes, PEG, and an RGD-Peptide*, Biomacromolecules **2005**, 6, 2281-2289.

Conclusion générale

Dans le contexte des surfaces adaptatives définies dans le *premier chapitre*, l'objectif général de ces travaux de recherche est de mettre au point des surfaces fonctionnelles synthétiques dont la réponse chimique ou biologique est contrôlée par l'action d'un stimulus mécanique. En particulier, les travaux menés dans le cadre de cette thèse se sont concentrés sur l'adsorption contrôlée de protéines sur un support élastique présentant des récepteurs spécifiques. En d'autres termes, il s'agissait d'élaborer un système de reconnaissance moléculaire activable sous l'action d'une contrainte mécanique de type élongation.

La stratégie générale d'élaboration d'une telle surface a consisté à fonctionnaliser de manière covalente un support élastique avec des systèmes constitués de macromolécules et de biomolécules (récepteur spécifique) afin d'obtenir une surface élastique bi-fonctionnelle. L'idée étant de masquer les récepteurs avec les macromolécules, puis de promouvoir l'accessibilité des récepteurs à l'égard de protéines lors de l'élongation du support élastique.

Les élastomères de silicone (PDMS), de par leur élasticité et leur faible toxicité, constituent des supports de choix pour l'élaboration de telles surfaces. Ces matériaux polymère sont largement utilisés dans le domaine médical et en micro fluidique. Cependant, le PDMS est également réputé pour son caractère hydrophobe et son inertie chimique. La fonctionnalisation covalente d'un tel support requiert une étape de traitement de surface permettant d'introduire des groupements réactifs sur la surface.

Dans le *second chapitre*, la première étape de l'élaboration de la surface adaptative à consisté à développer un traitement de surface permettant d'introduire des groupements réactifs à la surface du PDMS d'une part, tout en garantissant la conservation des propriétés élastiques du substrat aux échelles locale et globale, d'autre part. La polymérisation plasma est un procédé physique de traitement de surface permettant de déposer une couche mince organique de chimie et d'épaisseur contrôlées sur divers types de matériaux. En particulier, la polymérisation plasma de l'anhydride maléique en mode pulsé présente un grand intérêt en raison de l'important taux de rétention et de la forte réactivité des groupements anhydride au sein du film polymère plasma. Cependant, les conditions de traitement « classiques » appliquées aux substrats de PDMS conduisent à la formation d'une couche inorganique fragile de type verre. Cette couche fragile est à l'origine de l'apparition de craquelures lors de l'élongation du substrat. Ces craquelures sont indésirables dans l'objectif visé car celles-ci nuisent au transfert de l'élongation macroscopique du substrat à l'échelle locale, c'est-à-dire au niveau de groupements réactifs voisins.

La stratégie employée dans ces travaux afin d'éliminer ces craquelures a consisté à diminuer le temps de traitement, dans l'hypothèse que la modification du substrat de PDMS sous la forme d'une couche fragile est liée au temps de traitement. L'évolution de la composition chimique de la surface en fonction de la durée de traitement a été étudiée par des analyses de mouillabilité, de spectroscopie XPS (Spectroscopie d'émission des photoélectrons X) et FTIR (Spectroscopie Infrarouge à Transformée de Fourier) en mode ATR (Réflexion Totale Atténuée). Ces analyses parallèles nous ont permis de mettre en évidence les différentes étapes de la croissance du film polymère. En particulier, la transition entre un mode de croissance « hétérogène » et un mode de croissance « continu » apparaît clairement vers 10-12 min de dépôt. Les craquelures liées à la fragilisation du silicone n'ont plus été observées par AFM (Microscopie à Force Atomique) sur les substrats étirés pour des temps de traitement inférieurs à 8 min, ce qui indique que la cohésion des substrats est conservée. Pour ces temps de traitement, la surface modifiée demeure hydrophobe, celle-ci se compose d'une matrice de PDMS partiellement oxydée sur laquelle sont introduits des groupements polaires, principalement des groupements anhydride. Un temps de traitement de 6 min permettant d'introduire environ 6 % (XPS) d'anhydride maléique à la surface du substrat a été choisi pour la suite de l'étude.

L'hydrolyse du film polymère plasma conduit à la formation de groupements diacide carboxylique présentant des propriétés acide-base au sens de Brønsted. En particulier, ces groupements diacides présentent une ionisation en deux étapes. Dans le *troisième chapitre* Cette propriété est mise en évidence par différentes méthodes de titration de surface. Les pK_{a_s} des surfaces de PDMS traitées ont été déterminés par analyses de mouillabilité, FTIR-ATR et AFM (« titration par force chimique »). Les trois méthodes de titration conduisent à des résultats similaires ($pK_{a_1} \sim 3,5$ et $pK_{a_2} \sim 10,5$). Les pK_{a_s} de surface sont plus élevés que les pK_{a_s} de molécules d'acide maléique en solution, ce qui est généralement observé dans le cas de groupements de surface en raison de leur confinement et de leur environnement hydrophobe. Dans le cas présent, des liaisons hydrogène intra et intermoléculaires stabilisantes ont été mises évidence par FTIR-ATR.

En milieux aqueux, le caractère acide-base de la surface est à l'origine de propriétés d'adhésion dépendant du pH et de la concentration en sel. Les mesures de force entre pointe AFM et surface de PDMS modifiées, toutes deux par polymérisation plasma permettent d'évaluer l'influence des propriétés acide-base du film sur ses propriétés d'adhésion. A valeur de pH faible (pH $\sim 1-5$), la majorité des groupements $-COOH$ du film sont à la fois donneurs et accepteurs de liaisons hydrogène, ce qui est à l'origine de l'adhésion entre la pointe et la surface. A valeurs de pH intermédiaire, (pH $\sim 5-8$), les groupements diacides sont partiellement ionisés. Le groupement COO^- formé est stabilisé

par une liaison hydrogène interne avec le groupement –COOH adjacent. A valeur de pH élevé (pH > 9), la majorité des groupements diacides sont complètement ionisés, ce qui est à l'origine des forces de répulsion électrostatique entre la pointe AFM et la surface à pH élevé. Cette répulsion se transforme en attraction en présence de cations divalents (Ca^{2+}).

Les propriétés de mouillage et d'adhésion dépendantes du pH sont caractéristiques des groupements diacides formés lors de l'hydrolyse des groupements anhydride du polymère plasma. Lors de l'élongation macroscopique du substrat, les variations de ces propriétés attestent de la dilution surfacique des groupements réactifs.

Dans le *quatrième chapitre*, la réactivité de ces groupements a été mise à profit afin d'élaborer la surface à réponse mécanique. Des amines fonctionnelles ont été greffées de manière covalente sur le film en phase aqueuse, par réaction de couplage en présence d'EDC/NHS. Cette réaction de couplage permet d'élaborer des films bi-fonctionnels constitués de chaînes linéaires de poly(éthylène glycol) (Peg) de différentes masse moléculaire et de biotine. Les mesures d'angle de contact et l'analyse XPS des films attestent de l'efficacité du greffage.

La fonctionnalisation du substrat de PDMS avec des chaînes de Pegs conduit à une diminution de l'adsorption non-spécifique de la streptavidine sur le substrat. Les meilleurs résultats ont été obtenus avec les Pegs 2000, probablement en raison d'un meilleur recouvrement de la surface. Lorsque le substrat est étiré à un taux d'élongation de 100%, l'adsorption (non-spécifique) augmente significativement car la barrière interfaciale résistante aux protéines formée par les Pegs n'est plus suffisante pour masquer le substrat.

Cependant, dans le cas de films bi-fonctionnels Peg/biotine, les sites spécifiques de biotine sont accessibles avant l'élongation du substrat, ce qui indique que la barrière interfaciale formée par les Pegs n'est pas suffisante pour s'opposer à la forte affinité de la biotine et de la streptavidine. Une hypothèse permettant d'expliquer ces résultats est que la densité de greffage des Pegs est insuffisante pour masquer la biotine. Les conditions de greffage de type « Cloud Point » consistant à augmenter la température et la concentration en sel du milieu réactionnel, nous ont permis d'augmenter significativement la densité de greffage. Malgré cette amélioration, le comportement des films en termes d'adsorption de streptavidine dépendant de l'élongation demeure équivalent à celui observé sur les films présentant une faible densité de groupements. L'addition d'une étape de greffage des Pegs sous élongation semble permettre de réduire l'adsorption non-spécifique des films sous élongation, mais la majeure partie de la biotine demeure accessible avant l'élongation du substrat.

Dans ces conditions, le système semble montrer ses limites. Les travaux futurs s'orienteront, entre autres, vers l'utilisation de substrats élastomères non chargés, la

synthèse de polymères bi-fonctionnels et l'utilisation de système récepteur/ligand présentant une affinité plus faible, comme cela a été discutée dans le *cinquième chapitre*.

LISTE DES PUBLICATIONS

Articles de recherche

Titre: Changes in Silicon Elastomeric Surface Properties under Stretching Induced by Three Surface Treatments

Auteurs: Roucoules, V.; Ponche, A.; Geissler, A.; Siffer, F.; Vidal, L.; Ollivier, S.; Vallat, M. F.; Marie, P.; Voegel, J. C.; Schaaf, P.; Hemmerle, J.

Journal: *Langmuir* **2007**, 23, 13136-13145

Titre: Chemical Force Titration of Plasma Polymer-Modified PDMS Substrates by Using Plasma Polymer-Modified AFM Tips

Auteurs: Geissler, A.; Vallat, M.-F.; Vidal, L.; Voegel, J.-C.; Hemmerle, J.; Schaaf, P.; Roucoules, V.

Journal: *Langmuir* **2008**, 24, 4874-4880

Titre: Multifunctional Stretchable Plasma Polymer modified PDMS Interface for Mechanically Responsive Materials

Auteurs: Geissler, A.; Vallat, M.-F.; Frisch B.; Voegel, J.-C.; Hemmerle, J.; Schaaf, P.; Roucoules, V.

Journal: *Plasma Processes and Polymers* **2009**, 7,64-77

Conférences

Conférences internationales

Communications orales

Titre: Mechanical responsive material: the role of the plasma polymer coating layer

Type: Conférence internationale, communication orale

Auteur(s) : Geissler, A.; Vallat, M.F.; Roucoules, V.; Schaaf, P. ; Hemmerlé,J.

Colloque: CIP-07 16th international Colloquium on Plasma Processes, Toulouse, 4-8 juin 2007

Titre: Plasma polymer treatment of PDMS: toward pH-dependent adhesion properties

Type: Conférence internationale, communication orale

Auteur(s) : Geissler, A.; Vallat, M.F.; Roucoules, V.; Schaaf, P. ; Hemmerlé,J.

Colloque: Euradh 2008 Tenth International Conference on the Science and Technology of Adhesion and Adhesives, St Catherine's College, Oxford, UK, 3-5 septembre 2008

Titre: Elaboration of a new kind of stimuli responsive surfaces by combining plasma polymerization and mechanically dependent chemistry

Type: Conférence internationale, communication orale

Auteur(s): Geissler, A.; Vallat, M.F.; Roucoules, V.; Schaaf, P. ; Hemmerlé,J. ; Frisch B.

Colloque: ISPC 19, 19th International Symposium on Plasma Chemistry, Bochum, Germany, July 26-31, 2009

Distinction: Young Scientists Best Paper Award 2009

Communication par affiche

Titre: Dewetting of thin nickel films under hydrogen pressure

Type: Conférence internationale, Communication par affiche

Auteurs: Geissler, A.; Benoit, J.-M. ; Petit, P.

Colloque: GDRE Nano E-06 Science and Application of Nanotubes, Obernai 16-19 octobre 2006

Titre: New plasma polymer / elastomer interface for mechanical responsive material
Type: Conférence internationale, communication par affiche
Auteur(s): Geissler, A.; Vallat, M.F.; Roucoules, V.; Schaaf, P. ; Hemmerlé, J.
Colloque: ISE-07 11th International Seminar on Elastomers, Fribourg, 23-27 septembre 2007

Conférences nationales

Communication orale

Titre: Traitement de PDMS par polymérisation plasma, propriétés adhésives dépendantes du pH
Type: Conférence nationale, communication orale
Auteur(s): Geissler, A.; Vallat, M.F.; Roucoules, V.; Schaaf, P. ; Hemmerlé, J.
Colloque: GFP (Groupe Français des Polymères) Grand Est, Mulhouse, 17 juin 2008

Communications par affiche

Titre: De nouveaux matériaux à réponse mécanique, rôle de l'interface chimique
Type: Conférence nationale, communication par affiche
Auteur(s): Geissler, A.; Vallat, M.F.; Roucoules, V.; Schaaf, P. ; Hemmerlé, J.
Colloque: JADH-07 14^{ème} journées d'étude sur l'adhésion, Biarritz, 24-28 septembre 2007

Titre: De nouveaux matériaux à réponse mécanique, rôle de l'interface chimique
Type: Conférence nationale, communication par affiche
Auteur(s): Geissler, A.; Vallat, M.F.; Roucoules, V.; Schaaf, P. ; Hemmerlé, J.
Colloque: GFP 37^{ème} colloque national, Groupe Français d'études et d'applications des polymères, Strasbourg, 27-29 novembre 2007

Titre: Elaboration d'une nouvelle catégorie de surfaces adaptatives en combinant polymérisation plasma et chimie dépendante de l'élongation
Type: Conférence nationale, communication par affiche
Auteur(s): Geissler, A.; Vallat, M.F.; Roucoules, V.; Schaaf, P. ; Hemmerlé, J. Frisch, B.
Colloque: GFP (Groupe Français des Polymères) Grand Est, Strasbourg, 18 juin 2009
Distinction: Prix GFP de la meilleure affiche

Distinctions

Prix GFP) de la meilleure affiche,
GFP (Groupe Français des Polymères Grand Est 2009

Young Scientists Best Paper Award 2009,
ISPC 19 (19th International Symposium on Plasma Chemistry,).

Résumé

Un matériau adaptatif ou « intelligent » est capable de modifier spontanément ses propriétés physico-chimiques en réponse à un stimulus (température, pH, etc.). Les surfaces sensibles à un stimulus mécanique constituent une nouvelle catégorie de matériaux adaptatifs capables de montrer des changements de propriétés de surface sous l'effet d'une contrainte mécanique. Dans ce contexte, ces travaux se concentrent sur l'adsorption d'objets biologiques tels que des protéines sur un support élastique. L'objectif étant de contrôler cette adsorption en fonction du taux d'étirement du substrat. Les élastomères de silicone (PDMS), de par leur élasticité et leur faible toxicité, constituent des supports de choix pour l'élaboration de telles surfaces. Ces matériaux polymère sont largement utilisés dans le domaine médical et en microfluidique.

La première étape d'élaboration consiste à rendre la surface du support de PDMS chimiquement réactive. Pour des temps de traitement courts, la polymérisation plasma de l'anhydride maléique permet d'introduire des groupements réactifs à la surface du PDMS, tout en conservant ses propriétés élastiques à l'échelle locale.

Les substrats de PDMS traités présentent des propriétés acide-base de surface qui sont caractéristiques des groupements diacide du film polymère plasma. Le degré d'ionisation et les propriétés d'adhésion de ces surfaces sont étudiés en fonction du pH. L'évolution de ces propriétés sous élongation atteste de l'effet de dilution des groupements réactifs de surface.

Le support étirable et réactif est ensuite fonctionnalisé avec des systèmes constitués de polymères et de récepteurs spécifiques. D'une part, les chaînes de (poly)éthylène glycol (Peg) présentent des propriétés de résistance à l'adsorption de protéines. D'autre part, la biotine est un récepteur capable de se lier spécifiquement à une protéine, la streptavidine. En combinant le greffage covalent des Pegs et de la biotine sur le substrat de PDMS, on obtient une surface bi-fonctionnelle. L'objectif est de masquer la biotine avec les Pegs lorsque le substrat est à l'état relaxé, puis de promouvoir l'adsorption spécifique de la streptavidine sous l'élongation, afin d'obtenir un système de reconnaissance moléculaire sensible à un stimulus mécanique.

Abstract

Surface responsive materials have the property to show response mechanisms triggered by external stimuli (temperature, pH, etc.). Mechanically responsive surfaces are a new kind of stimuli-responsive materials, which surfaces properties change in response to mechanical excitation. This work focuses on the controlled adsorption of biological objects such as proteins on an elastic substrate. The goal is to control adsorption as a function of the elongation of the substrate. In elaborating mechanically responsive materials, silicone elastomers (PDMS) constitute interesting substrates because of their high flexibility and low toxicity. These polymers are widely used in biomedical devices and in microfluidics.

The first step of the elaboration consists in making the PDMS substrate chemically reactive. For low treatment time, plasma polymerization of maleic anhydride lead to the introduction of reactive groups on PDMS surface, while maintaining elastic properties at local scale.

Treated PDMS substrates show acide-base properties, which are characteristic of the diacid groups from the plasma polymer thin film. The degree of ionization and the adhesion properties of the surface are studied as a function of pH. The evolution of these properties under elongation attests from the dilution effect of surface reactive groups.

The stretchable and reactive substrate is then functionalized with systems made of polymers and specific receptors. (Poly)ethyleneglycol (Peg) chains are well known to resist to protein adsorption, whereas biotin receptors bind specifically streptavidin proteins. A bi-functional surface is obtained by combining covalent grafting of Pegs and biotine on the PDMS substrate. The goal is to mask biotin with Peg chains at rest, while promoting specific binding of streptavidin under elongation of the substrate. This material may constitute a molecular recognition system that responds to a mechanical stimulus.