



HAL
open science

Développement de polymères à empreintes moléculaires électrochimiques pour la surveillance en micropolluants organiques des eaux dans les ouvrages du Canal de Provence

Dutduan Udomsap

► **To cite this version:**

Dutduan Udomsap. Développement de polymères à empreintes moléculaires électrochimiques pour la surveillance en micropolluants organiques des eaux dans les ouvrages du Canal de Provence. Autre. Université de Toulon, 2014. Français. NNT : 2014TOUL0009 . tel-01132535

HAL Id: tel-01132535

<https://theses.hal.science/tel-01132535>

Submitted on 17 Mar 2015

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.

ÉCOLE DOCTORALE MER ET SCIENCES (ED 548)

Laboratoire MAPIEM (EA 4323)

THÈSE

présentée par :

Dutduan UDOMSAP

Soutenue le **14 novembre 2014**

Pour obtenir le grade de Docteur en chimie

Spécialité : Chimie et physico-chimie des polymères

Développement de polymères à empreintes moléculaires électrochimiques pour la surveillance en micropolluants organiques des eaux dans les ouvrages du Canal de Provence

THÈSE dirigée par :

Pr BRISSET Hugues

Université de Toulon

JURY :

Pr HAUPT Karsten

Rapporteur, Université de Technologie de Compiègne

Pr NOGUER Thierry

Rapporteur, Université de Perpignan Via Domitia

Dr BRANGER Catherine

Co-encadrante, Université de Toulon

Dr DOLLET Pascal

Examineur, Société du Canal de Provence

Pr LANGLOIS Valérie

Examineur, Université de Paris XII

REMERCIEMENTS

J'aimerais tout d'abord remercier le Professeur André Margaillan, directeur du laboratoire Matériaux Polymères Interfaces Environnement Marin (MAPIEM) pour m'avoir accueillie au sein de son laboratoire, et pour m'avoir donné la chance d'intégrer l'axe de recherche « Matériaux Polymères à Architectures Contrôlées ».

J'adresse mes remerciements au Professeur Hugues Brisset pour son soutien et l'attention qu'il a portés à mon travail au cours de ces trois années en tant que directeur de thèse. Je le remercie particulièrement pour sa présence, pour son écoute et ses conseils précieux.

Je tiens à remercier le Docteur Catherine Branger, co-directrice de thèse, pour sa disponibilité, et pour ses enseignements de grande qualité, ses connaissances, son expérience, ainsi que pour son soutien personnel. Tout cela m'a permis de mener à bien ce travail de thèse.

Je suis reconnaissante envers la région Provence-Alpes-Côte d'Azur, les Pôles Régionaux d'Innovation et de Développement Economique Solidaire (PRIDES) et la Société du Canal de Provence pour leur financement. Mes remerciements vont particulièrement au Docteur Pascal Dollet pour ses conseils et pour l'intérêt qu'il a porté à ce sujet.

Je remercie vivement le Professeur Karsten Haupt de l'Université de Technologie de Compiègne et le Professeur Thierry Noguer de l'Université de Perpignan Via Domitia d'avoir accepté d'être rapporteurs de mon travail de thèse. Je remercie également le Professeur Valérie Langlois de l'Université Paris XII, de m'avoir fait l'honneur de participer à mon jury de thèse.

J'adresse aussi toute ma gratitude aux Docteurs Héli Sirèn et Katri Laatikainen de l'Université de Lappeenranta, en Finlande, et au Professeur Sergey Piletsky de l'Université de Leicester, en Angleterre, et à leurs équipes pour m'avoir accueillie dans leur laboratoire respectif dans le cadre d'une collaboration sur la partie synthèse et analytique de ce travail. Je remercie également les Docteurs G. Istamboulié et C. Calas-Blanchard, de l'Université de Perpignan Via Domitia, pour le temps qu'ils ont consacré à la réalisation d'électrodes sérigraphiées.

Je tiens également à exprimer ma reconnaissance aux Docteurs Gérard Culioli et Brigitte Gedoux ainsi qu'à Bernard Fache, Julien, Laure, Phuong, Nizami, les enseignant-chercheurs, les ingénieurs, les techniciens du laboratoire qui ont su m'apporter leur soutien au cours de la thèse.

Je n'oublie pas tous les collègues du laboratoire pour la sympathie et l'amitié qu'ils ont toujours su me témoigner.

Enfin, je remercie toute ma famille, ainsi qu'Olivier, Pierre-Yves et Martine qui ont su m'entourer et me soutenir à différents moments de ma vie.

Publications (2) :

1. D.Udomsap, C.Branger, G.Culioli, P.Dollet, H.Brisset "A versatile electrochemical sensing receptor based on a molecularly imprinted polymer", *Chem. Commun.*, **2014**, **50** (56), **7488 - 7491**
2. K. Laatikainen, D. Udomsap, H. Siren, H. Brisset, T. Sainio, C. Branger "Effect of Template Ion-Ligand Complex Stoichiometry on Selectivity of Ion-Imprinted Polymers", *Talanta*, accepté.

Brevet (1) :

Brevet français «Polymère à empreinte et procédé de préparation» FR 1000175817, déposé le 21/12/2012 et extension internationale le 18/12/2013 (PCT/IB2013/061196).

Séjours de recherche à l'étranger (2) :

1. Février 2014 (2 semaines) : Université de Leicester (équipe du Professeur Sergey Piletsky)
2. Octobre-décembre 2013 (3 mois) : Université de Lappeenranta, Laboratory of Separation Technology (équipe du Professeur Heli Sirèn)

Mission d'expertise (1) :

1. Développement de polymères par polymérisation en suspension (1 an) : CTGen

Communications orales invitées à des colloques internationaux (2) :

1. D.Udomsap*, C.Branger, G.Culioli, P.Dollet, H.Brisset "Electrochemical molecularly imprinted polymers for monitoring of polycyclic aromatic hydrocarbons in water" **Biosensors 2014, Melbourne, Australie, 27-30 mai 2014**
2. C.Branger*, D.Udomsap, A.Margaillan, H.Brisset, "Imprinted polymers for micropollutant extraction and sensing" **1st France-Japan Symposium on Green-Materials and Advanced Characterization (GMAC2013), Hyères, France, 27-28 juin 2013**

Communications orales à des colloques internationaux (2) :

1. C.Branger*, H. Brisset, D. Udomsap, A.Margaillan "Imprinted polymers as antibody mimicking synthetic materials: application to extraction and sensing", **Nature Inspires Chemistry Engineers (NICE 2014), Nice, France, 15-17 octobre 2014**
2. D.Udomsap, C.Branger, G.Culioli, P.Dollet, H.Brisset* "Electrochemical cross-linked molecularly imprinted polymer as recognition element in BaP sensor" **MIP 2014 8th conference on Molecular Imprinting, Zhenjiang, Chine, 18-21 septembre 2014**
3. D.Udomsap*, C.Branger, G.Culioli, P.Dollet, H.Brisset "Development of sensors based on electrochemical cross-linked molecularly imprinted polymer for the detection of polycyclic aromatic hydrocarbons in water" **XVIII^e Transfrontier Meeting - Sensors and Biosensors, Alès, 19-20 septembre 2013**

Communications par affiche à des colloques internationaux (3) :

1. D.Udomsap*, C.Branger, G.Culioli, P.Dollet, H.Brisset "A new electrochemical cross-linked molecularly imprinted polymer: synthesis, characterization and use in sensors field" **3rd International Conference on Bio-Sensing Technology, Sitges, Espagne, 12-15 mai 2013**
2. C.Branger*, W.Meouche, D.Udomsap, H.Brisset, A.Margaillan "Design of porous polymer sorbents for micropollutant extraction" **SECyTA 2012 - Scientific Meeting of the Spanish**

Society of Chromatography and Related Techniques, Tarragona, Espagne, 14-16 novembre 2012

3. D.Udomsap*, H.Brisset, P.Dollet, C.Branger "New molecularly imprinted polymers for BaP sensors" **MIP 2012 Molecularly Imprinted Polymers - Science and Technology, Paris, 27-30 août 2012**

Communications orales à des colloques nationaux (3) :

1. D.Udomsap*, H.Brisset, G.Culioli, P.Dollet, C.Branger, "Polymère à empreintes moléculaires : application à la détection de HAP" **13^{èmes} Journées du GFP Méditerranée, Montpellier, 3 octobre 2013**
2. D.Udomsap*, C.Branger, G.Culioli, P.Dollet, H.Brisset, "Polymère à empreintes moléculaires : synthèse, caractérisation et utilisation dans le domaine des capteurs" **41^{èmes} Journées d'Etude des Polymères (JEPO 41), Aussois, 15-20 septembre 2013**
3. D.Udomsap*, C.Branger, G.Culioli, P.Dollet, H.Brisset, "Polymère à empreintes moléculaires : synthèse, caractérisation et utilisation dans le domaine des capteurs" **23^{èmes} Journées de la Chimie SCF PACA, Nice, 11 avril 2013**

Séminaires de laboratoire (2) :

1. Electrochemical molecularly imprinted polymer based-PAH sensor, Séminaire du Laboratory of Separation Technology, **Lappeenranta University of Technology, Finlande, 19 novembre 2013**
2. New molecularly imprinted polymers for Benzo(a)Pyrene sensors in environmental application, **Séminaire du Laboratoire MAPIEM, Toulon, 4 avril 2013**

SOMMAIRE

Liste des abréviations	1
Introduction générale	3
Chapitre 1. Polymère à empreintes moléculaire et capteurs-Etude bibliographique.	7
1. Les polymères à empreintes moléculaires.....	9
1.1 Les différentes approches	10
1.1.1 Approche covalente.....	11
1.1.2 Approche semi-covalente.....	11
1.1.3 Approche non-covalente.....	11
1.2 Différents formats de MIPs.....	12
1.2.1 MIPs obtenus par polymérisation en masse.....	13
1.2.2 MIPs obtenus sous forme de particules sphériques	14
1.2.3 MIPs sous forme de nanoparticules.....	15
1.2.4 MIPs sous forme de films et de membranes.....	16
1.3 Avantages et inconvénients des MIPs.....	17
1.4 Principales applications des MIPs	18
2. MIPs en tant qu'élément de reconnaissance dans les capteurs	20
2.1 Différents types de capteurs basés sur des MIPs	20
2.1.1 Capteurs optiques.....	20
2.1.2 Capteurs piézoélectriques.....	24
2.1.3 Capteurs électrochimiques	26
2.2 MIP et détection électrochimique.....	27
2.2.1 Signal généré par la cible	27
2.2.2 Signal dû à l'interaction MIP-cible.....	29
2.2.3 Utilisation d'une sonde rédox.....	31
2.2.4 Le cas des polymères conducteurs.....	33
3. Positionnement du travail de thèse.....	35
Références.....	36

SOMMAIRE

Chapitre 2. Synthèse et caractérisation physico-chimique de nouveaux MIPs électrochimiques pour le benzo(a)pyrène. 46

1. Hydrocarbures polycycliques aromatiques et benzo(a)pyrène	48
2. Polymères à empreintes moléculaires destinés aux HAPs	50
3. Choix des paramètres de synthèse	56
3.1. Choix du monomère fonctionnel et de l'agent réticulant	56
3.2. Choix de la technique de polymérisation	57
4. Etude préliminaire de polymérisation par précipitation	60
5. Polymérisation par précipitation par distillation	61
5.1. Etude préliminaire de condition de synthèse	62
5.2. Caractérisation par spectroscopie IRTF et analyse élémentaire	67
5.3. Propriétés texturales par adsorption-désorption d'azote (BET)	69
5.4. Stabilité thermique	71
6. Conclusion	72
7. Références	72

Chapitre 3. Propriétés d'adsorption et propriétés électrochimiques des MIPs électrochimiques 78

1. Quantification des HAPs par HPLC, détermination de LOD et LOQ	80
2. Propriétés d'adsorption	81
2.1. Cinétique d'adsorption	83
2.2. Isothermes d'adsorption	84
2.3. Application des modèles théoriques d'adsorption	85
2.4. Comparaison avec la littérature	87
3. Sélectivité croisée	87
4. Influence de la matière organique	89
5. Etude électrochimique	91
5.1. Voltampérométrie cyclique des électrodes à base de MIP/NIP	92
5.2. Propriétés électrochimiques des électrodes à base de MIP/NIP en présence de BaP	96
6. Conclusion	100
7. Références	102

SOMMAIRE

Chapitre 4. Extension et étude des MIPs électrochimiques à des monomères aromatiques.	104
1. Polymérisation par précipitation avec un four d'hybridation et caractérisation morphologique	106
1.1. Polymérisation avec un four d'hybridation	106
1.2. Caractérisation par analyse élémentaire	110
1.3. Propriétés texturales par adsorption-désorption de diazote (BET)	111
1.4. Stabilité thermique	112
2. Propriétés d'adsorption	114
2.1. Cinétique d'adsorption.....	115
2.2. Isothermes d'adsorption.....	116
2.3. Application des modèles théoriques d'adsorption.....	118
3. Sélectivité croisée.....	118
4. Influence de la matière organique.....	119
5. Recyclage	120
6. Etude électrochimique	121
6.1. Evaluation du comportement de l'électrode à base de MIP.....	121
6.2. Propriétés électrochimiques en présence du BaP	122
7. Conclusion.....	126
8. Références.....	127
 Conclusion générale	 128
 Partie expérimentale	 130
 Annexes	 144

ABREVIATIONS

Produits chimiques

AC : Acénaphène
ACN : Acénaphylène
AIBN : Azobisisobutyronitrile
ANT : Anthacène
BaA : Benzo(a)anthracène
BaP : Benzo(a)pyrène
BbF : Benzo(b)fluoranthène
BeP : Benzo(e)pyrène
BghiP : Benzo(ghi)pérylène
BkF : Benzo(k)fluoranthène
CHR : Chrysène
DaA : Dibenzo(a,h)anthracène
DaP : Dibenzo(a,h)pyrène
DIDM : Diphénylméthane 4,4'-diisocyanate
DMAEM : Méthacrylate de 2-(diéthylamine)
DVB : Divinylbenzène
EDMA : Diméthacrylate d'éthylène glycol
EDOT : 3,4-Ethylènedioxythiophène
FA : Fluoranthène
FL : Fluorène
HAP : Hydrocarbure Aromatique Polycyclique
HEMA : 2-Hydroxyéthylméthacrylate
IcP : Indeno(1,2,3-cd)pyrène
ITO : Oxyde d'indium-étain
MAA : Acide méthacrylique
2-MBI : 2-Mercaptobenzimidazole
MMA : Méthylméthacrylate
NOBE : N,O-bisméthylacryloyléthanolamine
PHE : Phénanthrène
PTMS : Phényltriméthoxysilane
PY : Pyrène
Str : Styrène
TBAPF₆ : Tétrabutylammonium hexafluorophosphate
TEOS : Tétraéthoxysilane
TFMAA : Acide trifluorométhacrylique
TRIM : Triméthacrylate de triméthylolpropane
VFA : N-vinylformamide
VFc : Vinylferrocène
4VP : 4-vinylpyridine

ABBREVIATIONS

Techniques d'analyse et autres

ATG : Analyse thermogravimétrique
BAW : Onde acoustique de volume (Bulk Acoustic Wave)
BET : Brunauer Emmett Teller
BJH : Barrett Joyner Halenda
Ce : Concentration d'équilibre
Ci : Concentration initiale
CPE : Electrode à pâte de carbone (ex. MIP-CPE, NIP-CPE)
CV : Coefficient de variation
CV: Voltampérométrie cyclique (Cyclic Voltammetry)
DAD : Détecteur à barrette de diode (Diode Array Detector)
DPP : Polymérisation par précipitation par distillation (Distillation Precipitation Polymerization)
DPV : Voltampérométrie différentielle pulsée (Differential Pulse Voltammetry)
FET : Transistor à effet de champ (Field Effect Transistor)
FL : Spectrofluorimètre
GC-FID : Chromatographie en phase gazeuse à détecteur d'ionisation de flamme
GC-MS : Chromatographie en phase gazeuse couplée à spectromètre de masse
HPLC : Chromatographie en phase liquide haute performance
HPLC-UV : Chromatographie en phase liquide haute performance à détecteur d'ultraviolet
HPLC-FL : Chromatographie en phase liquide haute performance à détecteur de fluorescence
IF : Facteur d'empreinte (Imprinting Factor)
IRTF : Infrarouge à transformée de Fourier
ISFET : Transistor à effet de champ sélectif d'ions (Ions Selective Field Effect Transistor)
LOD : Limite de détection
LOQ : Limite de quantification
MEB : Microscopie électronique à balayage
MIP : Polymère à empreintes moléculaires (Molecularly Imprinted Polymer)
MIP-SPE ou MISPE : Séparation en phase solide à base de polymère à empreintes
NIP : Polymère non-imprimé (Non-Imprinted Polymer)
Q : Capacité d'adsorption
QCM : Microbalance à cristal de quartz (Quartz Cristal Microbalance)
QMB : Microbalance à quartz (Quartz Microbalance)
SAM : Monocouche auto-assemblée (Self Assembled Monolayer)
SAW : Onde acoustique de surface (Surface Acoustic Wave)
SCE : Electrode au calomel saturé (Saturated Calomel Electrode)
SPE : Extraction en phase solide (Solid Phase Extraction)
SPR : Résonance plasmonique de surface (Surface Plasmonic Resonance)
 S_{BET} : Surface spécifique déterminée par la méthode BET
 $S_{spé}$: Surface spécifique
SWV : Voltampérométrie à onde carrée (Square Wave Voltammetry)



Introduction

INTRODUCTION GENERALE

Un capteur est le premier élément d'une chaîne de mesure dont la fonction essentielle est de détecter, voire de quantifier, un phénomène physique, biologique ou encore chimique en un signal mesurable et directement utilisable par l'homme. Les capteurs mesurant une grandeur physique sont largement utilisés dans notre quotidien, car faciles à mettre en œuvre, pour mesurer des longueurs (contrôles industriels,...), des masses, des pressions (pression des pneus de nos véhicules, météorologie,...), des accélérations (accéléromètre des smartphones,...), des variations de température (chauffage, moteur,...), des débits (gaz, liquides), de l'humidité (réfrigération, séchage,...). Le cabinet IDTechEx (www.idtechex.com) estime que le marché mondial des réseaux de capteurs sans fil passera de 0,45 à 2 milliards de dollars entre 2011 et 2021. Ce cabinet, qui a basé son étude sur 140 fabricants et intégrateurs, indique que cette croissance est due à la démocratisation des capteurs et des réseaux de connexion et à leur utilisation dans des domaines très variés, dont certains n'existent même pas encore. D'un point de vue académique, le nombre de travaux relatant une application dans le domaine des capteurs est particulièrement important. Ainsi, une simple recherche dans Web of Science avec le mot clé « sensor » limité au seul titre conduit à plus de 234000 articles dont 178000 sur les dix dernières années (Figure 1).

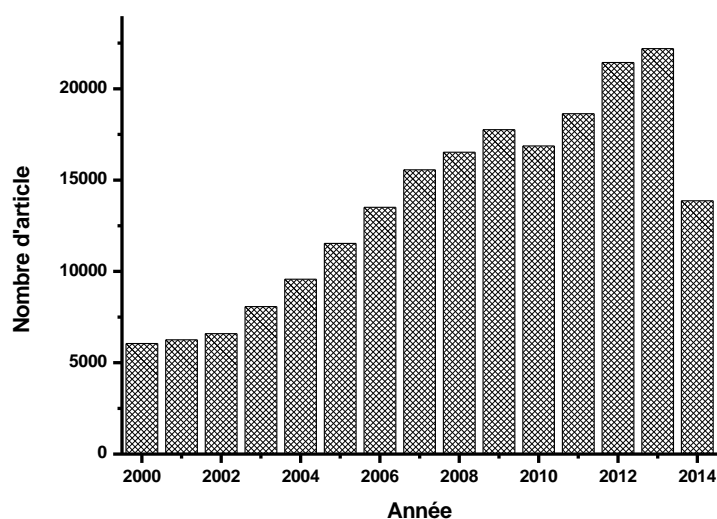


Figure 1. Articles publiés incluant le mot clés « sensor » dans le titre. Source Web of Science™ du 8/10/2014.

Pour une grandeur physique, les principes de détection utilisables sont multiples. A titre d'exemple, une pression peut être suivie par l'effet piézoélectrique, des variations d'impédance ou encore des modifications de propriétés optiques. Au contraire, la détection d'un composé organique, que ce soit dans le cadre de la surveillance sanitaire ou environnementale est plus problématique ne serait-ce que pour des raisons d'échelle de la cible. Deux appellations sont utilisées pour décrire un capteur moléculaire selon qu'il fasse appel à une détection purement basée sur des interactions chimiques ou à une détection incluant dans son fonctionnement un objet biologique : le premier est un capteur chimique, le second un biocapteur. Dans le cas des biocapteurs, l'élément biologique est généralement utilisé pour la reconnaissance afin d'augmenter la sensibilité et la spécificité, qui font généralement défaut dans les capteurs chimiques. Un biocapteur a été défini par Thevenot et *al.* comme un dispositif intégré capable de fournir des informations spécifiques quantitatives ou semi-quantitatives grâce à un élément de reconnaissance d'origine biologique qui est en contact direct avec un élément de transduction,

ce dernier ayant pour rôle de traduire le phénomène de reconnaissance en un signal mesurable.¹ Les éléments biologiques apportant la sensibilité et la spécificité aux biocapteurs sont dans la grande majorité des cas une enzyme ou un anticorps. Cependant, l'utilisation de ces éléments biologiques n'est pas si simple. En effet, outre la problématique de les fixer sur un support et de transformer le phénomène de reconnaissance en un signal mesurable, il y a les problèmes de stabilité du biocapteur que ce soit lors du stockage ou en utilisation ainsi que le coût qui peut se révéler prohibitif, notamment pour les biocapteurs basés sur l'utilisation d'anticorps. Les anticorps permettent indéniablement une grande spécificité mais nécessitent des protocoles de préparation et d'utilisation compliqués. Une alternative à leur utilisation consiste à employer des polymères à empreintes moléculaires (MIP pour Molecularly Imprinted Polymer). Les MIPs offrent, en plus de la stabilité, la possibilité de détecter des molécules de faibles poids moléculaires difficilement accessibles par des anticorps en raison de leur mode de production nécessitant l'immunisation d'un animal.² De ce point de vue, les MIPs sont intéressants compte tenu de la demande croissante dans la recherche de composés organiques comme par exemple des polluants (herbicides, pesticides, résidus médicamenteux, résidus de combustion,...). Une nouvelle recherche dans Web of Science avec le mot clé « sensor » limité au titre, associé à « molecular* imprinted » dans le champ « topic », conduit à seulement 801 articles dont 751 sur les dix dernières années avec une augmentation du nombre d'articles publiés ces dernières années (figure 2).

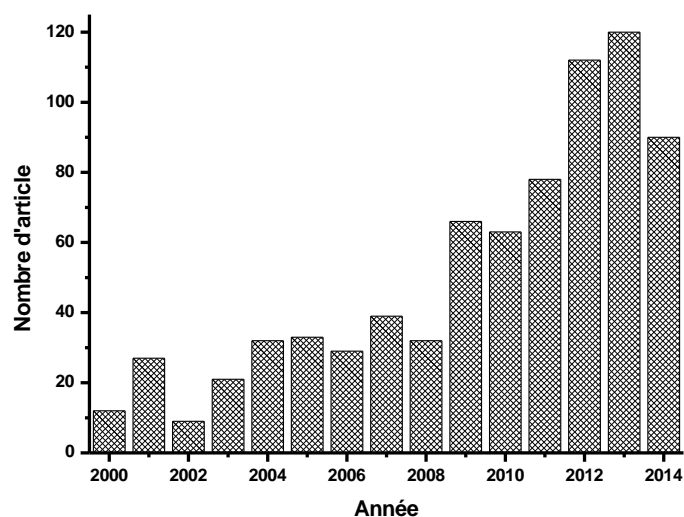


Figure 2. Articles publiés incluant les mots clés « sensor » dans le titre et « molecular* imprinted » dans le champ « topic ». Source Web of Science™ du 8/10/2014.

Le travail de thèse présenté dans ce manuscrit a été mené avec l'appui de la Société du Canal de Provence (SCP) dont une des préoccupations est la pollution possible de l'eau qu'elle distribue par des composés organiques de la famille des hydrocarbures aromatiques polycycliques (HAPs). La SCP alimente en eau l'ouest de la Région Provence-Alpes-Côte d'Azur, principalement les départements des Bouches-du-Rhône et du Var (Figure 3). L'alimentation en eau du territoire est effectuée principalement à partir de l'eau du Verdon à l'aide d'un réseau de transport artificiel. La ressource du Verdon présente une très bonne qualité chimique mais peut

¹ Thévenot, D.R.; Toth, K.; Durst, R.A.; Wilson, G.S. Electrochemical Biosensors: Recommended Definitions and Classification. *Biosens. Bioelectron.*, **2001**, *16*, 121-131.

² Coico R. and Sunshine G., Immunology : A Short Course. 6th ed. 2009 : Wiley-Blackwell

INTRODUCTION GENERALE

être exposée à des risques de pollution accidentelle le long de son transport notamment pour les parties à ciel ouvert. A cet effet, la SCP dispose d'un laboratoire d'analyse des eaux qui assure les analyses physico-chimiques et biologiques telles que DBO (Demande Biologique en Oxygène), DCO (Demande Chimique en Oxygène), MES (Matières en Suspension), des principaux ions (Ca^{2+} , Mg^{2+} , PO_4^{3-} , NO_3^- ...), des traces de métaux (mercure, plomb, fer...). L'utilisation de capteurs pourrait diminuer le coût de ces analyses mais surtout permettre un suivi en continu des polluants potentiels. Les capteurs physico-chimiques que possède la SCP sont destinés à suivre le pH, la conductivité, la quantité d'oxygène dissout (DO), la turbidité, la température, la radioactivité gamma, les hydrocarbures totaux (indication relative à la pollution de surface). Toutefois, ces capteurs ne sont pas suffisants pour détecter la présence de polluants organiques plus spécifiques tels que les pesticides ou les hydrocarbures aromatiques polycycliques.

Un capteur à base d'éléments de reconnaissance biologique (ex. anticorps) est peu approprié à cette utilisation en raison des problèmes liés à la turbidité, à la tenue en matière organique dans le milieu, à la faible stabilité des anticorps dans ces conditions et surtout en raison du faible poids moléculaire des cibles. Dans ce contexte, un capteur basé sur l'utilisation de polymères à empreintes moléculaires pourrait se révéler particulièrement intéressant.

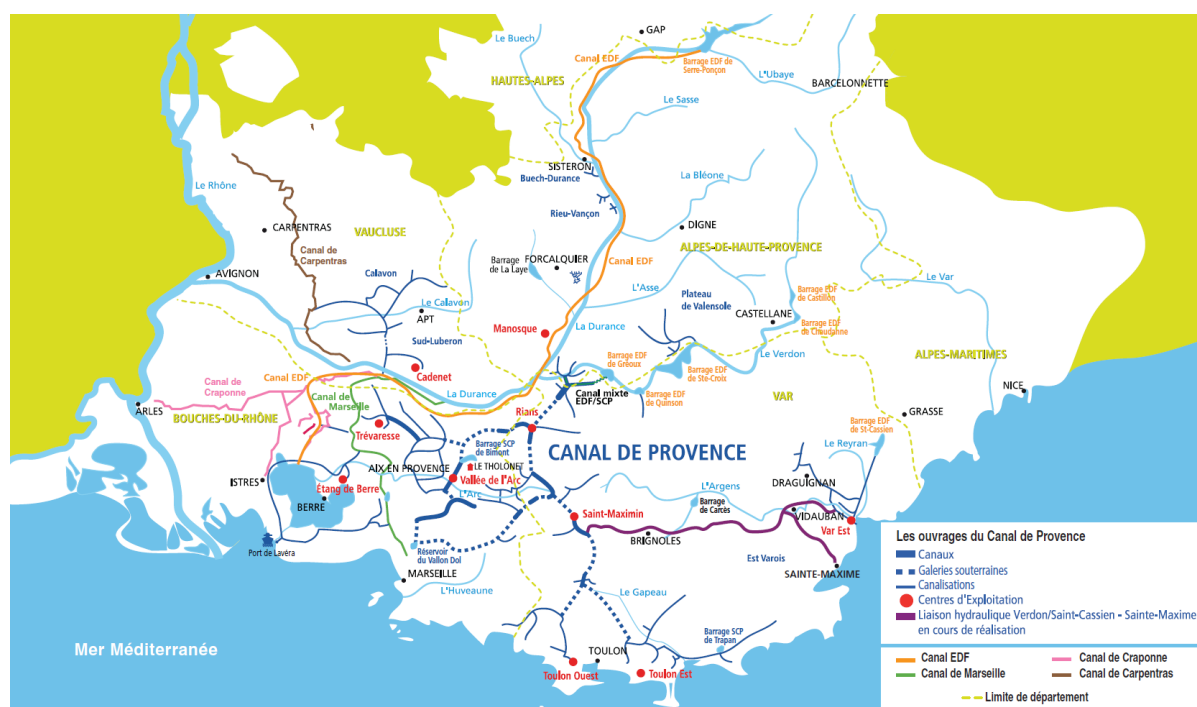


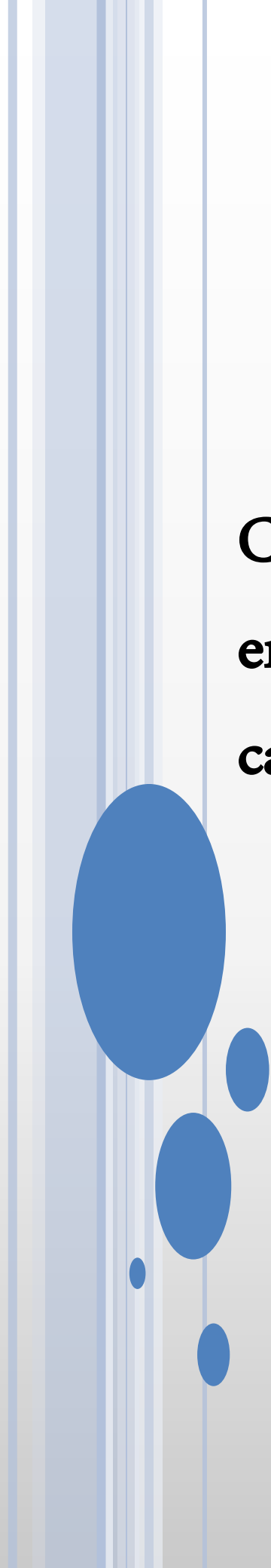
Figure 3. Les principaux aménagements hydrauliques de la SCP (www.canal-de-provence.com).

Au cours de ce travail de thèse, un MIP intégrant directement un système rédox a été développé. L'objectif visé est l'obtention d'un système qui est : 1) capable d'adsorber une cible de façon sélective et 2) interrogeable par électrochimie pour obtenir une information sur la présence ou pas de cette cible.

Après un rappel bibliographique sur les MIPs et leur utilisation dans des capteurs, le second chapitre décrira la synthèse de MIPs comportant un système rédox ayant pour cible le benzo(a)pyrène. Le troisième chapitre présentera les propriétés de ces MIPs. Enfin, au cours du

INTRODUCTION GENERALE

quatrième chapitre, avant de conclure, les différentes modifications apportées au protocole de synthèse des MIPs dans le but d'améliorer leurs performances seront présentées.



Chapitre 1. Polymères à empreintes moléculaires et capteurs-Etude bibliographique

Table des matières

1. Les polymères à empreintes moléculaires.....	9
1.1 Les différentes approches	10
1.1.1 Approche covalente.....	11
1.1.2 Approche semi-covalente.....	11
1.1.3 Approche non-covalente.....	11
1.2 Différents formats de MIPs	12
1.2.1 MIPs obtenus par polymérisation en masse.....	13
1.2.2 MIPs obtenus sous forme de particules sphériques	14
1.2.3 MIPs sous forme de nanoparticules.....	15
1.2.4 MIPs sous forme de films et de membranes	16
1.3 Avantages et inconvénients des MIPs.....	17
1.4 Principales applications des MIPs	18
2. MIPs en tant qu'élément de reconnaissance dans les capteurs	20
2.1 Différents types de capteurs basés sur des MIPs	20
2.1.1 Capteurs optiques.....	20
2.1.2 Capteurs piézoélectriques.....	24
2.1.3 Capteurs électrochimiques	26
2.2 MIP et détection électrochimique.....	27
2.2.1 Signal généré par la cible	27
2.2.2 Signal dû à l'interaction MIP-cible.....	29
2.2.3 Utilisation d'une sonde rédox.....	31
2.2.4 Le cas des polymères conducteurs.....	33
3. Positionnement du travail de thèse	35
Références.....	36

1. Les polymères à empreintes moléculaires

Le caractère « empreinte » d'un polymère a été introduit pour la première fois par M.V. Polyakov en 1931 [1]. Cet auteur a noté le comportement anormal de l'adsorption par des particules de silice des dérivés benzéniques utilisés lors de leur synthèse. Ce fut également la première fois que l'effet de sélectivité fut observé et expliqué par le terme d'empreinte. La même méthodologie a été adoptée pour la synthèse de gels de silice en 1949 par F.H. Dickey qui a réussi à obtenir un polymère sélectif de l'hélianthine [2]. Cet auteur a introduit le terme « adsorption spécifique », référencée ensuite sous le nom « d'empreinte moléculaire ». Les premières applications n'apparaissent cependant que dans les années cinquante pour la séparation chirale des énantiomères de l'acide mandélique et de l'acide camphorsulfonique, en utilisant des particules de silice imprimées comme phase stationnaire en chromatographie [3]. Après deux décennies de recherche pourtant intense, le déclin de l'étude des silices à empreinte semble avoir coïncidé avec l'introduction de l'empreinte moléculaire dans des polymères organiques, développée indépendamment par G. Wulff [4] et I.M. Klotz [5] en 1972. Alors qu'I.M. Klotz et son équipe ont synthétisé des polymères réticulés pour l'adsorption spécifique de l'hélianthine, l'objectif affiché par G. Wulff était d'élaborer des polymères de structures analogues à celles des enzymes pour la résolution de mélanges racémiques.

Depuis ces travaux, la technique a été également appliquée pour imprimer des ions métalliques par une approche de coordination métallique [6]. Cependant, le développement le plus marquant dans le domaine des polymères à empreintes est attribué à l'introduction de l'approche non-covalente par l'équipe de K. Mosbach, dans les années quatre-vingts, en raison de la diversité des cibles imprimables par cette approche [7,8]. La figure 1 illustre le nombre croissant d'articles et de brevets publiés dans le domaine entre 1931 et 2014 avec une très forte croissance après 1990.

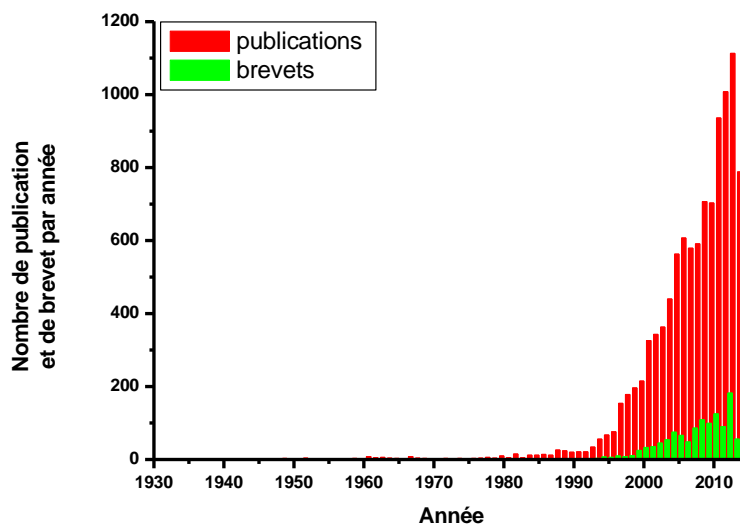


Figure 1. Nombre de publications et de brevets dans le domaine des polymères à empreintes par année entre 1931 et 2014 au 22/09/2014 (www.mipdatabase.com).

La technique d'impression moléculaire permet de préparer des polymères capables de reconnaître de façon sélective une molécule choisie, communément appelée "molécule cible" [9]. La synthèse de polymère à empreintes moléculaires (MIP en abrégé pour Molecularly Imprinted Polymer) se fait, de façon générale, en trois étapes : (i) des monomères fonctionnels, susceptibles d'avoir une interaction avec la molécule cible, se pré-arrangent en présence de celle-ci dans un solvant dit « porogène », dont le rôle est de créer des pores au sein de la matrice polymère ; (ii) le mélange est copolymérisé avec un agent réticulant dans le but d'obtenir un polymère réticulé ; (iii) la cible et le solvant sont extraits du polymère formé. Après l'extraction de la cible, la matrice polymère contient des cavités dont la conformation est prédéfinie pour la reconnaissance sélective de la cible. La copolymérisation a lieu le plus souvent par un processus radicalaire classique. Le(s) monomère(s) fonctionnel(s), l'agent réticulant et la technique de polymérisation sont choisis et optimisés afin d'obtenir des MIPs avec la meilleure sélectivité et la plus grande capacité d'absorption ainsi que des propriétés physiques adéquates pour l'application visée.

1.1 Les différentes approches

Différentes approches peuvent être mises en œuvre pour la synthèse de MIPs en fonction de la nature des interactions entre le(s) monomère(s) fonctionnel(s) et la cible : approche covalente, approche semi-covalente et approche non-covalente (Figure 2).

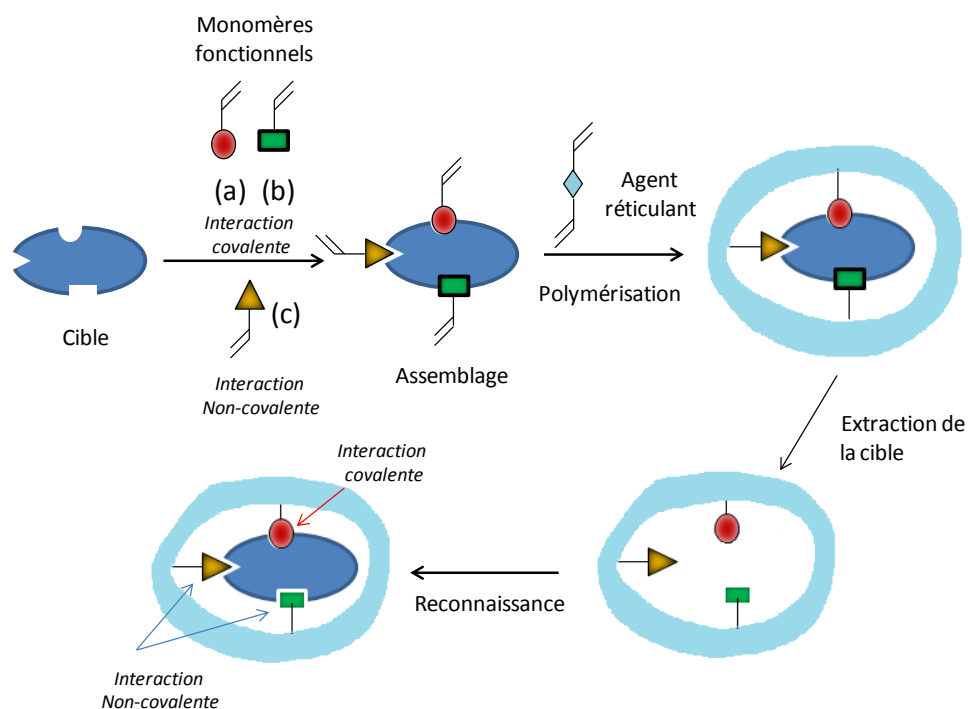


Figure 2. Différentes approches de synthèse des polymères à empreintes moléculaires : approche covalente (monomère a), approche semi-covalente (monomère b) et approche non-covalente (monomère c).

1.1.1 Approche covalente

L'approche covalente a été développée par G. Wulff [10–12]. Elle nécessite le couplage de la molécule cible avec un monomère fonctionnel. Après la polymérisation, la cible est extraite par rupture de la liaison covalente formée avec le réseau polymère. Cette extraction va laisser des sites présentant des fonctionnalités capables de reconnaître la molécule cible par rétablissement de la liaison covalente. Les avantages de cette approche sont : i) une interaction exclusive entre la cible et le monomère fonctionnel ; ii) des sites de reconnaissance homogènes en raison de la stabilité des liaisons covalentes ; iii) un rendement important en nombre de sites de reconnaissance par rapport à la quantité de molécules cible utilisée (efficacité d'impression) [13]. Bien qu'efficace, cette approche est limitée aux molécules ayant des fonctionnalités telles que des alcools, aldéhydes, cétones, amines ou acides carboxyliques [14–17], comme par exemple le (*S*)-propanolol [18], l'acide phénylbutyrique [19], le 9-éthyladénine [20], ou encore les stéroïdes [21].

1.1.2 Approche semi-covalente

L'approche semi-covalente reprend le principe de l'approche covalente, la différence se situant après l'extraction de la cible. En effet, cette étape, typiquement réalisée par hydrolyse, laisse alors des fonctionnalités capables d'interagir de nouveau avec la cible mais cette fois de façon non-covalente via des interactions de type Van der Waals ou des liaisons hydrogène [22]. La première véritable application de cette approche a été développée par B. Sellergren et L. Andersson pour l'impression du N-propionyl-L-2-amino-3-(4-hydroxyphényl)-1-propanol [23]. Le fait que la cible soit liée de façon covalente au monomère fonctionnel génère une bonne capacité d'adsorption puisque les sites de reconnaissance sont, en théorie, bien définis et répartis lors de la polymérisation [24]. Il y a deux principales méthodes pour l'approche semi-covalente : (a) l'interaction directe entre la cible et le monomère par une liaison facilement hydrolysable de type ester ou amide ou, (b) à l'aide d'un espaceur entre la cible et le monomère fonctionnel. Contrairement à l'approche covalente, l'approche semi-covalente peut être sujette à de l'interaction non-spécifique lors de la réabsorption. D'un point de vue littérature, l'approche semi-covalente est finalement peu rapportée. Des exemples peuvent être cependant cités pour l'adsorption du dichlorodiphényltrichloroéthane (DDT) [25], de l'estrone [26], du propofol (agent anesthésique) [27], des composés phénoliques [28], ou encore de la vanilline [29].

1.1.3 Approche non-covalente

L'approche non-covalente est considérée comme la technique la plus prometteuse pour mimer la sélectivité des systèmes de reconnaissance biologiques naturels, qui emploient eux-mêmes des interactions non-covalentes. Cette approche développée, par l'équipe de K. Mosbach en 1981, se base sur des liaisons de type hydrogène ou liaisons de Van der Waals entre le monomère fonctionnel et la cible pendant la polymérisation, mais aussi lors de la phase de reconnaissance [7]. Toutefois, étant donné que les interactions entre le monomère et la cible sont faibles, plusieurs combinaisons de complexe monomère-cible dans le mélange de pré-polymérisation sont possibles.

Par ailleurs, les monomères sont souvent présents en excès, ce qui conduit, après polymérisation, à une distribution aléatoire et hétérogène des sites de reconnaissance dans le polymère. Cette hétérogénéité des sites de reconnaissance peut se traduire par une affinité modérée pour la cible [30].

Cette méthode est cependant la plus couramment utilisée (au moins 90% des MIPs décrits dans la littérature) car elle est relativement simple puisqu'elle s'affranchit de l'étape de fonctionnalisation de la molécule cible [31]. Le choix du monomère fonctionnel, à l'origine des interactions entre la molécule cible et la matrice polymère, est fondamental dans cette approche. Une grande variété de monomères fonctionnels commerciaux disponibles peuvent être utilisés, en général de type acrylique ou vinylique, et ainsi offrir de nombreuses possibilités de synthèse de MIPs afin d'en optimiser les propriétés. Ceci conduit à un éventail d'applications beaucoup plus large que les approches covalente et semi-covalente car plus de molécules cibles sont « imprimables ». Un des premiers exemples marquants obtenu par cette approche a été la synthèse de polymères à empreintes de la théophylline et du diazépam, deux médicaments. Publié dans la revue *Nature* par K.Mosbach et coll., ce travail a attiré une attention considérable de la communauté scientifique pour le domaine de l'impression moléculaire, car il a été le premier à montrer qu'un MIP pouvait remplacer un anticorps naturel dans un essai clinique [32]. En effet, ce MIP a montré une sélectivité similaire aux essais réalisés avec des anticorps, permettant de discriminer la théophylline ou le diazépam des autres composés ayant des structures similaires. Les auteurs ont ainsi démontré que ces polymères synthétiques conçus pour mimer des systèmes de reconnaissance biologiques naturels pouvaient atteindre des performances similaires à ces systèmes, ce qui leur a valu d'être qualifiés d'anticorps en plastique ("plastic antibodies") [33].

1.2 Différents formats de MIPs

Excepté pour quelques cas isolés de MIPs obtenus par polycondensation, les polymères à empreintes sont généralement préparés par polymérisation radicalaire. Leurs formats peuvent varier selon le procédé de polymérisation : la polymérisation en masse conduit à des matériaux monolithiques ou des particules irrégulières après broyage, tandis que des particules bien définies de polymères peuvent être produites par polymérisation hétérogène (suspension ou émulsion), homogène (dispersion ou précipitation) ou dans un format cœur-écorce (core-shell). En fonction des applications visées, des mises en forme telles que des films et des membranes, peuvent être envisagées. D'autres formats moins courants tels que des nano-structures, nanofibres, nanotubes et dendrimères existent également mais ne seront pas discutés dans ce manuscrit.

1.2.1 MIPs obtenus par polymérisation en masse

L'expression largement utilisée de « polymérisation en masse » est quelque peu usurpée puisqu'un solvant porogène est couramment utilisé pour la synthèse des MIPs. La terminologie correcte devrait donc être « polymérisation en solution ». Toutefois, étant donné que les quantités de solvant sont suffisamment petites pour conduire à des matériaux massifs, cette procédure est classiquement nommée « polymérisation en masse » par la communauté [9]. C'est un moyen très pratique et facile de préparation des MIPs. Aucune compétence particulière ou équipements sophistiqués ne sont nécessaires, et elle a prouvé son intérêt pour le développement de nouvelles stratégies d'empreintes et des études mécanistiques. Pour ces raisons, elle reste une technique largement utilisée pour la préparation de MIPs.

a) *Sous forme de particules irrégulières*

Après l'étape de polymérisation, le polymère massif obtenu est généralement broyé et tamisé pour obtenir des particules de gamme de tailles appropriée (Figure 3), mais de forme irrégulière. Les procédures de broyage et tamisage utilisées sont très souvent consommatrices de temps, et conduisent à de faibles rendements de particules utilisables, de l'ordre de 20% [34]. Pour des applications spécifiques, telle que la chromatographie, la non-uniformité dans la taille ainsi que dans la forme des particules est problématique pour obtenir un remplissage optimal d'une colonne. Pour de telles applications, la synthèse de MIP sous forme de particules de taille régulière apparaît comme une solution adaptée [35].

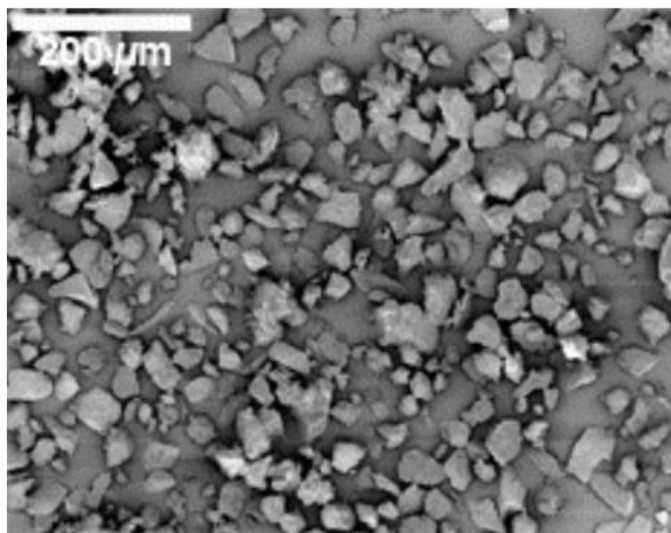


Figure 3. Exemple de particules de MIP obtenues par polymérisation en masse, après broyage [36].

b) Sous forme de micromonolithes

La polymérisation en masse a toutefois pu être appliquée avantageusement dans le cadre de la chromatographie capillaire [37]. En effet, dans cette technique, le remplissage des colonnes peut s'avérer fastidieux et l'utilisation de verre fritté aux extrémités de la colonne peut générer des phénomènes d'adsorption indésirables entre l'analyte et la silice du verre fritté. Pour surmonter ces problèmes, une technique de polymérisation *in situ* a été proposée, basée sur la polymérisation en masse au sein d'une colonne capillaire jouant le rôle de « récipient » de réaction (Figure 4). Ce procédé a été utilisé tout d'abord pour synthétiser des polymères pour des applications « classiques » (sans effet d'empreinte). Les polymères issus de cette technique sont appelés « micromonolithe » et leur morphologie est définie par leur « récipient » support. La première colonne capillaire à base de MIP synthétisé *in situ* a été décrite par K. Nilsson, en 1994, pour une colonne électrophorèse capillaire de la pentamidine (médicament utilisé pour le traitement de la pneumonie associée au SIDA) [38]. D'autres exemples ont été publiés et concernent la séparation d'énantiomères du (*R*)-propranolol, de la (*S*)-ropivacaine (anesthésiant local) [39] et du (*S*)-metoprolol (médicament pour le traitement de l'hypertension artérielle, et des insuffisances cardiaques) [40].

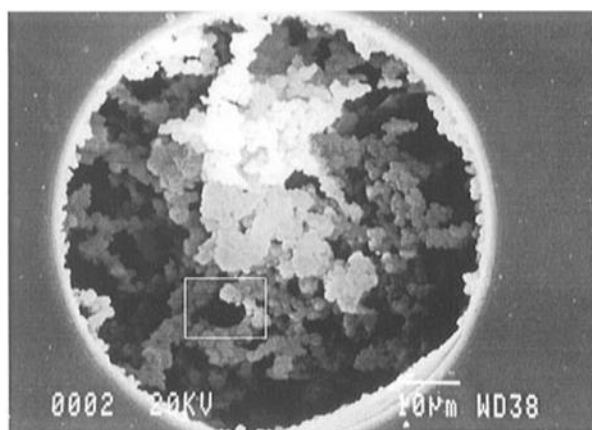


Figure 4. Image MEB de l'intérieur d'une colonne de chromatographie capillaire remplie par un MIP synthétisé *in-situ* [39].

1.2.2 MIPs obtenus sous forme de particules sphériques

Les méthodes de préparation couramment utilisées pour obtenir des particules sphériques de taille régulière sont la polymérisation en dispersion, la polymérisation par précipitation, la polymérisation en émulsion, la polymérisation cœur-écorce, ainsi que la polymérisation en suspension. Que ce soit pour la synthèse de MIPs ou de polymères « classiques », ces procédés se différencient par l'utilisation d'un milieu homogène ou hétérogène et éventuellement d'additifs tels que des surfactants. La taille des particules varie classiquement de quelques centaines de nanomètres à quelques centaines de microns pour les premières techniques, et peut aller jusqu'à 2000 μm pour la polymérisation en suspension [41]. Ces différentes méthodes ont été largement utilisées pour préparer des MIPs sous forme de particules sphériques monodisperses pour être

employées en tant que phase stationnaire en chromatographie ou comme adsorbant pour l'extraction en phase solide [35].

D'autres méthodes peuvent également être mises en œuvre en synthétisant un polymère à empreintes réticulé, soit autour de particules de polymère préformées comme dans la polymérisation par émulsion multi-étapes (two- et multi-step swelling) [42], soit autour de particules inorganiques, silice ou magnétite par exemple. Cette approche est alors qualifiée « d'impression de surface » [43]. Elle permet de réduire les problèmes de transfert de masse. Le MIP peut être greffé à la surface en fixant des groupements fonctionnels polymérisables sur le substrat ou il peut être directement initié à partir de la surface sur laquelle a été greffé un amorceur de polymérisation [44]. Cette technique de préparation de MIPs a été appliquée pour des composés tels que la L-phénylalanine anilide [45] sur des billes de silice de 5 à 10 μm de diamètre ou la lysozyme sur des nanoparticules de magnétite [46].

N. Pérez-Moral et A.G. Mayes ont comparé des MIPs pour le (*S*)-propanolol préparés par différentes techniques : polymérisations en masse, précipitation, suspension, émulsion cœur-écorce et émulsion multi-étapes [47]. Ils ont observé des différences de capacité d'adsorption en milieu organique et aqueux. En milieu organique (toluène + 0,5% acide acétique), la rétention du propanolol est meilleure pour le MIP préparé par polymérisation par précipitation. La rétention évolue comme suit : précipitation (50%) > suspension (40%) > polymérisation en masse (35%) > cœur-écorce (15%) > émulsion bi-étapes (10%). En milieu aqueux (citrate de sodium 25 mM + 0,5% acide acétique + 2% éthanol), en revanche, c'est le polymère obtenu par émulsion bi-étapes qui présente le meilleur résultat avec une rétention de 20% > suspension (19%) = polymérisation en masse (19%) > cœur-écorce (15%) > précipitation (0%). Cette étude révèle l'influence de la technique et du milieu de polymérisation sur les performances des MIPs. Cependant, la morphologie du polymère obtenu par les différentes techniques, le potentiel et la facilité de production en grande échelle peuvent également être des facteurs essentiels dans le choix d'un procédé en particulier.

1.2.3 MIPs sous forme de nanoparticules

Outre l'intérêt d'élaborer des MIPs sous forme de particules sphériques monodisperses bien définies, il apparaît également utile de réduire significativement leur taille. En effet, l'obtention de nanoparticules de MIPs permet d'atteindre de grands rapports surface spécifique/volume et de faciliter l'accès aux sites empreintes par la molécule cible [48]. La polymérisation par précipitation, la mini- et la microémulsion ainsi que l'approche cœur-écorce permettent d'atteindre de telles tailles. Toutefois de nouvelles approches ont été très récemment développées afin d'élaborer des MIPs solubles dont la taille est comparable à celle des anticorps naturels.

Ainsi, K. Haupt et *al.* ont préparé des MIPs sous forme de nanogels en utilisant un composé dit « multi-initiateur » qui permet d'initier simultanément la croissance de plusieurs chaînes polymères à partir d'un cœur commun [49]. Plus précisément, afin de contrôler la taille des particules, un « iniferter » (initiateur de polymérisation radicalaire contrôlée) dendritique

possédant 8 entités de type diéthylthiocarbamate a été utilisé. Des nanoparticules monodisperses de 17 nm de diamètre ont été obtenues présentant d'excellentes propriétés de reconnaissance de la cible. Quasi-simultanément, l'équipe de S. Piletsky a développé une approche de type synthèse sur phase solide pour préparer des MIPs sous forme de nanoparticules ne présentant qu'un seul site empreinte [50]. Le principe est basé sur le greffage de la molécule cible sur des billes de verre suivi d'une copolymérisation contrôlée au moyen d'un iniferter. Les meilleurs résultats de reconnaissance ont été obtenus avec des nanoparticules de 60 nm de diamètre, le système de synthèse ayant pu être automatisé et commercialisé [51].

1.2.4 MIPs sous forme de films et de membranes

Les MIPs peuvent également se trouver dans un film ou dans une membrane. Dans ce cas ces films ou membranes sont soit directement des MIPs, soit ils contiennent un MIP (sous forme de particules, par exemple). Plusieurs techniques ont été développées pour fabriquer ces films et/ou membranes à base de MIPs [52] :

- Dépôt d'une suspension de particules de MIP sur une matrice support. Ce dépôt peut être réalisé par différentes techniques telles que le drop-coating (dépôt de gouttes de solution sur un substrat puis formation de film par évaporation ou traitement thermique), le screen-printing ou la sérigraphie (mélange de particules de MIPs avec un liant tel qu'une pâte de carbone, puis impression sur un support en utilisant un masque quadrillé) ou le spin-coating (étalement d'une solution sur un support de façon homogène à l'aide d'une force centrifuge). A titre d'exemple, N. Kirsch et *al.* ont préparé une électrode sérigraphiée à base de pâte de carbone contenant un MIP du 1-hydroxypyrene, obtenu sous formes de particules de diamètre inférieur à 53 μm (préparées par polymérisation en masse) [53].
- Polymérisation *in situ* (*in situ* « cross-linking polymerization ») d'une solution de pré-polymérisation contenant la cible, le monomère fonctionnel et l'agent réticulant déposée sur un substrat, la polymérisation étant initiée soit thermiquement soit par une irradiation UV. Cette voie conduit à un film mince après polymérisation. Par cette technique, le (S)-propanolol a été imprimé sur des « wafers » de silicium fonctionnalisés [54]. Pour ce faire, une solution contenant la cible, le monomère fonctionnel et l'agent réticulant est déposée sur des wafers préalablement fonctionnalisés suivi de l'initiation de polymérisation par UV. Le but de cette fonctionnalisation des wafers par silylation était d'augmenter la mouillabilité des substrats, l'introduction des groupements polymérisables à la surface ayant pour objectif d'améliorer l'adhésion. Cette technique permet de contrôler la morphologie et l'épaisseur du film par la variation de la concentration de la solution pré-polymérisation.
- Monocouches auto-assemblées (Self-Assembled Monolayers, SAM). S. Balamurugan et D.A. Spivak ont publié une revue sur les techniques employées pour l'impression monocouche (« monolayer imprinting ») [55]. Une des techniques utilisées est basée sur la réaction spontanée d'un groupe thiol avec un substrat d'or pour former une liaison soufre-or. L'auto-

assemblage permet un attachement en un seul point de cette chaîne thiol sur la surface ce qui lui donne une certaine mobilité de conformation. Ce procédé d'immobilisation est étudié en raison de sa simplicité, mais aussi parce que les couches d'or sont largement utilisés dans divers types de capteurs chimiques. Les inconvénients de ces techniques sont liés au manque de stabilité de l'empreinte dû au fait que le film n'est pas réticulé. Ainsi, une destruction des sites de reconnaissance est possible par diffusion latérale des molécules, et en particulier si la cible doit être extraite. Ce problème a été partiellement résolu par l'introduction de groupements espaceurs [56]. Toutefois, cette technique de mobilisation reste marginale.

1.3 Avantages et inconvénients des MIPs

Les polymères à empreintes moléculaires sont souvent comparés aux systèmes naturels que sont les anticorps. Contrairement aux systèmes biologiques, les MIPs sont intrinsèquement stables dans différents milieux (aqueux ou non) et, par conséquent, présentent une durée de conservation supérieure à ceux-ci [11]. Ils remplacent, dans certains cas, des anticorps naturels notamment dans des essais immunologiques de type ELISA [57]. Les avantages et limitations des MIPs comparés aux éléments de reconnaissance d'origine naturelle sont résumés dans le tableau 1.

Tableau 1. Avantages et limitations des polymères à empreintes moléculaires et des anticorps [58-61].

	Avantages	Limitations
Polymères à empreinte moléculaire	<ul style="list-style-type: none"> - Forte affinité et sélectivité - Stable dans des conditions extrêmes de pH et de température - Réutilisable - Facilité de préparation, faible coût, temps de préparation court - Préparation reproductible - Possibilité de stockage long 	<ul style="list-style-type: none"> - Répartition hétérogène des sites de reconnaissance (dans le cas de l'approche non-covalente notamment) - Nécessite une quantité non-négligeable de cible ou de son analogue lors de la préparation - L'affinité dépend fortement du milieu de mesure
Anticorps	<ul style="list-style-type: none"> - Haute affinité et sélectivité pour un grand nombre de classes de composés - Anticorps monoclonaux possibles 	<ul style="list-style-type: none"> - L'immobilisation sur un substrat peut affecter le fonctionnement - Temps de préparation long et une purification poussée est nécessaire - Faible stabilité thermique, stabilité dépendante du pH - Possibilité de se régénérer et de réutilisation limitées - Variations entre les lots - Coûts de production - Temps de stockage limité

L'utilisation des MIP rencontrent toutefois trois principales limitations [62] :

(1) Les propriétés de reconnaissance des MIPs sont parfois limitées par le fait que l'adsorption non-spécifique pour des espèces proches de la cible n'est pas toujours négligeable. Selon les applications, ce problème peut être contourné, par exemple, dans le cadre des capteurs par des mesures différentielles, le signal étant la différence entre la réponse de la cible et des espèces interférentes [63].

(2) Les MIPs présentent généralement des propriétés de reconnaissance meilleures en milieu organique qu'en milieu aqueux, qui est le milieu privilégié pour un grand nombre d'applications environnementales ou biologiques. En effet, les interactions monomère-cible telles que les forces électrostatiques ou les liaisons hydrogène sont faibles ou inexistantes en solution aqueuse. Une autre difficulté à contourner est le caractère généralement hydrophobe de la matrice de polymère. Les solutions à ce problème comprennent l'optimisation du pH, de la composition du tampon, des forces ioniques, et l'utilisation d'additifs organiques [64].

(3) La dernière problématique est le relargage de la cible restée éventuellement emprisonnée dans la matrice de polymère. Les protocoles de lavage prolongé et séquentiel peuvent partiellement résoudre ce problème. Une alternative est l'utilisation d'un analogue structural de la cible lors de la synthèse des MIPs [65]. Le relargage de l'analogue structural de la matrice peut alors être facilement différencié de celle de l'analyte visé.

1.4 Principales applications des MIPs

Les propriétés des MIPs font qu'ils sont un outil intéressant pour différents domaines d'application tels que la séparation, la purification, les capteurs, la catalyse et jusqu'à l'administration de médicament.

Dans les années cinquante, la première application des MIPs comme phase stationnaire de chromatographie a été développée par R. Curti et son équipe pour la séparation des énantiomères d'acide mandélique et d'acide camphorsulfonique [3]. La chromatographie reste à ce jour, un des domaines les plus étudiés pour les MIPs. Cette application permet la préparation de supports sur mesure avec une sélectivité prédéterminée. Une application importante concerne la résolution racémique de médicaments liée à la demande croissante pour des composés purs [36].

L'extraction en phase solide (SPE) est un autre domaine d'application important des MIPs en chimie analytique. Les particules de MIPs, utilisés comme matériaux absorbants sélectifs, peuvent être contenus dans une pré-colonne HPLC pour le mode en ligne et/ou dans une cartouche entre deux frittés pour le mode hors-ligne. La première étude des MIP-SPE a été rapportée par B. Sellergren en 1994 [66]. Un MIP avec des sites de reconnaissance pour le pentamidine a été synthétisé et évalué pour une utilisation en SPE. Ce MIP a été utilisé pour extraire sélectivement et pré-concentrer le pentamidine contenu dans des fluides biologiques, permettant ainsi sa détection directe. La voie MIP-SPE a été appliquée pour l'extraction de nombreux composés dans différentes

matrices d'échantillons biologiques (naproxène, bubivacaïne, dopamine) [67–69], d'échantillons environnementaux (nitrophénol, sulfonate de naphtalène, benzo(a)pyrène, fénuron) [70–73] et aussi dans l'analyse des aliments (quercétine, caféine) [74–76].

Les MIPs peuvent également être utilisés dans le domaine de la synthèse et de la catalyse. Pour la synthèse, les polymères imprimés sont utilisés directement comme réactifs ou comme agents auxiliaires dans une réaction. Dans de tels systèmes, les sites de reconnaissance des MIPs servent à diriger la réaction ou à masquer l'un des composants indésirable de la réaction. Bien que cette application reste largement inexplorée, certains travaux ont été réalisés. Par exemple, des matrices à empreintes moléculaires ont été préparées afin de guider la réduction régiosélective et stéréosélective de stéroïdes [77] et la synthèse stéréosélective d'acides aminés [78]. Un autre exemple d'application est la possibilité de déplacer un équilibre thermodynamique défavorable à la formation du produit. La présence d'un MIP qui va piéger le produit issu de la réaction permet ainsi de déplacer l'équilibre dans le sens de la formation de ce produit [79]. Dans les applications en catalyse, les MIPs agissent comme de véritables catalyseurs qui ne sont pas consommés au cours de la réaction [80]. L'utilisation de MIPs pour une telle application est très importante parce qu'ils sont capables d'imiter la sélectivité et la stéréospécificité des domaines de reconnaissance des enzymes, par exemple. Les principales approches pour obtenir des matériaux imprimés catalytiques sont l'utilisation des analogues du substrat [81], des intermédiaires de réaction (intermédiaires dans l'état de transition) [82] ou du produit en tant que cibles dans le protocole d'impression [83].

Un autre grand défi pour la technologie des MIPs concerne les substances thérapeutiques. Certains MIPs sont en effet utilisés comme moyen de délivrance de médicaments dans l'organisme ou comme moyen de contrôle de cette délivrance. Ils doivent assurer une libération du médicament sur le bon site, dans la bonne dose et à la bonne période de temps. Plusieurs revues s'intéressent à ce sujet [84–88]. En outre, le potentiel pour créer des MIPs biodégradables permettraient une plus grande souplesse dans l'utilisation *in-vivo* [85].

Les propriétés de reconnaissance remarquables des polymères à empreintes peuvent également être mises à profit pour l'élaboration de biocapteurs [13]. Les biocapteurs sont des capteurs composés d'un élément biologique servant de phase de reconnaissance physiquement lié à un substrat via une phase de transduction [89]. Cette phase de transduction a pour rôle de transmettre la modulation d'une grandeur chimique ou physique à un détecteur sous forme d'une grandeur mesurable. L'élément biologique peut être une enzyme, un anticorps, un acide nucléique tel que l'ADN, ou encore un micro-organisme. De par l'analogie des MIPs avec certains de ces systèmes de reconnaissance naturels, les capteurs à base de MIPs peuvent être qualifiés de biocapteurs ou de capteurs biomimétiques. La stabilité de ces polymères représente alors un atout majeur pour la conception et l'utilisation du capteur. Par ailleurs, la technologie des MIPs offre une très grande flexibilité de conception en termes de monomères, de taille, de morphologie ainsi que la possibilité d'être adaptés à différents types de capteurs grâce à de nombreuses techniques de synthèse et d'immobilisation. Cependant, pour obtenir un capteur à base de MIP efficace un certain nombre de facteurs sont à prendre en considération tel que le type de capteur, la technique de détection du signal et l'intégration du MIP dans le capteur [13,62,90].

2. MIPs en tant qu'élément de reconnaissance dans les capteurs

Ces dernières années, les capteurs à base de MIPs ont fait l'objet d'un intérêt croissant dans le domaine de la chimie analytique, comme en témoigne le nombre d'articles publiés (7612 articles publiés entre 2003 et 2013 (source : www.mipdatabase.com)). Pour qu'un capteur soit efficace, il doit générer un signal physique mesurable, et si possible quantifiable, lors de l'interaction entre l'espèce cible et l'élément de reconnaissance. L'élément qui a ce rôle est dénommé transducteur (Figure 5). Dans ce contexte, les MIPs peuvent être utilisés en tant qu'éléments de reconnaissance, le transducteur pouvant prendre différents aspects. Les principaux paramètres déterminant l'efficacité d'un capteur sont la sélectivité, la sensibilité, la stabilité, la réutilisation, le temps de réponse, etc. Ces paramètres dépendent à la fois de l'élément de reconnaissance et du transducteur. Il est donc indispensable de choisir une bonne combinaison entre ces deux composants. Plusieurs approches sont possibles selon que la cible elle-même présente ou pas des propriétés, par exemple, optique ou électrochimique.

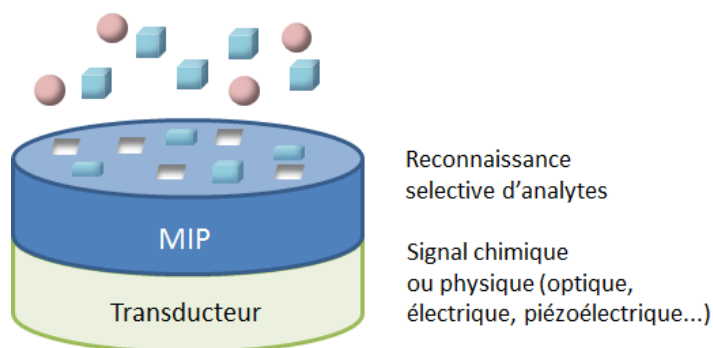


Figure 5. Représentation schématique générale d'un capteur à base de MIP.

2.1 Différents types de capteurs basés sur des MIPs

Les MIPs sont utilisés, en tant que phase de reconnaissance, dans des capteurs faisant appel à différentes technologies de détection [13,22].

2.1.1 Capteurs optiques

La détection optique implique généralement la colorimétrie, la fluorescence, la résonance surfacique plasmonique (SPR), ou encore la chimiluminescence. La détection colorimétrique, simple et peu coûteuse, est particulièrement intéressante pour un test *in situ* car directement visible à l'œil nu. Les capteurs basés sur la fluorescence permettent une détection à des concentrations particulièrement faibles et, de ce fait, ils sont largement développés. La SPR, quant à elle, permet une détection optique pour des composés ne présentant aucune propriété de colorimétrie ou de

fluorescence. Enfin, la chimiluminescence, bien que très sensible, est finalement peu employée car elle est souvent liée à une réaction de dégradation.

a) Les capteurs basés sur la détection par colorimétrie

Les capteurs colorimétriques impliquent un changement de couleur. Ce changement de couleur peut être dû à un enchainement de réaction comme l'ont décrit H.C. Hsu *et al.* pour la détection de la morphine à l'aide d'un MIP spécifique de cette molécule. Lorsque la morphine est piégée par le MIP, son groupement phénolique est oxydé par des ions Fe^{3+} (ajoutés sous forme de $[Fe(CN)_6]^{3-}$), ce qui a pour conséquence de former du bleu de Prusse facilement identifiable [91]. Toujours par une réaction colorimétrique, la 4-amino-antipyrine a été utilisée par T.A. Sergeyeva *et al.* pour la détection de phénols après piégeage de ces derniers par une membrane MIP [92]. Cette approche de réaction colorimétrique a aussi également été appliquée à la détection de la créatinine avec des picrates [93]. Une autre stratégie, rapportée par N.T. Greene et K.D. Shimidzu, a consisté à préparer des MIPs avec un colorant. En présence de l'analyte, ce colorant est déplacé ce qui a pour conséquence de colorer la solution [94]. Z. Wu *et al.* ont décrit une approche basée sur des cristaux photoniques colloïdaux. Ces structures sont constituées par un arrangement régulier de particules de SiO_2 , qui ont pour particularité de diffracter la lumière. Pour utiliser ces particules comme capteurs colorimétriques, les auteurs ont réalisé la synthèse de MIP dans les interstices du réseau de particule et selon la présence ou pas de la cible, la diffraction de la lumière est modifiée. Cette voie est intéressante car elle ne nécessite pas d'utiliser un colorant externe ou une réaction colorimétrique [95,96]. La même stratégie a été utilisée pour la détection du cholestérol [97], de la vanilline [98], des acides aminés chiraux [99] ou encore du para-nitrophénol [100].

b) Les capteurs basés sur la détection par fluorescence

Ces capteurs sont faciles d'utilisation et permettent une détection à des concentrations inférieures à la micromole par litre. La méthode la plus simple est la détection directe de la molécule cible piégée dans le MIP si celle-ci possède des propriétés fluorescentes. C'est le cas pour certains hydrocarbures aromatiques polycycliques (HAPs) [101], le flavonol (antioxydant et anti-inflammatoire) [102], la quercétine (antioxydant) [74,103] et le β -estradiol (perturbateur endocrinien) [104].

Une alternative, dans les cas où la molécule cible n'est pas fluorescente, est l'utilisation d'un dérivé ou traceur fluorescent de la cible. Dans ce système de détection compétitif, le dérivé est en compétition avec la molécule cible. Le calcul de la capacité d'adsorption est basé sur le rapport de l'affinité du MIP avec la molécule cible et avec l'analogue. Des exemples de molécules cibles détectées par cette approche sont l'acide 2,4-dichlorophénoxyacétique (2,4-D, herbicide) (dérivé fluorescent : 2,4-D couplé à la fluorescéine) [105], le chloramphénicol (antibiotique) (dérivé : chloramphénicol-rouge de méthyle) [106], et le L-phénylalaninamide (traceur : la rhodamine-B) [107].

Une autre méthode couramment utilisée est l'utilisation d'un monomère fonctionnel fluorescent (fluorophore polymérisable), choisi de façon à ce que l'adsorption de la cible par le MIP entraîne une modification de ses propriétés électroniques et donc de ses propriétés d'émission. Cette technique a été développée pour la première fois par T. Turkewitsch pour la détection d'adénosine 3'-5'-cyclique monophosphate (c-AMP) en introduisant le chlorure de *trans*-4-[*p*-(*N,N*-diméthylamino)styryl]-*N*-vinylbenzylpyridinium, un colorant fluorescent dans le MIP [108]. Le 7-nitrobenz-2-oxa-1,3-diazole a été utilisé comme fluorophore pour la détection du DDT [25] et du fluorène [109]. Y. Liao et *al.* ont développé un procédé de détection du *L*-tryptophane par fixation d'un groupement fluorescent (dansyl) au monomère fonctionnel, l'acide 3,3-diméthylacrylique [110]. Cependant, dans ce cas il y a un déplacement du signal de fluorescence du MIP ce qui n'est pas souhaitable pour l'utilisation dans un capteur. De plus, la variation de l'intensité de fluorescence étant trop faible, les auteurs ont inclus un composé d'extinction (quencher), le *p*-nitrobenzaldéhyde. Cette molécule est assez petite pour se mettre dans des sites de reconnaissance du MIP et « éteint » ainsi la fluorescence. Lorsque la cible est présente, la fluorescence du MIP (en présence du quencher) augmente avec la concentration de la cible. En effet, la présence de la cible déplace le quencher hors des sites de reconnaissance et entraîne ainsi l'augmentation de la fluorescence. Dans cette étude, la compétition entre la cible et le quencher a permis d'augmenter de 40 % le signal fluorescent du polymère.

c) Les capteurs à résonance plasmonique de surface (SPR)

La SPR consiste à illuminer une surface de verre recouverte d'un film fin d'or par un faisceau de lumière polarisée monochromatique. La face recouverte d'or est généralement en contact avec un milieu liquide à analyser alors que la face opposée est en contact avec l'air, l'illumination se faisant par la face opposée à l'or. Le faisceau lumineux entre en résonance avec les électrons libres de l'or, ce phénomène étant la résonance plasmonique de surface. Une conséquence énergétique de cette résonance est visible dans le faisceau réfléchi qui présente une chute d'intensité à un angle défini, l'angle de résonance. C'est cet angle de résonance qui est suivi car il peut varier en fonction de ce qui a été adsorbé à la surface de l'or et donc être utilisé pour la détection de cible (Figure 6).

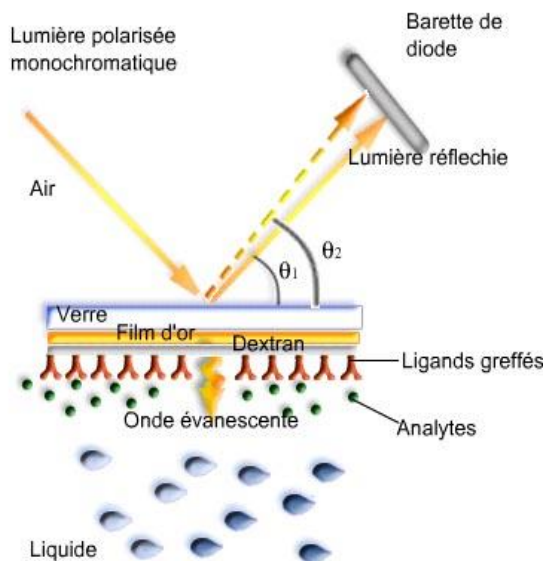


Figure 6. Schéma de principe de la SPR (www.biocore.com).

Un des premiers articles relatant l'utilisation de MIPs dans une détection de type SPR a été publié par E.P. Lai et *al.* en 1998 [111]. Ces auteurs ont préparé des MIPs pour détecter la théophylline, la caféine et la xanthine par SPR. Le MIP est déposé sous forme de film sur le dispositif SPR par une technique de dépôt d'une solution de pré-polymérisation (Figure 7). Cette technique a également été utilisée pour détecter divers analytes tels que l'acide sialique [112], des co-facteurs du nicotinamide-adénine-dinucléotide (NAD⁺) ou sa forme réduite (NADH) dans le but d'étudier des réactions enzymatiques [113], l'hydrochlorure d'adrénaline [114], le chloramphénicol [115], le tétranitrate, la nitroglycérine, le pentaérythritol [116] ou encore le dinitrate d'éthylèneglycol [52].

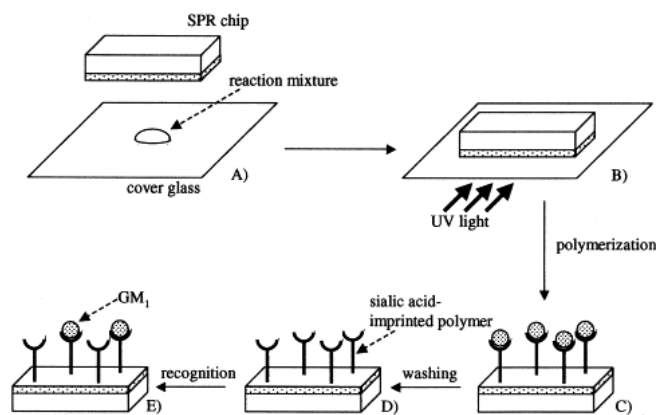


Figure 7. Technique de dépôt d'un film de MIP sur le dispositif SPR : A) dépôt de solution de pré-polymérisation sur un substrat en verre, B) contact entre le support en verre et le dispositif SPR, C) initiation de polymérisation par UV et retrait du support en verre, D) extraction de la cible et E) reconnaissance [112].

d) Les capteurs basés sur la chimiluminescence

Cette voie est peu décrite dans la littérature probablement en raison de sa nature destructive, puisque la chimiluminescence est souvent liée à la dégradation d'une molécule qui s'accompagne d'une émission de lumière [117]. A titre d'exemple, un MIP pour la 1,10-phénanthroline a été décrit. Lorsque la cible est adsorbée, elle catalyse la décomposition du peroxyde d'hydrogène, avec des produits de réaction générant de la luminescence. Une fois les produits décomposés, les sites de reconnaissance sont renouvelés et libres pour accueillir d'autres molécules cibles [118].

L'un des exemples les plus significatifs de combinaison entre MIP et chimiluminescence a été décrit I. Surugiu *et al.* [57,119]. Les auteurs ont incorporé un élément de reconnaissance de MIP dans un capteur type ELISA, à la place d'un anticorps, en utilisant comme molécule cible l'acide 2,4-dichlorophénoxyacétique (2,4-D). Le 2,4-D est labélisé avec la peroxydase du tabac puis la détection se fait par la technique de compétition avec la cible non-labélisée. Après le contact avec le MIP, la quantification se fait en ajoutant une solution de luminol au surnageant récupéré. D'autres analytes ont été détectés par des systèmes basés sur l'utilisation de MIP et la chimiluminescence tels que la triéthylamine [120], le clenbutérol [121] ou encore le salbutamol[122].

2.1.2 Capteurs piézoélectriques

L'effet piézoélectrique correspond à une polarisation électrique produite par une déformation mécanique, et vice-versa, de cristaux diélectriques, le plus connu étant le quartz. La polarisation est proportionnelle à la déformation et en change le signe. Dans le domaine des capteurs, cet effet est principalement utilisé dans les microbalances à quartz (Quartz Cristal Microbalance, QCM) ou dans des filtres à ondes acoustique de surface (Surface Acoustic Wave, SAW) ou de volume (Bulk Acoustic Wave, BAW). Dans la microbalance à quartz, deux électrodes conductrices sont posées de part et d'autres d'un quartz et c'est l'onde acoustique confinée dans le quartz d'épaisseur définie qui est suivie. Le dépôt d'un matériau (polymère, protéines, métal) sur une des électrodes conduit à une variation d'épaisseur et donc des propriétés de l'onde acoustique. La relation entre la fréquence de résonance du système et l'épaisseur vue par l'onde acoustique permet de déterminer une variation de masse.

Le premier MIP utilisé dans un capteur QCM, décrit par F.L. Dickert *et al.*, est basé sur l'utilisation de polyuréthanes comme polymère à empreintes pour les HAPs [123]. Ces auteurs ont montré une corrélation entre la réponse obtenue par le capteur QCM à base de MIP avec celle obtenue avec un fluorimètre. Une sélectivité vis-à-vis de l'acide humique comme interférent a également été mise en évidence. D'autres MIPs utilisant cette technique de détection se trouvent dans les exemples suivants d'applications : la surveillance de la dégradation d'huile moteur [124], la quantification de HAP dans l'eau [125], la détection de la caféine [64], du phénobarbital [126], du paracétamol [66], de l'atrazine [127], du (*S*)-propranolol [128] ou encore de la phénylalanine [68]. Le développement de capteurs de glucose est une des applications les plus étudiées dans ce domaine

[39]. Le développement réussi d'un capteur QCM de glucose a été effectuée par C. Malistesta et *al.* avec une limite de quantification de l'ordre de la nanomole par litre en utilisant du poly-*o*-phénylinediamine obtenu par électropolymérisation comme matrice imprimée [129].

La détection par onde acoustique de surface (SAW), initiée par H. Wohltjen et R. Ressay en 1979 [130], fonctionne selon un procédé similaire. En effet, ces systèmes sont constitués de deux groupes d'électrodes interdigitées séparées par un matériau à la surface duquel se propage l'onde acoustique (Figure 8), avec la couche d'élément de reconnaissance déposée sur la surface du matériau piézoélectrique (Figure 9). Le principe des capteurs à onde acoustique a été employé pour la détection de la phénacétine (analgésique) [131], des herbicides [132], la pyriméthamine (antipaludéen) [133], l'atropine (antagoniste cholinergique) [134] et le méthylphosphonate de diméthyle (composé toxique et nocif, intermédiaire de synthèse du sarin) [135].

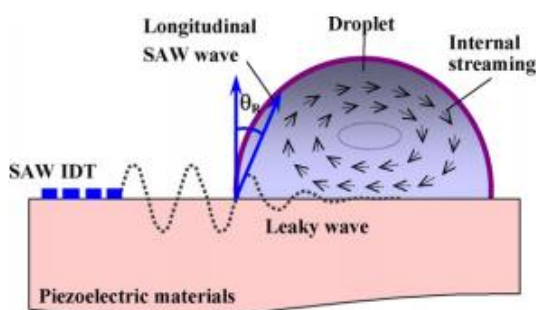


Figure 8. Principe d'étude d'une interface gouttelette-surface par une onde acoustique de surface [136].

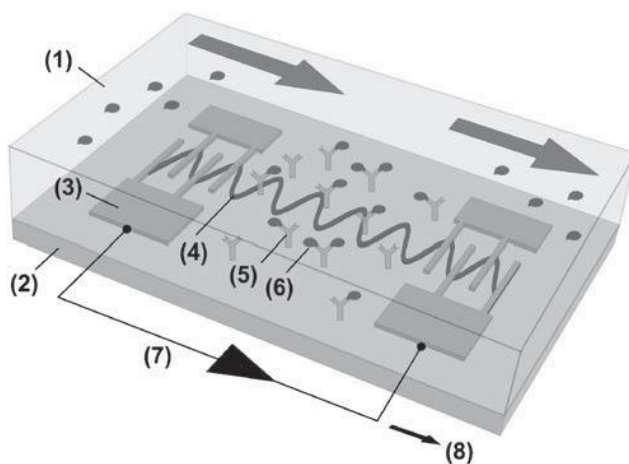


Figure 9. Configuration basique de capteur SAW. (1) Les flèches du haut indiquent le flux de l'échantillon liquide à la surface du capteur, (2) cristal piézoélectrique, (3) transducteur interdigital, (4) onde acoustique de surface, (5) élément de reconnaissance immobilisé, (6) reconnaissance avec la cible, (7) et (8) partie électronique transmettant le changement de l'onde de surface en un signal détectable [137].

2.1.3 Capteurs électrochimiques

Les techniques électrochimiques ont de nombreux avantages : simplicité, sensibilité, facilité de mise en œuvre et généralement faibles coûts de mesure [138]. Ces capteurs sont utilisés dans de nombreuses branches de l'industrie, la surveillance environnementale ou médicale, ainsi que dans le contrôle des processus biologiques [139,140]. La performance de ces capteurs va dépendre du type d'électrodes utilisées, de l'espèce suivie mais aussi de la technique électrochimique utilisée. Les mesures électrochimiques mises en œuvre dans le cas des capteurs basés sur des MIPs sont très souvent la conductimétrie (variation de la conductivité d'une solution), la potentiométrie (mesure d'une différence de potentiel entre une électrode de travail, dite électrode indicatrice, et une électrode de référence), l'ampérométrie (mesure d'un courant d'électrolyse), la voltampérométrie (enregistrement de l'intensité en fonction du potentiel appliqué à une vitesse fixée par l'opérateur) et la capacitance (mesure de la quantité de charge stockée à un potentiel donné). D'autres configurations sont également explorées tels que les transistors à effet de champ (FET pour Field Effect Transistor) dont le fonctionnement est basé sur l'action d'un champ électrique permettant l'ouverture d'un canal porteur de charges entre deux électrodes, le nombre de porteurs de charge pouvant être corrélé à un phénomène de reconnaissance. Le type de détection dépend notamment de la nature de la cible, des propriétés et de la conformation du polymère à empreintes, et des applications visées. La figure 10 présente la répartition des techniques utilisées. Ces données, bien qu'ayant une dizaine d'années, montre que la voltampérométrie est largement utilisée. Le tableau 2 présente quelques exemples de capteurs électrochimiques basés sur l'utilisation de MIPs.

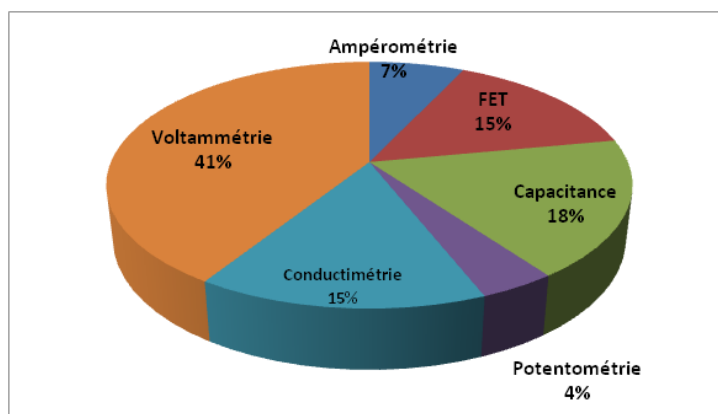


Figure 10. Répartition des différents types de capteurs électrochimiques à base de MIP, données de 2004 [141].

Tableau 2. Exemples de capteurs électrochimiques basés sur les MIPs.

Technique	Cible	Référence
Conductimétrie	Cholestérol	[142]
	Acides nucléiques et dérivés	[143]
	Sucres et dérivés	[144]
	Atrazine	[145]
Capacitance	Alkylthiols	[146]
	Desmétryne, Acides aminés	[147]
	Créatinine	[148]
	Mercaptans	[149]
	Sucres et dérivés	[150]
Potentiométrie	Ion nitrate	[151]
	Acides aminés et dérivés	[147]
	Acide amino-oxyacétique	[152]
	Acides nucléiques et dérivés	[153]
FET	Triazine	[154]
Ampérométrie et voltampérométrie	Nitrobenzène	[155]
	Acide vanylmandélique	[156]
	1-Hydroxypyrrène	[157]
	Morphine	[158]
	Clenbutérol	[159]
	Cholestérol	[149]

2.2 MIP et détection électrochimique

2.2.1 Signal généré par la cible

Lorsque la cible possède des propriétés rédox, elle peut être utilisée pour générer un signal mesurable. C'est la situation la plus simple et qui présente l'avantage de conduire à une réponse électrochimique sans ambiguïté vis-à-vis de la présence ou pas de la cible. N. Kirsch et *al.* ont ainsi décrit une détection voltampérométrique du 1-hydroxypyrrène avec l'utilisation de MIP [157]. Dans ce travail, des MIPs sont utilisés pour adsorber l'hydroxypyrrène, puis ce dernier est ensuite relargué pour être détecté par voltampérométrie. Cette voie est efficace mais nécessite un lavage du support après mise en contact avec l'échantillon pour éliminer les autres espèces présentes, éventuellement électroactives, avant de procéder à l'extraction de la cible pour la détecter en solution par mesure électrochimique (Figure 11).

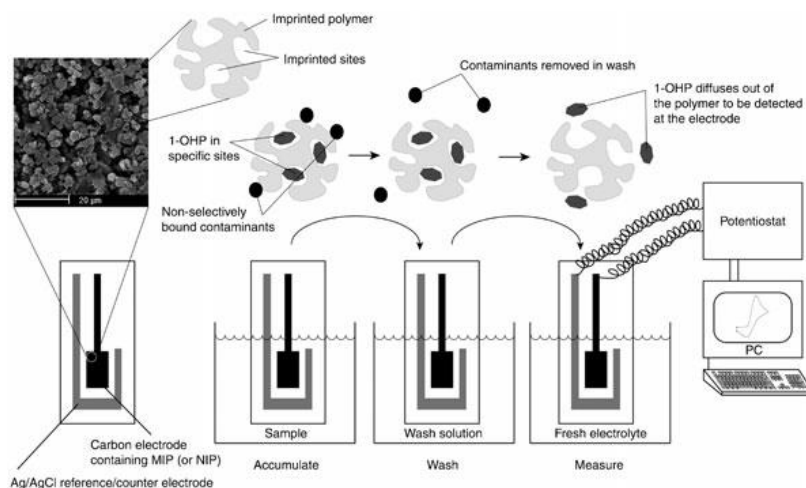


Figure 11. Représentation schématique de dispositif de mesure par électrochimie du 1-hydroxypyrene [157].

Une approche légèrement différente consiste à utiliser une espèce compétitrice pour extraire la cible électroactive du MIP. Dans un premier temps, la cible est adsorbée de façon sélective par le MIP puis, dans un second temps, une espèce compétitrice inactive électrochimiquement, est ajoutée au milieu en large excès. Ce large excès va conduire à l'adsorption de cette espèce compétitrice provoquant alors un relargage de la cible électroactive qui peut être détectée par une mesure électrochimique. Cette stratégie est intéressante car elle n'impose pas un lavage du support d'extraction avant la mesure électrochimique. En effet, après adsorption, les espèces, éventuellement électroactives, présentes dans le milieu à analyser vont contribuer à l'établissement d'un courant d'équilibre. Lors de l'ajout de l'espèce compétitrice, la cible est relarguée et le courant d'équilibre est affecté. Dans ce système, le courant n'est modifié que si la cible électroactive est relarguée, donc uniquement si elle était présente initialement dans le milieu étudié. Cette voie a été utilisée par D. Kriz et K. Mosbach pour détecter la morphine [158]. Ces auteurs ont ainsi préparé des MIPs pour la morphine immobilisés dans un gel d'agarose sur une électrode de platine et ils ont utilisé la codéine comme espèce compétitrice. Ces auteurs ont trouvé une limite de détection ($S/N=2$) de $0,05 \mu\text{g/mL}$ de morphine. Un autre exemple basé sur le même principe est la détection du clenbutérol en présence d'isoxsuprine comme espèce compétitrice [159]. Dans ce travail, les auteurs ont mélangé les particules de MIPs à du graphite et, après homogénéisation, ils ont fabriqué une électrode de travail en introduisant le mélange à l'extrémité d'un tube de PVC. La limite de détection ($S/N=3$) indiquée est égale à 20 nM de clenbutérol.

Une autre voie possible réside dans l'établissement d'un cycle catalytique. Dans cette stratégie, c'est la régénération du centre catalytique qui est suivie électrochimiquement et non directement les propriétés rédox de la cible. Cependant, une relation directe existe entre la mesure électrochimique et la quantité de cible catalysée. Cette stratégie est largement développée avec l'utilisation d'enzyme, notamment pour les capteurs basés sur la glucose oxydase. L'utilisation de MIP en lieu et place d'une enzyme est plus rare. Ainsi, en 2003, K. Sode et *al.* ont publié des travaux sur la détection ampérométrique du fructosylamine qui est oxydé catalytiquement à l'aide de MIPs obtenus à partir du polyvinylimidazole et immobilisés sur une électrode à pâte de carbone

[160,161] (Figure 12). Ces auteurs, pour faire le parallèle avec les capteurs basés sur les enzymes, décrivent leur MIP comme étant des deshydrogénases artificielles du fructosylamine.

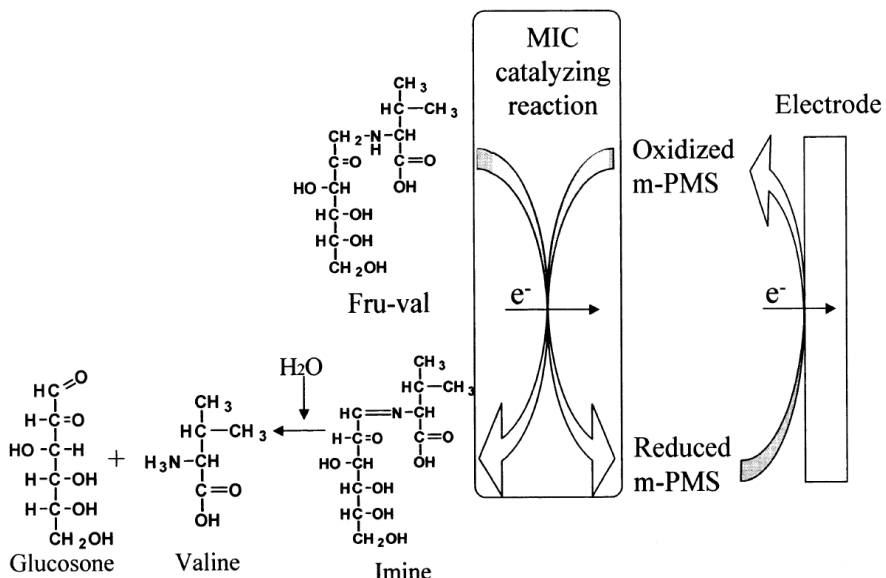


Figure 12. Réaction oxydative de fructosylamine (Fru-val) en utilisant un MIP [160].

A travers ces trois exemples, les avantages d'une détection directe d'une cible ayant entraînant des propriétés rédox apparaissent clairement. Cependant, ces méthodes peuvent être confrontées à une cible restant piégée dans la matrice de polymère et qui provoque un signal de fond élevé et, par conséquent, une diminution de la sensibilité. Des améliorations peuvent être alors apportées en augmentant la porosité au sein du MIP pour faciliter la diffusion de la molécule cible dans le polymère ou en renouvelant la surface du capteur par polissage ou lavage à l'aide d'un solvant. Dans le cas où le coût de production est faible, des dispositifs jetables peuvent être cependant envisagés.

2.2.2 Signal dû à l'interaction MIP-cible

Une alternative, si la cible ne possède pas de propriétés électrochimiques, est de construire un MIP qui en possède. Dans ce cas, la présence de la cible va entraîner un changement, comme par exemple la conformation ou le potentiel de surface du MIP, dû à l'interaction MIP-cible. La capacité, la conductimétrie, ou encore l'impédance sont généralement les grandeurs suivies dans ce type de détection. Dans les capteurs conductimétriques, deux électrodes sont séparées par une membrane à base de MIP créant finalement une cellule électrochimique à deux compartiments. La conductivité mesurée dépendra des électrolytes présents de part et d'autre de la membrane et de la membrane elle-même. La présence d'une cible venant interagir avec la membrane modifie ses propriétés et affecte, par exemple, la diffusion des ions ce qui se répercute sur la conductivité de la cellule électrochimique [162]. Ce principe a été utilisé pour détecter l'atrazine [163]. Les auteurs rapportent une limite de détection comprise entre 0,01 et 50 mg/L après 30 minutes.

Une autre approche consiste à utiliser des transistors à effet de champ (FET pour Field Effect Transistors) (Figure 13). Classiquement, un FET est constitué de deux électrodes appelées Source et Drain séparées par un canal, généralement un semi-conducteur. Une troisième électrode, appelée grille, est séparée de l'ensemble par un matériau diélectrique. Dans un premier temps, une tension dite de grille est appliquée entre la grille et la source. Ceci a pour effet d'entraîner une accumulation de charges négatives si la grille est positive, ou vice-versa, à l'interface canal-diélectrique. Ensuite, une tension est appliquée entre la source et le drain et l'intensité est suivie et caractérise le transistor.

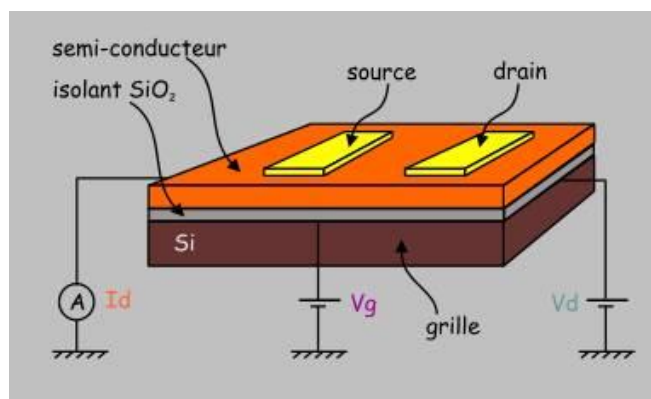


Figure 13. Schéma général d'un transistor à effet de champ.

Ce dispositif ainsi que des variantes ont été largement développés pour la détection de molécules (chemfet), d'ions (isfet) et d'enzymes. Alors qu'il y a de nombreux articles sur la détection basée sur les FETs, peu rapportent l'utilisation de MIPs. I. Willner et *al.* ont publié deux articles en 2001 sur la détection, d'une part, des énantiomères des acides 2-méthylferrocènegarboxylique, 2-phénylbutanoïque et 2-propanoïque [164] et, d'autre part, des acides 4-chlorophénoxy acétique et 2,4-dichlorophénoxy acétique [152]. Les transistors décrits dans ces articles sont basés sur des films minces de TiO_2 imprimés avec ces différents composés, films obtenus directement à la surface de la grille d'un FET (Figure 14). Dans cette configuration, ces films sont en contact avec la solution à analyser. Lorsque les acides sont présents dans la solution, alors ils interagissent avec les films de TiO_2 entraînant leur déprotonation, qui se répercute sur le potentiel de grille. Au bilan, c'est la tension de grille qui est suivie en fonction de la concentration en proton elle-même étant liée à la concentration en cible, d'où la dénomination ISFET par les auteurs pour leur système. Le même type de transistors a été utilisé pour la détection d'autres acides avec des limites de détection de l'ordre de $80 \mu\text{M}$ [165].

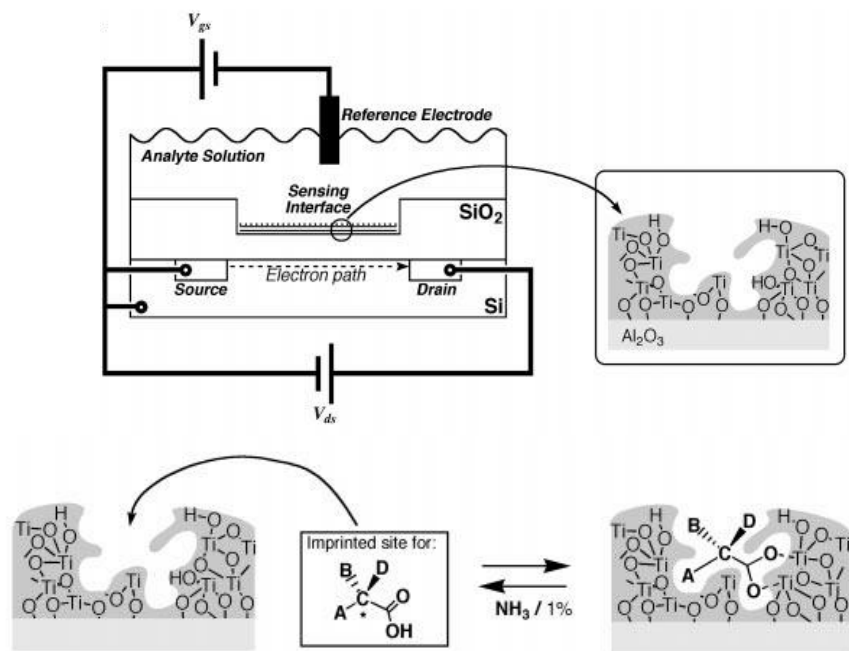


Figure 14. ISFETs basés sur un film mince de TiO_2 imprimés par différents acides carboxyliques et description de l'interaction[152].

I. Willner *et al.* ont également publié la détection de plusieurs herbicides (atrazine, prozinex, tyllanex, simanex, méthylthiolate triazines ametrex, prometrex, zebutex) sur le principe des ISFETs. Ces auteurs ont fabriqué des transistors comme précédemment, à savoir en préparant le film imprimé directement à la surface de la grille. Cependant, dans ce cas, ils ont préparé un film organique en l'occurrence un copolymère acrylamide-méthacrylate [154]. Dans ces systèmes, la reconnaissance de la cible est basée sur les liaisons hydrogène et les interactions électrostatiques. Plus récemment, sur ce même principe, O.M. Petrukhin *et al.* ont décrit la détection du dinucléotide adénine [166].

2.2.3 Utilisation d'une sonde rédox

Lorsque ni la cible, ni un de ses dérivés, ni le couple MIP-cible n'entraînent de modifications des propriétés électriques, l'alternative consiste à utiliser un médiateur, souvent appelée sonde. Dans cette approche, la sonde est très souvent un système rédox ajouté au milieu d'analyse. Ainsi, la théophylline a été détectée en présence de ferricyanure de potassium $\text{K}_3[\text{Fe}(\text{CN})_6]$ comme sonde rédox [167]. Dans cet exemple, le MIP est polymérisé directement à la surface d'un substrat d'ITO (oxyde d'indium et d'étain) et utilisé comme électrode de travail (Figure 15). L'extraction ou la ré-adsorption de la cible entraîne un changement de perméabilité de la membrane qui se traduit par un passage plus ou moins facilité de la sonde à travers la membrane jusqu'à la surface d'ITO.

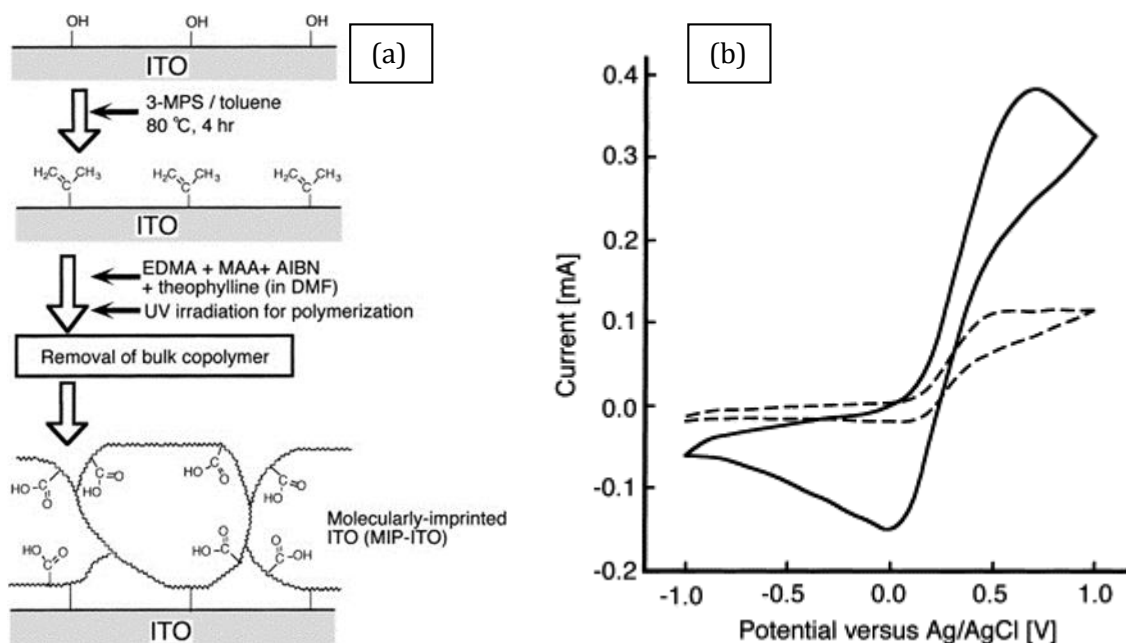


Figure 15. (a) Fonctionnalisation de la surface d'ITO avec un MIP destiné à la théophylline, et (b) voltampérogrammes obtenus lors de l'ajout de K₃[Fe(CN)₆] en présence (ligne continue) et en absence de la théophylline (pointillés)[164].

Un autre exemple basé sur les propriétés rédox du ferricyanure de potassium concerne la détection du pyrène [168]. Dans ce travail, une monocouche auto-assemblée a été réalisée sur une électrode d'or en présence de pyrène avec différents alcanes thiols. Après extraction du pyrène, les auteurs ont réalisé une mesure voltampérométrique avant de remettre l'électrode en contact avec la cible. La voltampérométrie met alors en évidence une variation de du courant d'intensité lors de l'oxydation du ferricyanure de potassium qui est plus faible en présence de pyrène. Les auteurs attribuent cette variation d'intensité à la sonde qui diffuse plus difficilement jusqu'à la surface de l'électrode lorsque cette dernière a été mise en présence de pyrène. En d'autres termes, le pyrène bloque l'accès à l'électrode.

Très récemment, I. Bakas et *al.* ont décrit la détection par mesure d'impédance du méthidathion, un insecticide organophosphoré, à l'aide d'un MIP déposé sur une électrode de carbone sérigraphiée [169]. Pour réaliser leurs mesures, les auteurs utilisent également le ferricyanure de potassium comme sonde externe. Ainsi, ils montrent que les valeurs d'impédance augmentent en présence de méthidathion, la raison étant l'adsorption de la cible sur le MIP qui limite le transfert électronique de la sonde vers l'électrode. Outre la limite de détection de 5,14 µg/L, qui est inférieure à la limite fixée les autorités européenne, ce système ne nécessite que 20 minutes de contact pour aboutir à une variation d'impédance.

Sur le principe de gêner le transfert électronique vers l'électrode, R.-N. Liang et *al.* ont décrit la détection potentiométrique du chlorpyrifos [170]. L'intérêt réside ici dans la détection d'une cible neutre. Pour cela, ces auteurs ont préparé des MIPs spécifiques du chlorpyrifos qu'ils ont ensuite

inclus dans du PVC, classiquement utilisé pour réaliser des membranes électrodes sélectives d'ion (ISE). Le principe de l'ISE consiste à mesurer une tension entre deux compartiments (la solution à analyser, et la solution de référence) séparés par une membrane. Dans un premier temps, les auteurs ont immergé l'électrode sous forme de membrane dans une solution contenant la cible puis, dans un second temps, cette même électrode a été immergée dans une solution contenant la sonde analogue de la cible, mais possédant une activité rédox, avant de réaliser une mesure potentiométrique. Les auteurs indiquent une limite de détection de 0,96 nM.

2.2.4 Le cas des polymères conducteurs

Les polymères conducteurs d'électricité, typiquement le polythiophène, le polypyrrole, le poly(o-phenylènediamine) ou encore le poly(3,4-éthylènedioxythiophène) (PEDOT), peuvent être utilisés dans le domaine des polymères à empreintes moléculaires selon deux approches : 1) ils servent à immobiliser des particules de MIPs, 2) ils sont utilisés en tant que MIPs. Le point commun aux deux approches concerne le fait que les polymères conducteurs d'électricité sont obtenus directement à la surface d'une électrode (or, platine, carbone vitreux ou ITO) par électropolymérisation d'un précurseur en solution. La caractérisation du polymère ainsi électrogénéré se fait ensuite directement en remplaçant le milieu d'électropolymérisation par un milieu sans le précurseur. La différence entre ces deux approches se situe dans l'obtention de l'empreinte. En effet dans le premier cas, l'empreinte est apportée par un MIP préalablement synthétisé, qui va être intégré dans le polymère conducteur d'électricité lors de son électrosynthèse. Cette voie a été appliquée par D. Kriz et *al.* pour la détection de la morphine [171]. Ces auteurs ont utilisé des particules de MIPs à base d'acrylate développées pour la morphine qu'ils ont mélangées à du pyrrole. Après électropolymérisation, ils ont obtenu une électrode, dite modifiée, comportant un film de polypyrrole incluant les MIPs. En 2005, K.C. Ho et *al.* ont également décrit la détection de la morphine par cette voie en incluant des particules de MIPs spécifiques de la morphine dans du PEDOT avec une limite de détection de 41,63 $\mu\text{A}/\text{cm}^2 \cdot \text{mM}$ [172].

La seconde approche consiste à réaliser une empreinte directement au sein des polymères conducteurs ce qui est particulièrement attrayant et facile à mettre en œuvre. En effet, lors de l'électropolymérisation, une cible peut être ajoutée à la solution contenant le monomère, puis relarguée après l'électropolymérisation de ce monomère pour conduire à une électrode comportant des empreintes. Dans ce cas, le polymère électrogénéré a le double rôle de piéger la cible et de transmettre l'information directement par ses propriétés électrochimiques qui sont modifiées en présence ou pas de la cible. Il est aisé d'anticiper une plus grande sensibilité du système car l'empreinte est directement au sein du polymère conducteur. L'utilisation des polymères conducteurs d'électricité est très largement étudiée pour le développement de capteurs électrochimiques basés sur une empreinte [173]. Sur ce principe, K.C. Ho et *al.* ont décrit la détection de la morphine par du PEDOT directement imprimé avec cette cible, la limite de détection étant de 91,86 $\mu\text{A}/\text{cm}^2 \cdot \text{mM}$ [174]. A titre d'exemple une électrode à base de polypyrrole électropolymérisé sur carbone vitreux pour la détermination potentiométrique de NO_3^- a été rapportée avec une limite de détection de l'ordre de $1,4-1,6 \cdot 10^{-5}$ M [151]. Un autre exemple concerne la détection ampérométrique de l'acide 2,4-dichlorophénoxyacétique, avec une électrode

modifiée obtenue par électrolymérisation de l'o-phénylènediamine en présence de résorcinol, sur une surface d'électrode d'or [175]. L'atrazine a également été détectée, par voltampérométrie cyclique, avec une électrode modifiée préparée par électropolymérisation d'un dérivé de l'éthylènedioxythiophène (EDOT) en présence d'atrazine (Figure 16).

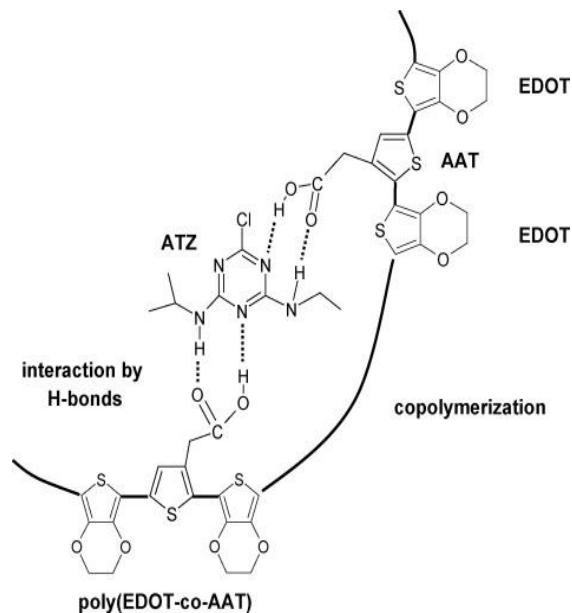


Figure 16. L'interaction entre la molécule cible (atrazine) avec le MIP à base de copolymère EDOT-acide thiophène acétique (AAT) [176].

Les électrodes basées sur les polymères conducteurs d'électricité, présentent donc de réels avantages en termes de facilité de préparation et d'utilisation. Cependant deux inconvénients peuvent être signalés concernant l'une et l'autre des approches (avec incorporation de particules de MIP ou en tant que MIP). Dans la première approche, la difficulté réside dans la détection de l'adsorption de la cible par les MIPs. Si le phénomène d'adsorption modifie peu le film constitué par les polymères conducteurs d'électricité alors leurs propriétés électrochimiques sont peu affectées avec pour conséquence une détection difficile. Dans le second cas, par rapport aux MIPs "classiques", les polymères électrogénérés ne sont pas réticulés, ce qui sur le long terme, peut présenter des inconvénients pour maintenir l'empreinte.

3. Positionnement du travail de thèse

L'approche consistant à mettre en œuvre des MIPs préformés présente l'avantage de garantir une bonne stabilité des cavités empreintes via la formation du réseau tridimensionnel réticulé. Toutefois, si la molécule cible n'est ni oxydable ni réductible dans une fenêtre de potentiel accessible, la détection par voie électrochimique est plus difficile à mettre en œuvre. Une problématique identique apparaît pour les capteurs optiques basés sur une détection par fluorimétrie lorsque la molécule cible n'est pas fluorescente. Dans ce cas, le problème a pu être résolu par l'introduction, lors de la synthèse du MIP, d'un monomère présentant une fluorescence intrinsèque pouvant être modifiée lors de la capture de la molécule cible.

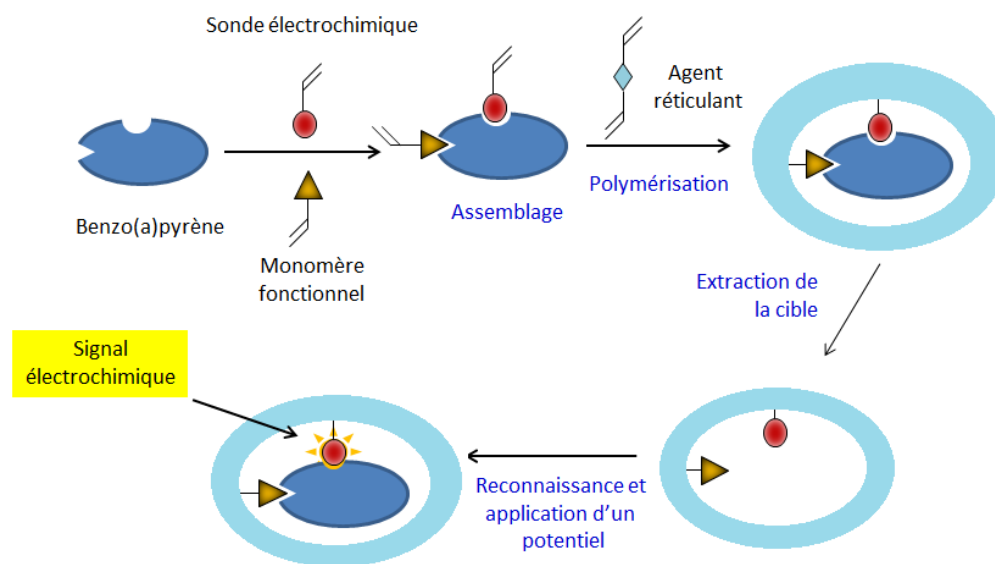


Figure 17. Schéma de principe de synthèse de polymère à empreintes moléculaires électrochimique pour la détection de benzo(a)pyrène.

La stratégie originale envisagée dans ce travail de thèse pour améliorer la sensibilité et la stabilité des capteurs électrochimiques repose sur l'idée analogue d'introduire sous forme de monomère dans des MIPs une sonde cette fois-ci électrochimique (Figure 17). Cette approche, à notre connaissance, n'a encore jamais été décrite dans la littérature dans le domaine des MIPs. La détection se fera par modification des propriétés redox de cette sonde mise en contact avec la molécule cible lors de sa capture par le MIP. Les polymères à empreintes moléculaires électrochimiques ainsi élaborés présenteront alors potentiellement de nombreux avantages tels que la possibilité d'être utilisés pour détecter des molécules sans propriétés redox exploitables, la stabilité des cavités empreintes générées dans un réseau tridimensionnel. Par ailleurs, la proximité entre la sonde et la cible devrait également permettre d'augmenter la sensibilité des capteurs ainsi mis en œuvre.

Références

- [1] Polyakov, M.V. Adsorption Properties and Structure of Silica Gel. *Zhur. Fiz. Khim.*, **1931**, 799.
- [2] Dickey, F.H. The Preparation of Specific Adsorbents. *Proc. Natl. Acad. Sci.*, **1949**, 35, 227–229.
- [3] Curti, R.; Colombo, U. Chromatography of Stereoisomers with “tailor Made” Compounds. *J. Am. Chem. Soc.*, **1952**, 74, 3961–3961.
- [4] Wulff, G.; Vesper, W.; Grobe-Einsler, R.; Sarhan, A. Enzyme-Analogue Built Polymers, 4. On the Synthesis of Polymers Containing Chiral Cavities and Their Use for the Resolution of Racemates. *Makromol. Chem.*, **1977**, 178, 2799–2816.
- [5] Takagishi, T.; Klotz, I.M. Macromolecule-Small Molecule Interactions; Introduction of Additional Binding Sites in Polyethyleneimine by Disulfide Cross-linkages. *Biopolymers*, **1972**, 11, 483–491.
- [6] Nishide, H.; Tsuchida, E. Selective Adsorption of Metal Ions on poly(4-Vinylpyridine) Resins in Which the Ligand Chain Is Immobilized by Crosslinking. *Makromol. Chem.*, **1976**, 177, 2295–2310.
- [7] Arshady, R.; Mosbach, K. Synthesis of Substrate-Selective Polymers by Host-Guest Polymerization. *Makromol. Chem.*, **1981**, 182, 687–692.
- [8] Andersson, L.; Sellergren, B.; Mosbach, K. Imprinting of Amino Acid Derivatives in Macroporous Polymers. *Tetrahedron Lett.*, **1984**, 25, 5211–5214.
- [9] Kempe, H.; Kempe, M. Molecularly Imprinted Polymers*. In *The Power of Functional Resins in Organic Synthesis*; Tulla-Puche, J.; Albericio, F., Eds.; Wiley-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA, **2008**; pp. 15–44.
- [10] *Affinity Chromatography and Related Techniques: Theoretical Aspects/Industrial and Biomedical Applications : Proceedings of the ... International Symposium*; Elsevier Scientific Publishing Company, **1982**.
- [11] Wulff, G. Selective Binding to Polymers via Covalent Bonds. The Construction of Chiral Cavities as Specific Receptor Sites. *Pure Appl. Chem.*, **1982**, 54.
- [12] Wulff, G.; Biffis, A. Chapter 4 Molecular Imprinting with Covalent or Stoichiometric Non-Covalent Interactions. In *Techniques and Instrumentation in Analytical Chemistry*; Börje Sellergren, Ed.; Molecularly Imprinted Polymers Man-made Mimics of Antibodies and their Applications in Analytical Chemistry; Elsevier, **2000**; Vol. Volume 23, pp. 71–111.
- [13] Haupt, K.; Mosbach, K. Molecularly Imprinted Polymers and Their Use in Biomimetic Sensors. *Chem. Rev.*, **2000**, 100, 2495–2504.
- [14] Shea, K.J.; Thompson, E.A.; Pandey, S.D.; Beauchamp, P.S. Template Synthesis of Macromolecules. Synthesis and Chemistry of Functionalized Macroporous Poly(divinylbenzene). *J. Am. Chem. Soc.*, **1980**, 102, 3149–3155.
- [15] Damen, J.; Neckers, D.C. Stereoselective Syntheses via a Photochemical Template Effect. *J. Am. Chem. Soc.*, **1980**, 102, 3265–3267.
- [16] Damen, J.; Neckers, D.C. On the Memory of Synthesized Vinyl Polymers for Their Origins. *Tetrahedron Lett.*, **1980**, 21, 1913–1916.
- [17] Damen, J.; Neckers, D.C. Memory of Synthesized Vinyl Polymers for Their Origins. *J. Org. Chem.*, **1980**, 45, 1382–1387.
- [18] Haginaka, J.; Sakai, Y. Uniform-Sized Molecularly Imprinted Polymer Material for (S)-Propranolol. *J. Pharm. Biomed. Anal.*, **2000**, 22, 899–907.
- [19] Spivak, D.; Shea, K.J. Molecular Imprinting of Carboxylic Acids Employing Novel Functional Macroporous Polymers. *J. Org. Chem.*, **1999**, 64, 4627–4634.

- [20] Matsui, J.; Higashi, M.; Takeuchi, T. Molecularly Imprinted Polymer as 9-Ethyladenine Receptor Having a Porphyrin-Based Recognition Center. *J. Am. Chem. Soc.*, **2000**, *122*, 5218–5219.
- [21] Alexander, C.; Smith, C.R.; Whitcombe, M.J.; Vulfson, E.N. Imprinted Polymers as Protecting Groups for Regioselective Modification of Polyfunctional Substrates. *J. Am. Chem. Soc.*, **1999**, *121*, 6640–6651.
- [22] Kirsch, N.; Whitcombe, M.J. Approaches to Molecularly Imprinted Polymers-The Semi-Covalent Approach. In *Molecularly Imprinted Materials: Science and Technology*; Yan, M.; Ramström, O., Eds.; CRC Press, **2004**; pp. 93–122.
- [23] Sellergren, B.; Andersson, L. Molecular Recognition in Macroporous Polymers Prepared by a Substrate Analog Imprinting Strategy. *J. Org. Chem.*, **1990**, *55*, 3381–3383.
- [24] Caro, E.; Masqué, N.; Marcé, R.M.; Borrull, F.; Cormack, P.A.G.; Sherrington, D.C. Non-Covalent and Semi-Covalent Molecularly Imprinted Polymers for Selective on-Line Solid-Phase Extraction of 4-Nitrophenol from Water Samples. *J. Chromatogr. A*, **2002**, *963*, 169–178.
- [25] Graham, A.L.; Carlson, C.A.; Edmiston, P.L. Development and Characterization of Molecularly Imprinted Sol-Gel Materials for the Selective Detection of DDT. *Anal. Chem.*, **2002**, *74*, 458–467.
- [26] Ki, C.D.; Oh, C.; Oh, S.-G.; Chang, J.Y. The Use of a Thermally Reversible Bond for Molecular Imprinting of Silica Spheres. *J. Am. Chem. Soc.*, **2002**, *124*, 14838–14839.
- [27] Petcu, M.; Cooney, J.; Cook, C.; Lauren, D.; Schaare, P.; Holland, P. Molecular Imprinting of a Small Substituted Phenol of Biological Importance. *Anal. Chim. Acta*, **2001**, *435*, 49–55.
- [28] Qi, P.; Wang, J.; Wang, L.; Li, Y.; Jin, J.; Su, F.; Tian, Y.; Chen, J. Molecularly Imprinted Polymers Synthesized via Semi-Covalent Imprinting with Sacrificial Spacer for Imprinting Phenols. *Polymer*, **2010**, *51*, 5417–5423.
- [29] Puzio, K.; Delépée, R.; Vidal, R.; Agrofoglio, L.A. Combination of Computational Methods, Adsorption Isotherms and Selectivity Tests for the Conception of a Mixed Non-Covalent-semi-Covalent Molecularly Imprinted Polymer of Vanillin. *Anal. Chim. Acta*, **2013**, *790*, 47–55.
- [30] Vasapollo, G.; Sole, R.D.; Mergola, L.; Lazzoi, M.R.; Scardino, A.; Scorrano, S.; Mele, G. Molecularly Imprinted Polymers: Present and Future Prospective. *Int. J. Mol. Sci.*, **2011**, *12*, 5908–5945.
- [31] Yilmaz, E.; Schmidt, R.H.; Mosbach, K. Approaches to Molecularly Imprinted Polymers-The Noncovalent Approach. In *Molecularly Imprinted Materials: Science and Technology*; Yan, M.; Ramström, O., Eds.; CRC Press, **2004**; pp. 25–58.
- [32] Vlatakis, G.; Andersson, L.I.; Müller, R.; Mosbach, K. Drug Assay Using Antibody Mimics Made by Molecular Imprinting. *Nature*, **1993**, *361*, 645–647.
- [33] Whitcombe, M.J.; Kirsch, N.; Nicholls, I.A. Molecular Imprinting Science and Technology: A Survey of the Literature for the Years 2004–2011. *J. Mol. Recognit.*, **2014**, *27*, 297–401.
- [34] Brüggemann, O.; Haupt, K.; Ye, L.; Yilmaz, E.; Mosbach, K. New Configurations and Applications of Molecularly Imprinted Polymers. *J. Chromatogr. A*, **2000**, *889*, 15–24.
- [35] Haginaka, J. Monodispersed, Molecularly Imprinted Polymers as Affinity-Based Chromatography Media. *J. Chromatogr. B*, **2008**, *866*, 3–13.
- [36] Kempe, H.; Kempe, M. Development and Evaluation of Spherical Molecularly Imprinted Polymer Beads. *Anal. Chem.*, **2006**, *78*, 3659–3666.
- [37] Brazier, J.J.; Yan, M. Micromonoliths and Microfabricated Molecularly Imprinted Polymers. In *Molecularly Imprinted Materials: Science and Technology*; Yan, M.; Ramström, O., Eds.; CRC Press, **2004**.
- [38] Nilsson, K.; Lindell, J.; Norrlöw, O.; Sellergren, B. Imprinted Polymers as Antibody Mimetics and New Affinity Gels for Selective Separations in Capillary Electrophoresis. *J. Chromatogr. A*, **1994**, *680*, 57–61.

- [39] Schweitz, L.; Andersson, L.I.; Nilsson, S. Molecular Imprint-Based Stationary Phases for Capillary Electrochromatography. *J. Chromatogr. A*, **1998**, *817*, 5–13.
- [40] Schweitz, L.; Andersson, L.I.; Nilsson, S. Molecular Imprint-Based Stationary Phases for Capillary Electrochromatography. *J. Chromatogr. A*, **1998**, *817*, 5–13.
- [41] Arshady, R. Suspension, Emulsion, and Dispersion Polymerization: A Methodological Survey. *Colloid Polym. Sci.*, **1992**, *270*, 717–732.
- [42] Zhang, L.; Cheng, G.; Fu, C. Molecular Selectivity of Tyrosine-Imprinted Polymers Prepared by Seed Swelling and Suspension Polymerization. *Polym. Int.*, **2002**, *51*, 687–692.
- [43] Kempe, M.; Glad, M.; Mosbach, K. An Approach towards Surface Imprinting Using the Enzyme Ribonuclease A. *J. Mol. Recognit. JMR*, **1995**, *8*, 35–39.
- [44] Cunliffe, D.; Alexander, C. Synthetic Strategies-Surface Imprinting. In *Molecularly Imprinted Materials: Science and Technology*; Yan, M.; Ramström, O., Eds.; CRC Press, **2004**; pp. 249–284.
- [45] Sulitzky, C.; Rückert, B.; Hall, A.J.; Lanza, F.; Unger, K.; Sellergren, B. Grafting of Molecularly Imprinted Polymer Films on Silica Supports Containing Surface-Bound Free Radical Initiators. *Macromolecules*, **2002**, *35*, 79–91.
- [46] Jing, T.; Du, H.; Dai, Q.; Xia, H.; Niu, J.; Hao, Q.; Mei, S.; Zhou, Y. Magnetic Molecularly Imprinted Nanoparticles for Recognition of Lysozyme. *Biosens. Bioelectron.*, **2010**, *26*, 301–306.
- [47] Pérez-Moral, N.; Mayes, A. Comparative Study of Imprinted Polymer Particles Prepared by Different Polymerisation Methods. *Anal. Chim. Acta*, **2004**, *504*, 15–21.
- [48] Poma, A.; Turner, A.P.F.; Piletsky, S.A. Advances in the Manufacture of MIP Nanoparticles. *Trends Biotechnol.*, **2010**, *28*, 629–637.
- [49] Çakir, P.; Cutivet, A.; Resmini, M.; Bui, B.T.S.; Haupt, K. Protein-Size Molecularly Imprinted Polymer Nanogels as Synthetic Antibodies, by Localized Polymerization with Multi-Initiators. *Adv. Mater.*, **2013**, *25*, 1048–1051.
- [50] Poma, A.; Guerreiro, A.; Whitcombe, M.J.; Piletska, E.V.; Turner, A.P.F.; Piletsky, S.A. Solid-Phase Synthesis of Molecularly Imprinted Polymer Nanoparticles with a Reusable Template-“Plastic Antibodies.” *Adv. Funct. Mater.*, **2013**, *23*, 2821–2827.
- [51] Poma, A.; Guerreiro, A.; Caygill, S.; Moczko, E.; Piletsky, S. Automatic Reactor for Solid-Phase Synthesis of Molecularly Imprinted Polymeric Nanoparticles (MIP NPs) in Water. *RSC Adv.*, **2013**, *4*, 4203–4206.
- [52] Sharma, P.S.; Dabrowski, M.; D’Souza, F.; Kutner, W. Surface Development of Molecularly Imprinted Polymer Films to Enhance Sensing Signals. *TrAC Trends Anal. Chem.*, **2013**, *51*, 146–157.
- [53] Kirsch, N.; Hart, J.P.; Bird, D.J.; Luxton, R.W.; McCalley, D.V. Towards the Development of Molecularly Imprinted Polymer Based Screen-Printed Sensors for Metabolites of PAHs. *Analyst*, **2001**, *126*, 1936–1941.
- [54] Schmidt, R.H.; Mosbach, K.; Haupt, K. A Simple Method for Spin-Coating Molecularly Imprinted Polymer Films of Controlled Thickness and Porosity. *Adv. Mater.*, **2004**, *16*, 719–722.
- [55] Balamurugan, S.; Spivak, D.A. Molecular Imprinting in Monolayer Surfaces. *J. Mol. Recognit.*, **2011**, *24*, 915–929.
- [56] Mirsky, V.M.; Hirsch, T.; Piletsky, S.A.; Wolfbeis, O.S. A Spreader-Bar Approach to Molecular Architecture: Formation of Stable Artificial Chemoreceptors. *Angew. Chem. Int. Ed.*, **1999**, *38*, 1108–1110.
- [57] Surugiu, I.; Svitel, J.; Ye, L.; Haupt, K.; Danielsson, B. Development of a Flow Injection Capillary Chemiluminescent ELISA Using an Imprinted Polymer Instead of the Antibody. *Anal. Chem.*, **2001**, *73*, 4388–4392.

- [58] Sellergren, B. *Molecularly Imprinted Polymers: Man-Made Mimics of Antibodies and Their Application in Analytical Chemistry*; Elsevier, **2000**.
- [59] Bowen, J.L.; Manesiotis, P.; Allender, C.J. Twenty Years since “antibody Mimics” by Molecular Imprinting Were First Proposed: A Critical Perspective. *Mol. Imprinting*, **2013**, *1*, 35–40.
- [60] Sellergren, B. Noncovalent Molecular Imprinting: Antibody-like Molecular Recognition in Polymeric Network Materials. *TrAC Trends Anal. Chem.*, **1997**, *16*, 310–320.
- [61] Ye, L.; Mosbach, K. Molecular Imprinting: Synthetic Materials As Substitutes for Biological Antibodies and Receptors†. *Chem. Mater.*, **2008**, *20*, 859–868.
- [62] Volkert, A.A.; Haes, A.J. Advancements in Nanosensors Using Plastic Antibodies. *Analyst*, **2013**, *139*, 21–31.
- [63] Lavigne, J.J.; Anslyn, E.V. Sensing A Paradigm Shift in the Field of Molecular Recognition: From Selective to Differential Receptors. *Angew. Chem. Int. Ed.*, **2001**, *40*, 3118–3130.
- [64] Karlsson, J.G.; Andersson, L.I.; Nicholls, I.A. Probing the Molecular Basis for Ligand-Selective Recognition in Molecularly Imprinted Polymers Selective for the Local Anaesthetic Bupivacaine. *Anal. Chim. Acta*, **2001**, *435*, 57–64.
- [65] Tov, O.Y.; Luvitch, S.; Bianco-Peled, H. Molecularly Imprinted Hydrogel Displaying Reduced Non-Specific Binding and Improved Protein Recognition. *J. Sep. Sci.*, **2010**, *33*, 1673–1681.
- [66] Sellergren, B. Direct Drug Determination by Selective Sample Enrichment on an Imprinted Polymer. *Anal. Chem.*, **1994**, *66*, 1578–1582.
- [67] Caro, E.; Marcé, R.M.; Cormack, P.A.G.; Sherrington, D.C.; Borrull, F. A New Molecularly Imprinted Polymer for the Selective Extraction of Naproxen from Urine Samples by Solid-Phase Extraction. *J. Chromatogr. B*, **2004**, *813*, 137–143.
- [68] Andersson, L.I. Efficient Sample Pre-Concentration of Bupivacaine from Human Plasma by Solid-Phase Extraction on Molecularly Imprinted Polymers. *The Analyst*, **2000**, *125*, 1515–1517.
- [69] Suedee, R.; Seechamnaturakit, V.; Canyuk, B.; Ovatlarnporn, C.; Martin, G.P. Temperature Sensitive Dopamine-Imprinted (N,N-Methylene-Bis-Acrylamide Cross-Linked) Polymer and Its Potential Application to the Selective Extraction of Adrenergic Drugs from Urine. *J. Chromatogr. A*, **2006**, *1114*, 239–249.
- [70] Caro, E.; Masqué, N.; Marcé, R.M.; Borrull, F.; Cormack, P.A.G.; Sherrington, D.C. Non-Covalent and Semi-Covalent Molecularly Imprinted Polymers for Selective on-Line Solid-Phase Extraction of 4-Nitrophenol from Water Samples. *J. Chromatogr. A*, **2002**, *963*, 169–178.
- [71] Caro, E.; Marcé, R.M.; Cormack, P.A.G.; Sherrington, D.C.; Borrull, F. Molecularly Imprinted Solid-Phase Extraction of Naphthalene Sulfonates from Water. *J. Chromatogr. A*, **2004**, *1047*, 175–180.
- [72] Lai, J.P.; Niessner, R.; Knopp, D. Benzo [a] Pyrene Imprinted Polymers: Synthesis, Characterization and SPE Application in Water and Coffee Samples. *Anal. Chim. Acta*, **2004**, *522*, 137–144.
- [73] Tamayo, F.G.; Casillas, J.L.; Martin-Esteban, A. Highly Selective Fenuron-Imprinted Polymer with a Homogeneous Binding Site Distribution Prepared by Precipitation Polymerisation and Its Application to the Clean-up of Fenuron in Plant Samples. *Anal. Chim. Acta*, **2003**, *482*, 165–173.
- [74] Molinelli, A.; Weiss, R.; Mizaiakoff, B. Advanced Solid Phase Extraction Using Molecularly Imprinted Polymers for the Determination of Quercetin in Red Wine. *J. Agric. Food Chem.*, **2002**, *50*, 1804–1808.
- [75] Farrington, K.; Magner, E.; Regan, F. Predicting the Performance of Molecularly Imprinted Polymers: Selective Extraction of Caffeine by Molecularly Imprinted Solid Phase Extraction. *Anal. Chim. Acta*, **2006**, *566*, 60–68.
- [76] Wang, D.; Hong, S.P.; Row, K.H. Solid Extraction of Caffeine and Theophylline from Green Tea by Molecular Imprinted Polymers. *Korean J. Chem. Eng.*, **2004**, *21*, 853–857.

- [77] Bystroem, S.E.; Boerje, A.; Akermark, B. Selective Reduction of Steroid 3- and 17-Ketones Using Lithium Aluminum Hydride Activated Template Polymers. *J. Am. Chem. Soc.*, **1993**, *115*, 2081–2083.
- [78] Wulff, G.; Vietmeier, J. Enzyme-Analogue Built Polymers, 26. Enantioselective Synthesis of Amino Acids Using Polymers Possessing Chiral Cavities Obtained by an Imprinting Procedure with Template Molecules. *Makromol. Chem.*, **1989**, *190*, 1727–1735.
- [79] Ye, L.; Ramström, O.; Ansell, R.J.; Månsson, M.-O.; Mosbach, K. Use of Molecularly Imprinted Polymers in a Biotransformation Process. *Biotechnol. Bioeng.*, **1999**, *64*, 650–655.
- [80] Ramström, O.; Mosbach, K. Synthesis and Catalysis by Molecularly Imprinted Materials. *Curr. Opin. Chem. Biol.*, **1999**, *3*, 759–764.
- [81] Leonhardt, A.; Mosbach, K. Enzyme-Mimicking Polymers Exhibiting Specific Substrate Binding and Catalytic Functions. *React. Polym. Ion Exch. Sorbents*, **1987**, *6*, 285–290.
- [82] Robinson, D.K.; Mosbach, K. Molecular Imprinting of a Transition State Analogue Leads to a Polymer Exhibiting Esterolytic Activity. *J. Chem. Soc. Chem. Commun.*, **1989**, 969–970.
- [83] Liu, X.-C.; Mosbach, K. Studies towards a Tailor-Made Catalyst for the Diels-Alder Reaction Using the Technique of Molecular Imprinting. *Macromol. Rapid Commun.*, **1997**, *18*, 609–615.
- [84] Hillberg, A.L.; Brain, K.R.; Allender, C.J. Molecular Imprinted Polymer Sensors: Implications for Therapeutics. *Adv. Drug Deliv. Rev.*, **2005**, *57*, 1875–1889.
- [85] Cunliffe, D.; Kirby, A.; Alexander, C. Molecularly Imprinted Drug Delivery Systems. *Adv. Drug Deliv. Rev.*, **2005**, *57*, 1836–1853.
- [86] Ye, L.; Haupt, K. Molecularly Imprinted Polymers as Antibody and Receptor Mimics for Assays, Sensors and Drug Discovery. *Anal. Bioanal. Chem.*, **2004**, *378*, 1887–1897.
- [87] Alvarez-Lorenzo, C.; Concheiro, A. Molecularly Imprinted Polymers for Drug Delivery. *J. Chromatogr. B*, **2004**, *804*, 231–245.
- [88] Sellergren, B.; Allender, C.J. Molecularly Imprinted Polymers: A Bridge to Advanced Drug Delivery. *Adv. Drug Deliv. Rev.*, **2005**, *57*, 1733–1741.
- [89] Marx, Kenneth A. Toward Understanding the Intelligent Properties of Biological Macromolecules - Implications for Their Design into Biosensors. In *Smart Biosensor Technology*; Knopf, G.K.; Bassi, A.S., Eds.; CRC Press, **2006**.
- [90] Dickert, F.L.; Hayden, O. Imprinting with Sensor Development – On the Way to Synthetic Antibodies. *Fresenius J. Anal. Chem.*, **1999**, *364*, 506–511.
- [91] Hsu, H.-C.; Chen, L.-C.; Ho, K.-C. Colorimetric Detection of Morphine in a Molecularly Imprinted Polymer Using an Aqueous Mixture of Fe³⁺ and [Fe(CN)₆]³⁻. *Anal. Chim. Acta*, **2004**, *504*, 141–147.
- [92] Sergeeva, T.A.; Gorbach, L.A.; Slinchenko, O.A.; Goncharova, L.A.; Piletska, O.V.; Brovko, O.O.; Sergeeva, L.M.; Elska, G.V. Towards Development of Colorimetric Test-Systems for Phenols Detection Based on Computationally-Designed Molecularly Imprinted Polymer Membranes. *Mater. Sci. Eng. C*, **2010**, *30*, 431–436.
- [93] Sergeeva, T.A.; Gorbach, L.A.; Piletska, E.V.; Piletsky, S.A.; Brovko, O.O.; Honcharova, L.A.; Lutsyk, O.D.; Sergeeva, L.M.; Zinchenko, O.A.; El'skaya, A.V. Colorimetric Test-Systems for Creatinine Detection Based on Composite Molecularly Imprinted Polymer Membranes. *Anal. Chim. Acta*, **2013**, *770*, 161–168.
- [94] Greene, N.T.; Shimizu, K.D. Colorimetric Molecularly Imprinted Polymer Sensor Array Using Dye Displacement. *J. Am. Chem. Soc.*, **2005**, *127*, 5695–5700.
- [95] Wu, Z.; Tao, C.; Lin, C.; Shen, D.; Li, G. Label-Free Colorimetric Detection of Trace Atrazine in Aqueous Solution by Using Molecularly Imprinted Photonic Polymers. *Chem. – Eur. J.*, **2008**, *14*, 11358–11368.
- [96] Hu, X.; An, Q.; Li, G.; Tao, S.; Liu, J. Imprinted Photonic Polymers for Chiral Recognition. *Angew. Chem. Int. Ed.*, **2006**, *45*, 8145–8148.

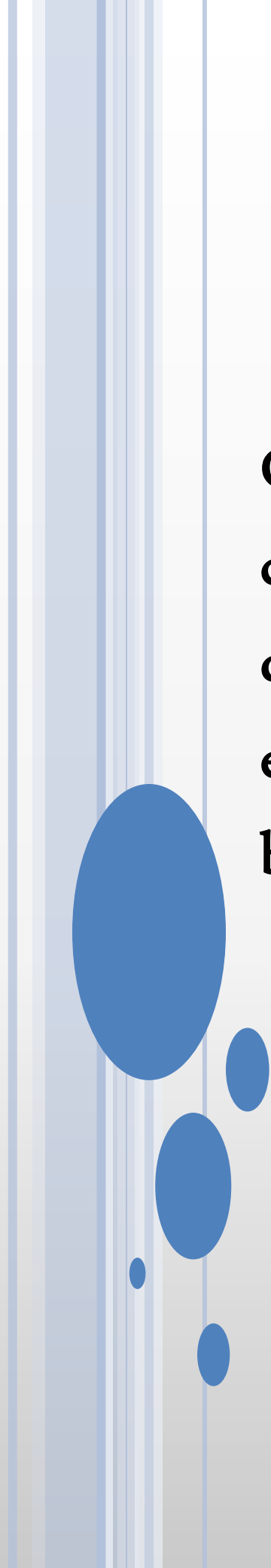
- [97] Li, J.; Zhang, Z.; Xu, S.; Chen, L.; Zhou, N.; Xiong, H.; Peng, H. Label-Free Colorimetric Detection of Trace Cholesterol Based on Molecularly Imprinted Photonic Hydrogels. *J. Mater. Chem.*, **2011**, *21*, 19267–19274.
- [98] Peng, H.; Wang, S.; Zhang, Z.; Xiong, H.; Li, J.; Chen, L.; Li, Y. Molecularly Imprinted Photonic Hydrogels as Colorimetric Sensors for Rapid and Label-Free Detection of Vanillin. *J. Agric. Food Chem.*, **2012**, *60*, 1921–1928.
- [99] Zhang, Y.-X.; Zhao, P.-Y.; Yu, L.-P. Highly-Sensitive and Selective Colorimetric Sensor for Amino Acids Chiral Recognition Based on Molecularly Imprinted Photonic Polymers. *Sens. Actuators B Chem.*, **2013**, *181*, 850–857.
- [100] Xue, F.; Meng, Z.; Wang, Y.; Huang, S.; Wang, Q.; Lu, W.; Xue, M. A Molecularly Imprinted Colloidal Array as a Colorimetric Sensor for Label-Free Detection of P-Nitrophenol. *Anal. Methods*, **2014**, *6*, 831–837.
- [101] Dickert, F.L.; Besenböck, H.; Tortschanoff, M. Molecular Imprinting Through van Der Waals Interactions: Fluorescence Detection of PAHs in Water. *Adv. Mater.*, **1998**, *10*, 149–151.
- [102] Suárez-Rodríguez, J.L.; Díaz-García, M.E. Flavonol Fluorescent Flow-through Sensing Based on a Molecular Imprinted Polymer. *Anal. Chim. Acta*, **2000**, *405*, 67–76.
- [103] Yu, H.; Chen, Z.; Fu, Y.; Kang, L.; Wang, M.; Du, X. Synthesis and Optimization of Molecularly Imprinted Polymers for Quercetin. *Polym. Int.*, **2012**, *61*, 1002–1009.
- [104] Rachkov, A.; McNiven, S.; El'skaya, A.; Yano, K.; Karube, I. Fluorescence Detection of B-Estradiol Using a Molecularly Imprinted Polymer. *Anal. Chim. Acta*, **2000**, *405*, 23–29.
- [105] Haupt, K.; Mayes, A.G.; Mosbach, K. Herbicide Assay Using an Imprinted Polymer-Based System Analogous to Competitive Fluoroimmunoassays. *Anal. Chem.*, **1998**, *70*, 3936–3939.
- [106] Levi, R.; McNiven, S.; Piletsky, S.A.; Cheong, S.-H.; Yano, K.; Karube, I. Optical Detection of Chloramphenicol Using Molecularly Imprinted Polymers. *Anal. Chem.*, **1997**, *69*, 2017–2021.
- [107] Piletsky, S.A.; Terpetschnig, E.; Andersson, H.S.; Nicholls, I.A.; Wolfbeis, O.S. Application of Non-Specific Fluorescent Dyes for Monitoring Enantio-Selective Ligand Binding to Molecularly Imprinted Polymers. *Fresenius J. Anal. Chem.*, **1999**, *364*, 512–516.
- [108] Turkewitsch, P.; Wandelt, B.; Darling, G.D.; Powell, W.S. Fluorescent Functional Recognition Sites through Molecular Imprinting. A Polymer-Based Fluorescent Chemosensor for Aqueous cAMP. *Anal. Chem.*, **1998**, *70*, 2025–2030.
- [109] Carlson, C.A.; Lloyd, J.A.; Dean, S.L.; Walker, N.R.; Edmiston, P.L. Sensor for Fluorene Based on the Incorporation of an Environmentally Sensitive Fluorophore Proximal to a Molecularly Imprinted Binding Site. *Anal. Chem.*, **2006**, *78*, 3537–3542.
- [110] Liao, Y.; Wang, W.; Wang, B. Building Fluorescent Sensors by Template Polymerization: The Preparation of a Fluorescent Sensor for L-Tryptophan. *Bioorganic Chem.*, **1999**, *27*, 463–476.
- [111] Lai, E.P.; Fafara, A.; VanderNoot, V.A.; Kono, M.; Polsky, B. Surface Plasmon Resonance Sensors Using Molecularly Imprinted Polymers for Sorbent Assay of Theophylline, Caffeine, and Xanthine. *Can. J. Chem.*, **1998**, *76*, 265–273.
- [112] Kugimiya, A.; Takeuchi, T. Surface Plasmon Resonance Sensor Using Molecularly Imprinted Polymer for Detection of Sialic Acid. *Biosens. Bioelectron.*, **2001**, *16*, 1059–1062.
- [113] Raitman, O.A.; Chegel, V.I.; Kharitonov, A.B.; Zayats, M.; Katz, E.; Willner, I. Analysis of NAD(P)⁺ and NAD(P)H Cofactors by Means of Imprinted Polymers Associated with Au Surfaces: A Surface Plasmon Resonance Study. *Anal. Chim. Acta*, **2004**, *504*, 101–111.
- [114] Matsui, J.; Akamatsu, K.; Nishiguchi, S.; Miyoshi, D.; Nawafune, H.; Tamaki, K.; Sugimoto, N. Composite of Au Nanoparticles and Molecularly Imprinted Polymer as a Sensing Material. *Anal. Chem.*, **2004**, *76*, 1310–1315.
- [115] Kara, M.; Uzun, L.; Kolayli, S.; Denizli, A. Combining Molecular Imprinted Nanoparticles with Surface Plasmon Resonance Nanosensor for Chloramphenicol Detection in Honey. *J. Appl. Polym. Sci.*, **2013**, *129*, 2273–2279.

- [116] Riskin, M.; Ben-Amram, Y.; Tel-Vered, R.; Chegel, V.; Almog, J.; Willner, I. Molecularly Imprinted Au Nanoparticles Composites on Au Surfaces for the Surface Plasmon Resonance Detection of Pentaerythritol Tetranitrate, Nitroglycerin, and Ethylene Glycol Dinitrate. *Anal. Chem.*, **2011**, *83*, 3082–3088.
- [117] Henry, O.Y.F.; Cullen, D.C.; Piletsky, S.A. Optical Interrogation of Molecularly Imprinted Polymers and Development of MIP Sensors: A Review. *Anal. Bioanal. Chem.*, **2005**, *382*, 947–956.
- [118] Lin, J.-M.; Yamada, M. Chemiluminescent Flow-through Sensor for 1,10-Phenanthroline Based on the Combination of Molecular Imprinting and Chemiluminescence. *Analyst*, **2001**, *126*, 810–815.
- [119] Surugiu, I.; Ye, L.; Yilmaz, E.; Dzgoev, A.; Danielsson, B.; Mosbach, K.; Haupt, K. An Enzyme-Linked Molecularly Imprinted Sorbent Assay. *Analyst*, **2000**, *125*, 13–16.
- [120] Nickel, A.-M.L.; Seker, F.; Ziemer, B.P.; Ellis, A.B. Imprinted Poly(acrylic Acid) Films on Cadmium Selenide. A Composite Sensor Structure That Couples Selective Amine Binding with Semiconductor Substrate Photoluminescence. *Chem. Mater.*, **2001**, *13*, 1391–1397.
- [121] Zhou, H.; Zhang, Z.; He, D.; Hu, Y.; Huang, Y.; Chen, D. Flow Chemiluminescence Sensor for Determination of Clenbuterol Based on Molecularly Imprinted Polymer. *Anal. Chim. Acta*, **2004**, *523*, 237–242.
- [122] Zhou, H.; Zhang, Z.; He, D.; Xiong, Y. Flow through Chemiluminescence Sensor Using Molecularly Imprinted Polymer as Recognition Elements for Detection of Salbutamol. *Sens. Actuators B Chem.*, **2005**, *107*, 798–804.
- [123] Dickert, F.L.; Tortschanoff, M.; Bulst, W.E.; Fischerauer, G. Molecularly Imprinted Sensor Layers for the Detection of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons in Water. *Anal. Chem.*, **1999**, *71*, 4559–4563.
- [124] Dickert, F.L.; Lieberzeit, P.; Tortschanoff, M. Molecular Imprints as Artificial Antibodies — a New Generation of Chemical Sensors. *Sens. Actuators B Chem.*, **2000**, *65*, 186–189.
- [125] Dickert, F.L.; Achatz, P.; Halikias, K. Double Molecular Imprinting – a New Sensor Concept for Improving Selectivity in the Detection of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons (PAHs) in Water. *Fresenius J. Anal. Chem.*, **2001**, *371*, 11–15.
- [126] Peng, H.; Liang, C.; He, D.; Nie, L.; Yao*, S. Non-Aqueous Assay System for Phenobarbital Using Biomimetic Bulk Acoustic Wave Sensor Based on a Molecularly Imprinted Polymer. *Anal. Lett.*, **2000**, *33*, 793–808.
- [127] Luo, C.; Liu, M.; Mo, Y.; Qu, J.; Feng, Y. Thickness-Shear Mode Acoustic Sensor for Atrazine Using Molecularly Imprinted Polymer as Recognition Element. *Anal. Chim. Acta*, **2001**, *428*, 143–148.
- [128] Haupt, K.; Noworyta, K.; Kutner, W. Imprinted Polymer-Based Enantioselective Acoustic Sensor Using a Quartz Crystal Microbalance. *Anal. Commun.*, **1999**, *36*, 391.
- [129] Malitesta, C.; Losito, I.; Zambonin, P.G. Molecularly Imprinted Electrosynthesized Polymers: New Materials for Biomimetic Sensors. *Anal. Chem.*, **1999**, *71*, 1366–1370.
- [130] Wohltjen, H.; Dessy, R. Surface Acoustic Wave Probe for Chemical Analysis. I. Introduction and Instrument Description. *Anal. Chem.*, **1979**, *51*, 1458–1464.
- [131] Tan, Y.; Peng, H.; Liang, C.; Yao, S. A New Assay System for Phenacetin Using Biomimetic Bulk Acoustic Wave Sensor with a Molecularly Imprinted Polymer Coating. *Sens. Actuators B Chem.*, **2001**, *73*, 179–184.
- [132] Liang, C.; Peng, H.; Bao, X.; Nie, L.; Yao, S. Study of a Molecular Imprinting Polymer Coated BAW Bio-Mimic Sensor and Its Application to the Determination of Caffeine in Human Serum and Urine. *Analyst*, **1999**, *124*, 1781–1785.
- [133] Peng, H.; Liang, C.; He, D.; Nie, L.; Yao, S. Bulk Acoustic Wave Sensor Using Molecularly Imprinted Polymers as Recognition Elements for the Determination of Pymethamine. *Talanta*, **2000**, *52*, 441–448.

- [134] Peng, H.; Liang, C.; Zhou, A.; Zhang, Y.; Xie, Q.; Yao, S. Development of a New Atropine Sulfate Bulk Acoustic Wave Sensor Based on a Molecularly Imprinted Electrosynthesized Copolymer of Aniline with O-Phenylenediamine. *Anal. Chim. Acta*, **2000**, *423*, 221–228.
- [135] Wen, W.; Shitang, H.; Shunzhou, L.; Minghua, L.; Yong, P. Enhanced Sensitivity of SAW Gas Sensor Coated Molecularly Imprinted Polymer Incorporating High Frequency Stability Oscillator. *Sens. Actuators B Chem.*, **2007**, *125*, 422–427.
- [136] Fu, Y.Q.; Luo, J.K.; Du, X.Y.; Flewitt, A.J.; Li, Y.; Markx, G.H.; Walton, A.J.; Milne, W.I. Recent Developments on ZnO Films for Acoustic Wave Based Bio-Sensing and Microfluidic Applications: A Review. *Sens. Actuators B Chem.*, **2010**, *143*, 606–619.
- [137] Länge, K.; Rapp, B.E.; Rapp, M. Surface Acoustic Wave Biosensors: A Review. *Anal. Bioanal. Chem.*, **2008**, *391*, 1509–1519.
- [138] Kan, X.; Liu, T.; Li, C.; Zhou, H.; Xing, Z.; Zhu, A. A Novel Electrochemical Sensor Based on Molecularly Imprinted Polymers for Caffeine Recognition and Detection. *J. Solid State Electrochem.*, **2012**, *16*, 3207–3213.
- [139] Kimmel, D.W.; LeBlanc, G.; Meschievitz, M.E.; Cliffel, D.E. Electrochemical Sensors and Biosensors. *Anal. Chem.*, **2012**, *84*, 685–707.
- [140] Lieberzeit, P.A.; Dickert, F.L. Rapid Bioanalysis with Chemical Sensors: Novel Strategies for Devices and Artificial Recognition Membranes. *Anal. Bioanal. Chem.*, **2008**, *391*, 1629–1639.
- [141] Blanco-López, M.C.; Lobo-Castañón, M.J.; Miranda-Ordieres, A.J.; Tuñón-Blanco, P. Electrochemical Sensors Based on Molecularly Imprinted Polymers. *TrAC Trends Anal. Chem.*, **2004**, *23*, 36–48.
- [142] Piletsky, S.A.; Panasyuk, T.L.; Piletskaya, E.V.; Nicholls, I.A.; Ulbricht, M. Receptor and Transport Properties of Imprinted Polymer Membranes – a Review. *J. Membr. Sci.*, **1999**, *157*, 263–278.
- [143] Institute of Bioorganic Chemistry and Petrochemistry, Academy of Sciences of the Ukrainian SSR; Piletsky, S. Substrate-Selective Polymeric Membranes. Selective Transfer of Nucleic Acids Components. *Biopolym. Cell*, **1990**, *6*, 55–58.
- [144] Piletsky, S.A.; Piletskaya, E.V.; Panasyuk, T.L.; El'skaya, A.V.; Levi, R.; Karube, I.; Wulff, G. Imprinted Membranes for Sensor Technology: Opposite Behavior of Covalently and Noncovalently Imprinted Membranes. *Macromolecules*, **1998**, *31*, 2137–2140.
- [145] Sergeyeva, T.A.; Piletsky, S.A.; Brovko, A.A.; Slinchenko, E.A.; Sergeeva, L.M.; El'skaya, A.V. Selective Recognition of Atrazine by Molecularly Imprinted Polymer Membranes. Development of Conductometric Sensor for Herbicides Detection. *Anal. Chim. Acta*, **1999**, *392*, 105–111.
- [146] Panasyuk, T.L.; Mirsky, V.M.; Piletsky, S.A.; Wolfbeis, O.S. Electropolymerized Molecularly Imprinted Polymers as Receptor Layers in Capacitive Chemical Sensors. *Anal. Chem.*, **1999**, *71*, 4609–4613.
- [147] Andersson, L.I.; Miyabayashi, A.; O'Shannessy, D.J.; Mosbach, K. Enantiomeric Resolution of Amino Acid Derivatives on Molecularly Imprinted Polymers as Monitored by Potentiometric Measurements. *J. Chromatogr. A*, **1990**, *516*, 323–331.
- [148] Panasyuk-Delaney, T.; Mirsky, V.M.; Ulbricht, M.; Wolfbeis, O.S. Impedometric Herbicide Chemosensors Based on Molecularly Imprinted Polymers. *Anal. Chim. Acta*, **2001**, *435*, 157–162.
- [149] Piletsky, S.A.; Piletskaya, E.V.; Sergeyeva, T.A.; Panasyuk, T.L.; El'skaya, A.V. Molecularly Imprinted Self-Assembled Films with Specificity to Cholesterol. *Sens. Actuators B Chem.*, **1999**, *60*, 216–220.
- [150] Cheng, Z.; Wang, E.; Yang, X. Capacitive Detection of Glucose Using Molecularly Imprinted Polymers. *Biosens. Bioelectron.*, **2001**, *16*, 179–185.
- [151] Hutchins, R.S.; Bachas, L.G. Nitrate-Selective Electrode Developed by Electrochemically Mediated Imprinting/Doping of Polypyrrole. *Anal. Chem.*, **1995**, *67*, 1654–1660.

- [152] Lahav, M.; Kharitonov, A.B.; Katz, O.; Kunitake, T.; Willner, I. Tailored Chemosensors for Chloroaromatic Acids Using Molecular Imprinted TiO₂ Thin Films on Ion-Sensitive Field-Effect Transistors. *Anal. Chem.*, **2001**, *73*, 720–723.
- [153] Spurlock, L.D.; Jaramillo, A.; Praserthdam, A.; Lewis, J.; Brajter-Toth, A. Selectivity and Sensitivity of Ultrathin Purine-Templated Overoxidized Polypyrrole Film Electrodes. *Anal. Chim. Acta*, **1996**, *336*, 37–46.
- [154] Pogorelova, S.P.; Bourenko, T.; Kharitonov, A.B.; Willner, I. Selective Sensing of Triazine Herbicides in Imprinted Membranes Using Ion-Sensitive Field-Effect Transistors and Microgravimetric Quartz Crystal Microbalance Measurements. *Analyst*, **2002**, *127*, 1484–1491.
- [155] Panasyuk, T.; Campo Dall'Orto, V.; Marrazza, G.; El'skaya, A.; Piletsky, S.; Rezzano, I.; Mascini, M. Molecular Imprinted Polymers Prepared by Electropolymerization of Ni-(Protoporphyrin IX). *Anal. Lett.*, **1998**, *31*, 1809–1824.
- [156] Blanco-López, M.C.; Lobo-Castañón, M.J.; Miranda-Ordieres, A.J.; Tuñón-Blanco, P. Voltammetric Sensor for Vanillylmandelic Acid Based on Molecularly Imprinted Polymer-Modified Electrodes. *Biosens. Bioelectron.*, **2003**, *18*, 353–362.
- [157] Kirsch, N.; Honeychurch, K.C.; Hart, J.P.; Whitcombe, M.J. Voltammetric Determination of Urinary 1-Hydroxypyrene Using Molecularly Imprinted Polymer-Modified Screen-Printed Carbon Electrodes. *Electroanalysis*, **2005**, *17*, 571–578.
- [158] Kriz, D.; Mosbach, K. Competitive Amperometric Morphine Sensor Based on an Agarose Immobilised Molecularly Imprinted Polymer. *Anal. Chim. Acta*, **1995**, *300*, 71–75.
- [159] Andrea, P.; Miroslav, S.; Silvia, S.; Stanislav, M. A Solid Binding Matrix/molecularly Imprinted Polymer-Based Sensor System for the Determination of Clenbuterol in Bovine Liver Using Differential-Pulse Voltammetry. *Sens. Actuators B Chem.*, **2001**, *76*, 286–294.
- [160] Sode, K.; Takahashi, Y.; Ohta, S.; Tsugawa, W.; Yamazaki, T. A New Concept for the Construction of an Artificial Dehydrogenase for Fructosylamine Compounds and Its Application for an Amperometric Fructosylamine Sensor. *Anal. Chim. Acta*, **2001**, *435*, 151–156.
- [161] Sode, K.; Ohta, S.; Yanai, Y.; Yamazaki, T. Construction of a Molecular Imprinting Catalyst Using Target Analogue Template and Its Application for an Amperometric Fructosylamine Sensor. *Biosens. Bioelectron.*, **2003**, *18*, 1485–1490.
- [162] Suryanarayanan, V.; Wu, C.-T.; Ho, K.-C. Molecularly Imprinted Electrochemical Sensors. *Electroanalysis*, **2010**, *22*, 1795–1811.
- [163] Piletsky, S.A.; Piletskaya, E.V.; Elgersma, A.V.; Yano, K.; Karube, I.; Parhometz, Y.P.; El'skaya, A.V. Atrazine Sensing by Molecularly Imprinted Membranes. *Biosens. Bioelectron.*, **1995**, *10*, 959–964.
- [164] Lahav, M.; Kharitonov, A.B.; Willner, I. Imprinting of Chiral Molecular Recognition Sites in Thin TiO₂ Films Associated with Field-Effect Transistors: Novel Functionalized Devices for Chiroselective and Chiroselective Analyses. *Chem. – Eur. J.*, **2001**, *7*, 3992–3997.
- [165] Zayats, M.; Lahav, M.; Kharitonov, A.B.; Willner, I. Imprinting of Specific Molecular Recognition Sites in Inorganic and Organic Thin Layer Membranes Associated with Ion-Sensitive Field-Effect Transistors. *Tetrahedron*, **2002**, *58*, 815–824.
- [166] Petrukhin, O.M.; Pogorelova, S.P.; Kharitonov, A.B.; Shipulo, E.V. Molecularly Selective Field-Effect Transistors for Determining Nicotinamide Adenine Dinucleotide and Its Phosphates. *J. Anal. Chem.*, **2007**, *62*, 894–902.
- [167] Yoshimi, Y.; Ohdaira, R.; Iiyama, C.; Sakai, K. “Gate Effect” of Thin Layer of Molecularly-Imprinted Poly(methacrylic Acid-Co-Ethyleneglycol Dimethacrylate). *Sens. Actuators B Chem.*, **2001**, *73*, 49–53.

- [168] Luo, N.; Hatchett, D.W.; Rogers, K.R. Impact of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons on the Electrochemical Responses of a Ferricyanide Probe at Template-Modified Self-Assembled Monolayers on Gold Electrodes. *Electroanalysis*, **2006**, *18*, 2180–2187.
- [169] Bakas, I.; Hayat, A.; Piletsky, S.; Piletska, E.; Chehimi, M.M.; Noguier, T.; Rouillon, R. Electrochemical Impedimetric Sensor Based on Molecularly Imprinted Polymers/sol-Gel Chemistry for Methidathion Organophosphorous Insecticide Recognition. *Talanta*, **2014**, *130*, 294–298.
- [170] Liang, R.-N.; Song, D.-A.; Zhang, R.-M.; Qin, W. Potentiometric Sensing of Neutral Species Based on a Uniform-Sized Molecularly Imprinted Polymer as a Receptor. *Angew. Chem. Int. Ed.*, **2010**, *49*, 2556–2559.
- [171] Kriz, D.; Andersson, L.I.; Khayyami, B.; Danielsson, B.; Larsson, P.O.; Mosbach, K. Preparation and Characterisation of Composite Polymers Exhibiting Both Selective Molecular Recognition and Electrical Conductivity. *Biomimetics*, **1995**, 81–90.
- [172] Ho, K.-C.; Yeh, W.-M.; Tung, T.-S.; Liao, J.-Y. Amperometric Detection of Morphine Based on poly(3,4-Ethylenedioxythiophene) Immobilized Molecularly Imprinted Polymer Particles Prepared by Precipitation Polymerization. *Anal. Chim. Acta*, **2005**, *542*, 90–96.
- [173] Li, S.; Ge, Y.; Piletsky, S.A.; Lunec, J. *Molecularly Imprinted Sensors: Overview and Applications*; Elsevier, **2012**.
- [174] Yeh, W.-M.; Ho, K.-C. Amperometric Morphine Sensing Using a Molecularly Imprinted Polymer-Modified Electrode. *Anal. Chim. Acta*, **2005**, *542*, 76–82.
- [175] Weetall, H.H.; Hatchett, D.W.; Rogers, K.R. Electrochemically Deposited Polymer-Coated Gold Electrodes Selective for 2,4-Dichlorophenoxyacetic Acid. *Electroanalysis*, **2005**, *17*, 1789–1794.
- [176] Pardieu, E.; Cheap, H.; Vedrine, C.; Lazerges, M.; Lattach, Y.; Garnier, F.; Remita, S.; Pernelle, C. Molecularly Imprinted Conducting Polymer Based Electrochemical Sensor for Detection of Atrazine. *Anal. Chim. Acta*, **2009**, *649*, 236–245.



**Chapitre 2. Synthèse et
caractérisation physico-chimique
de nouveaux MIPs
électrochimiques pour le
benzo(a)pyrène**

Table des matières

1. Hydrocarbures polycycliques aromatiques et benzo(a)pyrène	48
2. Polymères à empreintes moléculaires destinés aux HAPs.....	50
3. Choix des paramètres de synthèse.....	56
3.1. Choix du monomère fonctionnel et de l'agent réticulant.....	56
3.2. Choix de la technique de polymérisation.....	57
4. Etude préliminaire de polymérisation par précipitation.....	60
5. Polymérisation par précipitation par distillation	61
5.1. Etude préliminaire de condition de synthèse.....	62
5.2. Caractérisation par spectroscopie IRTF et analyse élémentaire	67
5.3. Propriétés texturales par adsorption-désorption de diazote (BET)	69
5.4. Stabilité thermique	71
6. Conclusion.....	72
7. Références.....	72

Le travail présenté dans la suite de ce manuscrit a été mené en collaboration avec la Société du Canal de Provence. Une de ses préoccupations concerne la pollution accidentelle ou intentionnelle de son réseau de distribution d'eau par des hydrocarbures aromatiques polycycliques (HAPs). Compte-tenu de cette donnée d'entrée, un état de l'art sur les polymères à empreintes moléculaires développés spécifiquement pour les HAPs a été fait, avec une attention particulière pour le Benzo(a)Pyrène (BaP) qui a été choisi comme cible. Sur la base de cette étude bibliographique, une étude préliminaire a été menée afin de déterminer les paramètres expérimentaux conduisant aux polymères susceptibles d'être les plus efficaces dans l'application déterminée au début de ce travail.

1. Hydrocarbures polycycliques aromatiques et benzo(a)pyrène

Les hydrocarbures aromatiques polycycliques (HAPs) sont un groupe de composés organiques constitués d'au moins deux noyaux aromatiques. Les HAPs proviennent principalement de sources anthropiques, en particulier de la combustion incomplète des combustibles organiques. Les HAPs sont largement diffusés dans l'atmosphère avec un apport non négligeable dû aux processus naturels, comme les éruptions volcaniques et les incendies de forêt. Ces composés peuvent être présents à la fois dans les phases particulaire et gazeuse, en fonction de leur volatilité. Les HAPs de faibles poids moléculaires (deux ou trois cycles aromatiques) sont émis dans la phase gazeuse, alors que pour les HAPs plus lourds, avec cinq ou plusieurs cycles aromatiques, sont présents dans une phase particulaire. Dans l'atmosphère, les HAPs peuvent subir une photo-dégradation et réagir avec d'autres polluants, comme le dioxyde de soufre, les oxydes d'azote ou l'ozone. La réaction sous la lumière de soleil donne principalement des endopéroxydes qui par la suite se transforment en plusieurs composés y compris des diones [1-3].

L'agence américaine pour les substances toxiques et les maladies (The United States Agency for Toxic Substances and Disease Registry ou ATSDR) a classé seize HAPs comme prioritaires à suivre en fonction de leur profil toxicologique (ATSDR, 1995) [4], bien que les effets sur la santé des HAPs pris individuellement ne soient pas exactement identiques. Ces seize HAPs (Figure 1) ont été choisis pour être inclus dans la liste des priorités parce que : (1) ils sont susceptibles d'être plus nocifs que d'autres, et leurs effets nocifs sont représentatifs des HAPs en général ; (2) la possibilité d'exposition à ces HAPs est plus importante que pour les autres et (3) de tous les HAPs analysés, ceux-ci sont présents aux concentrations les plus élevées.

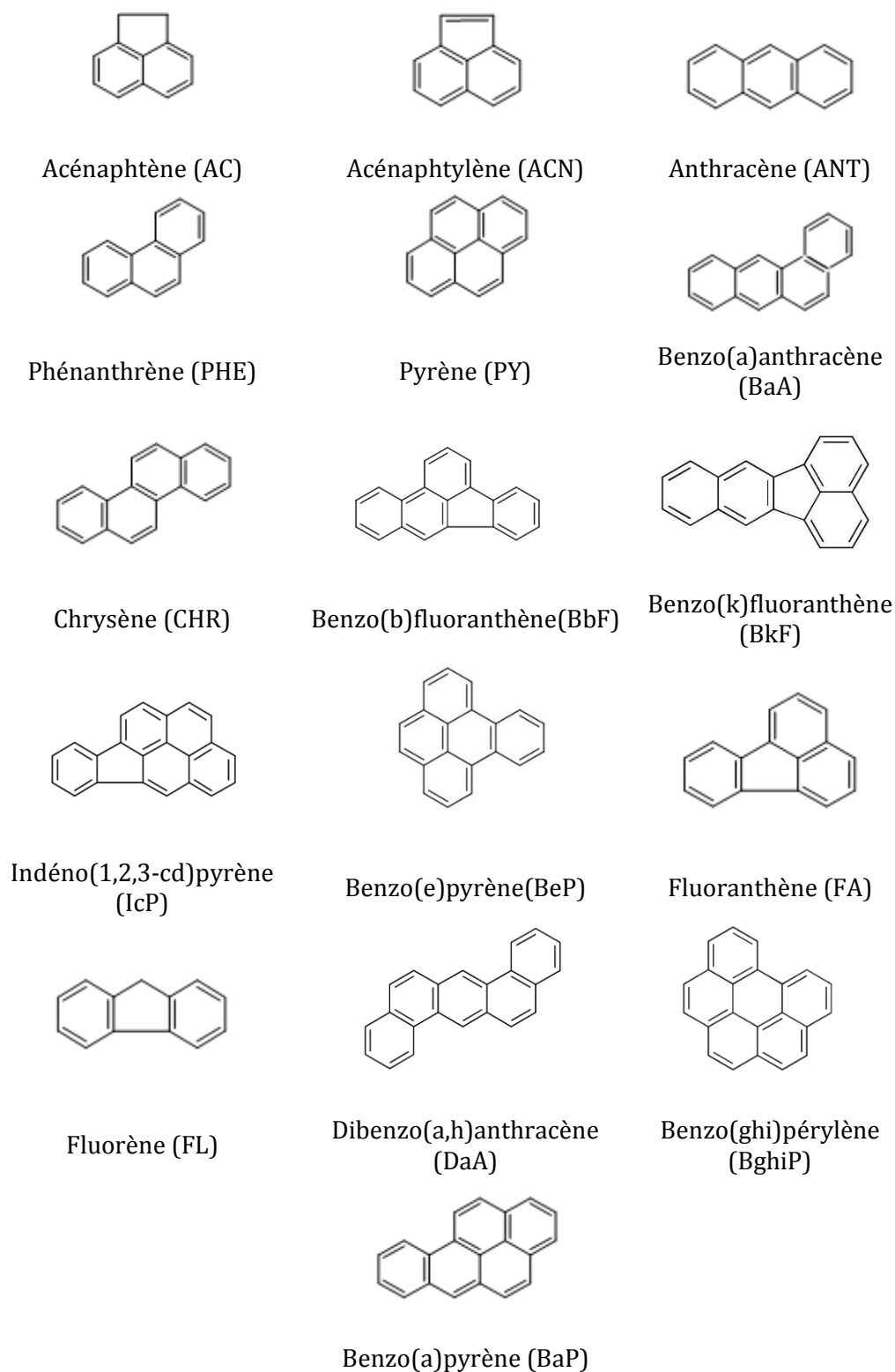


Figure 1. Structures chimiques des seize HAPs prioritaires dans la liste de l'agence américaine pour les substances toxiques et les maladies (ATSDR) ainsi que leurs abréviations [4].

Le benzo(a)pyrène ou BaP fait partie des HAPs les plus toxiques. Il est métabolisé chez les humains et les animaux pour former un certain nombre de métabolites qui peuvent s'avérer toxiques. Ainsi, le BaP et ses métabolites peuvent se lier à l'ADN formant une structure de type adduit. La formation d'adduits de BaP-ADN peut interférer avec l'ADN ou modifier sa réplication et peut accroître le risque de plusieurs formes de cancer. Le BaP est classé comme ayant un mode d'action mutagène (induisant la formation de tumeurs) et il nécessite une activation métabolique pour devenir cancérigène [5].

Le BaP a une très faible solubilité dans l'eau (3 µg/L à 25°C) [6]. Il se lie aux matières particulaires dans l'eau, ces dernières étant normalement éliminées par filtration. Cependant, il peut être trouvé dans l'eau potable lorsque les sources d'eaux souterraines ou les eaux de surface sont contaminées [5]. Le BaP est donc classé par les autorités publiques comme une substance prioritaire à contrôler, en particulier dans les eaux potables [6] (Tableau 1).

Tableau 1. Limite autorisée en BaP dans l'eau potable selon différents organismes et/ou pays (UE : Union Européenne, OMS : Organisation Mondiale de la Santé et EPA : US Environmental Protection Agency).

Pays ou organisme	Article	Limite
France	Décret 2001 -1220 du 20 décembre 2001 relatif aux eaux destinées à la consommation humaine à l'exclusion des eaux minérales naturelles	0,010 µg/L
UE	Directive 98/83/CE du Conseil du 3 novembre 1998 relative à la qualité des eaux destinées à la consommation humaine (CE, 1998)	0,010 µg/L
OMS	Directives de qualité pour l'eau de boisson (2004)	0,7 µg/L
EPA	US EPA Maximum Contaminant Level (MCL) for Drinking Water	0,2 µg/L [7]

La quantité de BaP dans le milieu naturel, notamment dans les eaux, est généralement évaluée par des techniques chromatographiques telles que la chromatographie liquide haute performance couplée à une détection par UV ou par fluorescence, ou la chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse [8]. Néanmoins, la quantification du BaP dans des échantillons naturels reste fastidieuse d'où l'intérêt de développer une technique de détection et/ou d'analyse efficace sans passer par des étapes de purification [9].

2. Polymères à empreintes moléculaires destinés aux HAPs

Les HAPS sont des composés ne présentant aucun groupement fonctionnel pouvant être impliqué lors de la reconnaissance non covalente via des liaisons hydrogènes, des interactions dipolaires ou ioniques. Ceci rend donc difficile la préparation de MIPs ayant pour empreinte les HAPs. Les seules interactions qui peuvent être utilisées dans le processus d'impression et de reconnaissance sont les interactions hydrophobes, et des interactions π - π , qui sont un ou deux ordres de grandeur plus faibles que les forces électrostatiques [10].

Les premiers polymères à empreintes moléculaires destinés aux HAPs ont été préparés par F.L. Dickert et son équipe en 1998 [11]. Ils étaient à base de polyuréthane et obtenus par polycondensation. Les composés, imprimés individuellement, qui servaient de molécules empreintes étaient l'antracène, le pyrène, le sulfonate d'antraquinone et le sulfonate de pyrène. La figure 2 présente, à titre d'exemple, l'impression du pyrène par un polyuréthane. L'adsorption non-spécifique du polymère non-imprimé était estimée à seulement 1% comparée à l'adsorption spécifique du polymère imprimé. Cette même équipe a, par ailleurs, développé le même type de polymère pour faire de la détection piézoélectrique type QCM, et par onde acoustique de surface SAW [12-14].

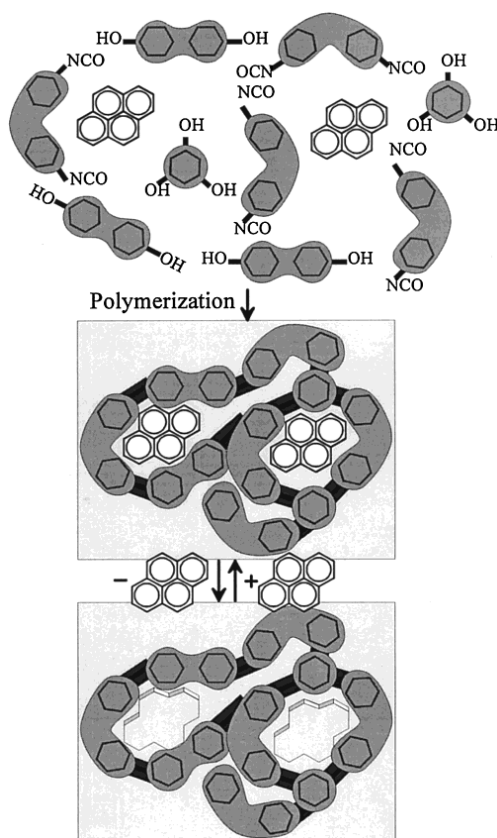


Figure 2. Polyuréthane imprimé avec le pyrène par l'équipe de F.L. Dickert [14].

Ce groupe a montré qu'une bonne sensibilité pouvait être obtenue en choisissant en tant que molécule empreinte un HAP de taille plus petite que le HAP ciblé initialement. Par exemple, dans le cas du pyrène, un polymère imprimé avec l'acénaphthène était plus sensible au pyrène qu'un polymère imprimé avec ce dernier [14]. Cette observation a donné lieu à une autre technique de création de MIP. Il s'agit de la « double-impression » (double imprinting) [15]. Ainsi, pour la détection du pyrène par QCM et par fluorescence, 20% du pyrène dans la solution de pré-polymérisation ont été remplacés par du naphthalène [16]. Le MIP issu de cette synthèse montre une meilleure capacité de reconnaissance pour le pyrène que le MIP imprimé avec le pyrène seul.

Malgré ces résultats encourageants, cette technique n'a plus été utilisée depuis, mis à part très récemment par M. Pschenitzka et *al* [17] pour le benzo(a)pyrène en utilisant un mélange de phénanthrène et de pyrène comme molécules cibles. Toutefois, le facteur d'empreinte obtenu par

cette technique (entre 1,88 et 2,02 selon le rapport phénanthrène/pyrène) n'est pas différent de celui obtenu par l'utilisation du BaP comme molécule cible (2,09).

Les MIPs pour HAPs sont développés pour de nombreuses applications, notamment les applications environnementales telles que l'analyse de l'air [18], l'analyse des sols [19], l'analyse des eaux [10,14,15,20-23], l'analyse de l'eau de mer [24] et l'analyse d'huiles moteur [25]. D'autres applications concernent la santé notamment le métabolisme des HAPs dans l'organisme [26,27], l'analyse des résidus de cigarette [13,28] et la contamination alimentaire [10].

La technique de synthèse des MIPs la plus couramment utilisée pour les HAPs est la polymérisation radicalaire mettant en jeu un ou plusieurs monomères fonctionnels et un agent réticulant. La polycondensation (polyuréthane) est essentiellement utilisée par F.L. Dickert et son équipe [11,22,29]. D'autres techniques plus rares comme la technique sol-gel [30] et l'électropolymérisation ont également été employées [31]. Le tableau 2 rassemble les conditions d'obtention des MIPs pour HAPs en répertoriant les molécules cibles, les molécules empreintes, les monomères fonctionnels, les agents réticulants et le solvant porogène employés ainsi que les applications visées. Les performances des matériaux n'ont pas été indiquées car, selon les conditions de mesures utilisées, il est difficile de faire des comparaisons.

Tableau 2. Conditions d'obtention des MIPs pour HAPs. (DaP : Dibenzo(a,h)pyrène, DIDM : Diphénylméthane 4,4'-diisocyanate, DMAEM : Méthacrylate de 2-(diéthylamine), DVB : Divinylbenzène, EDMA : Diméthacrylate d'éthylène glycol, HEMA : 2-Hydroxyéthylméthacrylate, MAA : Acide méthacrylique, 2-MBI : 2-Mercaptobenzimidazole, MISPE : Molecularly Imprinted Solid Phase Extraction (MIP sous forme de colonne d'extraction en phase solide), MMA : Méthylméthacrylate, NOBE : N,O-bisméthacryloyléthanolamine, PTMS : Phényltriméthoxysilane, QCM : Quartz Cristal Microbalance (microbalance à cristal de quartz), QMB : Quartz Micro Balance (microbalance à quartz), SAW : Surface Acoustic Wave (onde acoustique de surface), Str : Styrene, TEOS : Tétrahéoxysilane, TFMAA : Acide trifluorométhacrylique, TRIM : Triméthacrylate de triméthylolpropane, VFA : N-Vinylformamide, 4VP : 4-Vinylpyridine).

Molécule (s) cible(s)	Molécule(s) empreinte(s)	Monomère(s) fonctionnel(s)	Agent réticulant	Solvant porogène	Application	Référence
BaP , BbF, CHR, DbA, IcP	mélange de BaP, BbF, CHR, DbA et IcP	4VP	EDMA	acétonitrile	analyse des poussières industrielles (MISPE)	[32]
BaA, BaP , BbF, CHR, DaP, IcP	mélange de BaA, BaP, BbF, CHR, DaP et IcP	MAA	EDMA	acétonitrile	analyse des eaux	[33]
BaP	BaP	4VP 4VP MAA TFMAA	DVB EDMA DVB DVB	dichlorométhane	analyse des eaux et d'échantillons de café (MISPE)	[10]
BaP	7-méthylbenzo(a)pyrène (7-MeBaP)	4VP 4VP	DVB EDMA	dichlorométhane	analyse de fumée de cigarettes	[28]
BaP	BaP	MAA	EDMA	acétonitrile	non communiqué	[34]
BaP	BaP	MAA	EDMA	acétonitrile	non communiqué	[35]
BaP	BaP	MAA	EDMA	acétonitrile	analyse de l'air et des eaux	[23]
BaP	BaP	MAA	EDMA	acétonitrile	non communiqué	[36]
BaP	BaP	4VP DMAEM MAA DMAEM	TRIM TRIM TRIM DVB	dichlorométhane	analyse de l'air (MISPE)	[37]
BaP	mélange de PY et PHE (double impression)	4VP	DVB	dichlorométhane	analyse des huiles végétales (MISPE)	[17]
PY	PY	NOBE		acétonitrile	analyse de l'eau de mer	[24]
		MAA	EDMA			
PY	PY	4VP	DVB	chloroforme	MISPE	[38]

Molécule(s) cible(s)	Molécule(s) empreinte(s)	Monomère(s) fonctionnel(s)	Agent réticulant	Solvant porogène	Application	Référence
ANT, PY	PY, ANT, sel sulfonate de sodium d'anthraquinone, sel sulfonate de sodium de pyrène (individuels)	Polyuréthane = DIDM + bisphénol A + phloroglucinol		tétrahydrofurane	capteurs QCM	[21]
ANT, BaA, BghiP, CHR, PY, pérylène	ANT, BaA, BghiP, CHR, PY, pérylène (individuels)	Polyuréthane = DIDM + bisphénol A + phloroglucinol		tétrahydrofurane	analyse des eaux	[14]
ANT, PHE, PY	ANT, PHE, PY (individuels)	Polyuréthane = <i>p,p'</i> -diaminodiphényléther + DIDM + bisphénol A + phloroglucinol + triéthanolamine		tétrahydrofurane	analyse des eaux potables et de l'huile de moteur	[15]
CHR	mélanges de naphtalène + pérylène, naphtalène + PY, ACN + PY (double impression)	Polyuréthane = DIDM + bisphénol A + phloroglucinol		diméthylformamide	analyse des eaux (capteur QMB)	[25]
ANT, CHR	plusieurs compositions de différents HAPs (double impression)	Polyuréthane = DIDM + bisphénol A + phloroglucinol		tétrahydrofurane	capteurs QCM	[22]
ANT	mélange de naphtalène et de PY (double impression)	Polyuréthane = DIDM + bisphénol A + phloroglucinol		pyridine	analyse de l'huile de moteur (capteurs QCM)	[39]
PY	mélange de naphtalène et PY (double impression), PY seul	Polyuréthane = DIDM + polyéthylène glycol		pyridine	analyse des eaux (capteur QCM et SAW)	[40]
PY	mélange de naphtalène et PY (double impression)	Polyuréthane = DIDM + polyéthylène glycol		pyridine	capteurs QCM et fluorescent	[16]
mélange de 16 HAPs prioritaires	mélange de 16 HAPs prioritaires	MAA	EDMA	acétonitrile	analyse des sols, eaux usées, poussières industrielles (MISPE)	[20]
ANT	ANT	EDMA		acétonitrile	MISPE	[41]
1-hydroxypyrrène	1-hydroxypyrrène	Str	DVB	méthanol	électrode sérigraphiée	[26]
mélange de 16 HAPs prioritaires	mélange de 16 HAPs prioritaires	Sol-gel = PTMS + TEOS		acétonitrile	analyse de l'eau de mer (MISPE)	[42]

Molécule(s) cible(s)	Molécule(s) empreinte(s)	Monomère(s) fonctionnel(s)	Agent réticulant	Solvant porogène	Application	Référence
1-hydroxypyrrène	1-hydroxypyrrène	(vinylbenzyl) triméthylammonium	DVB	méthanol	analyse de l'urine (électrode sérigraphiée)	[27]
PY	PY	4VP+MAA	EDMA	acétonitrile	analyse de fumée de cigarettes (MISPE)	[43]
naphtalène, ANT	naphtalène, ANT (individuels)	Str + VFA MAA	EDMA EDMA	/	non communiqué	[44]
naphtalène	naphtalène	HEMA + ions d'argent	EDMA	acétonitrile	non communiqué	[45]
PHE	PHE	Str + MAA (nano particules magnétiques)	/	chloroforme	capteur luminescent	[46]
PY	Acide 1-pyrènebutyrique, PY, pyrèneméthanol, 1-aminopyrène, acide anthracène-9-carboxylique	Composite = polystyrène + particules de tétrabutoxide de titane		chloroforme	non communiqué	[31]
ANT	ANT	Polyuréthane = DIDM + <i>p,o,p'</i> -triiisocyanatodiphénylméthane + trihydroxybenzène		diméthylformamide	capteur optique	[47]
PY	PY N-(1-pyrényl)maléide	Poly(2-MBI) Polyrésorcinol		éthanol	non communiqué	[30]

Il apparaît que, pour le BaP, les monomères fonctionnels les plus utilisés sont la 4-vinylpyridine (4VP) et l'acide méthacrylique (MAA) ; les agents réticulants sont l'éthylène glycol diméthacrylate (EDMA) et le divinylbenzène (DVB) et le solvant porogène, l'acétonitrile. Les capacités d'adsorption varient entre 0,3 µg/g et 0,7 mg/g. Dans une étude comparative, J.P. Lai *et al.* ont montré que l'utilisation de la 4VP comme monomère fonctionnel associée au DVB comme agent réticulant augmentait la capacité d'adsorption ainsi que le facteur d'empreinte et la sélectivité par rapport à d'autres monomères et agents réticulants tels que le méthylméthacrylate (MMA), l'acide trifluorométhacrylique (TFMAA) et l'EDMA. Ils expliquent ceci par les interactions π - π qui peuvent s'établir entre ces monomères et le BaP [10].

3. Choix des paramètres de synthèse

Pour produire un polymère à empreintes moléculaires efficace pour une application visée, plusieurs facteurs doivent donc être pris en compte : le(s) monomère(s) fonctionnel(s), le(s) agent(s) réticulant(s), le solvant porogène et la technique de polymérisation qui vont influencer sur la taille et la morphologie du MIP.

3.1. Choix du monomère fonctionnel et de l'agent réticulant

a) Monomère fonctionnel

Compte-tenu des objectifs de ce travail, au moins un des monomères fonctionnels doit, en plus d'interactions possibles avec la cible, avoir des propriétés rédox dans le domaine d'électroactivité de l'eau. Le choix s'est porté sur le ferrocène car il est susceptible d'interagir avec la molécule cible, le BaP, grâce à des interactions de type π - π via ses deux cycles cyclopentadiényles aromatiques [48]. Il s'agit d'un composé organométallique pouvant être oxydé à un potentiel relativement bas pour donner l'ion ferrocénium ($E_{1/2}(\text{Ox}) = 0,33 \text{ V vs électrode au calomel saturé ECS}$) [49]. Le couple rédox ferrocène/ferrocénium est largement utilisé dans le domaine des (bio)capteurs [50–57] et notamment dans les capteurs de glucose. Toutefois, l'utilisation du ferrocène ou de ses dérivés dans les (bio)capteurs peut être limitée par le fait que ces composés sont de petites molécules susceptibles d'être relarguées dans le milieu, ce qui pourrait d'une part diminuer la performance des capteurs et d'autre part être problématique pour une utilisation *in vivo*. Ce problème peut être surmonté par le greffage de ces composés de façon covalente dans un polymère, d'où l'utilisation de son dérivé polymérisable, le vinylferrocène.

Le vinylferrocène (VFc) a donc été choisi dans ce travail car c'est un dérivé polymérisable simple du ferrocène. Le VFc est commercialisé par plusieurs fournisseurs tels que Sigma-Aldrich, TCT Europe, et Alfa-Aesar, au prix de 170 € par gramme environ (Sigma-Aldrich). Toutefois, il peut être synthétisé en deux étapes (Figure 3) à partir de l'acétylferrocène dont le coût est beaucoup plus accessible (8 € le gramme, Sigma-Aldrich). La synthèse du vinylferrocène à partir de ce dernier a donc

été réalisée pour diminuer le coût. Le produit de départ, l'acétylferrocène, est réduit, dans un premier temps en alcool, puis l'alcool déshydraté pour obtenir le composé vinylique [58]. Le VFc est obtenu avec un rendement de 40% à partir de l'acétylferrocène en accord avec la littérature.

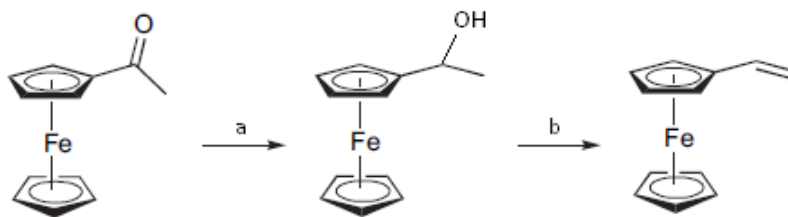


Figure 3. Schéma de synthèse du vinylferrocène : NaBH_4 , EtOH (a), CuSO_4 , hydroquinone, toluène (b) [58].

b) Agent réticulant

Diméthacrylate d'éthylène glycol (EDMA) figure parmi les agents réticulants les plus utilisés pour obtenir des microsphères de taille régulière par polymérisation par précipitation, pour des applications très variées [59–67]. Il est très utilisé également pour la synthèse de MIPs pour les HAPs. Il a été préféré comme agent réticulant au DVB car il ne possède aucun cycle aromatique susceptible de générer des interactions π - π avec le BaP et donc d'interférer avec l'action du ferrocène lors de l'étape de reconnaissance moléculaire.

3.2.Choix de la technique de polymérisation

Afin d'intégrer les MIPs dans un capteur électrochimique, le format de types particules sphériques monodisperses a été choisi avec une taille attendue de l'ordre sub- ou micrométrique. Ceci peut être réalisé par polymérisation en émulsion, en dispersion, en suspension, cœur-écorce, par impression de surface, et par polymérisation par précipitation.

La polymérisation en émulsion conduit normalement à des particules de latex de tailles uniformes inférieures à 1 μm de diamètre. Cette technique de polymérisation radicalaire dans un milieu hétérogène implique la création d'une émulsion à partir d'un ou plusieurs monomère(s) relativement hydrophobes dans un milieu aqueux, en utilisant un émulsifiant. La phase d'initiation de polymérisation est réalisée avec soit un initiateur soluble dans l'eau, tel que le persulfate de sodium, ou un initiateur soluble dans le milieu organique (au sein des micelles de monomère) tel que l'azobisisobutyronitrile (AIBN). Un surfactant efficace est employé dans le but d'éviter la coagulation entre les particules de latex [68].

La polymérisation en dispersion met en jeu un système initialement homogène dans lequel un monomère, un initiateur et un stabilisant polymère sont solubles dans une phase continue. Lorsque les chaînes de polymère croissent jusqu'à atteindre la limite de solubilité, elles précipitent sous forme de particules sphériques et continuent de grossir jusqu'à ce que tout le monomère soit consommé. Le stabilisant est présent dans le but d'éviter la coagulation des particules formées. Cette

technique produit des particules de taille entre 0,5 et 10 μm [69], elle est notamment employée pour produire des particules non poreuses et non réticulées [70].

La polymérisation par précipitation est similaire à la polymérisation en dispersion. Cependant, cette technique ne nécessite pas de stabilisant et est plus employée pour obtenir des particules hautement réticulées. La polymérisation par précipitation est réalisée avec un large excès de solvant. La taille et la forme des particules sont fortement dépendantes du ratio entre le monomère et le solvant et de l'agitation du milieu réactionnel. Cette technique permet d'obtenir des particules de taille allant de 0,1 à 10 μm [71]. Les premiers MIPs obtenus par cette technique ont été réalisés par L. Ye et *al.* en 1999 et étaient destinés à la théophylline et au 17 β -estradiol [72].

La polymérisation en suspension est un procédé dans lequel un ou plusieurs monomères et un initiateur de polymérisation insoluble(s) dans la phase continue sont dispersés sous forme de gouttelettes par un stabilisant sous vive agitation. Ces gouttelettes jouent le rôle de micro-réacteurs dans lesquels se forment des particules de polymère. Plusieurs types de phase discontinue/continue peuvent être envisagées mais la phase continue la plus utilisée est une phase aqueuse [73]. Un autre solvant peut être rajouté dans la phase dispersée afin de générer de la porosité. Il s'agit d'un « porogène ». La polymérisation en suspension donne des particules plus grandes que celles obtenues par la précipitation, l'émulsion et la dispersion, entre 10 μm et 5 mm, et une plus large distribution de la taille des particules, bien que celle-ci puisse être contrôlée notamment en optimisant les conditions de polymérisation [74].

D'autres techniques peuvent conduire à des particules sphériques : la polymérisation multi-étapes (two- et multi-step swelling), la polymérisation cœur-écorce (core-shell) ou encore l'impression de surface. Ces méthodes consistent à générer une fine couche de polymère à empreintes sur un matériau préformé. La taille finale des particules obtenues est donc, en général, fortement dépendante de la taille des particules initiales.

Plusieurs critères doivent être pris en compte dans le but d'obtenir un MIP par une de ses techniques. Ces critères comprennent par exemple la taille des particules, la porosité, le taux de réticulation. Ces critères vont déterminer les paramètres de polymérisation à optimiser. Dans le cas où l'interaction entre la cible et le monomère fonctionnel est la liaison hydrogène, l'utilisation d'un milieu aqueux doit être évitée car la présence de l'eau va influencer sur cette interaction. Le tableau 3 résume les principaux avantages et inconvénients de ces différentes techniques [75].

Tableau 3. Avantages et inconvénients des techniques de polymérisation pour obtention de MIPs sous forme sphérique régulière [75].

Technique	Avantages	Inconvénients
Dispersion	<ul style="list-style-type: none"> - Formation d'agrégats (formation de particules monodisperses possible en présence d'un stabilisant) - Technique simple à mettre en œuvre 	<ul style="list-style-type: none"> - La présence d'un stabilisant pourrait impacter l'interaction cible-monomère fonctionnel - Encore peu étudiée et utilisée pour la synthèse de MIPs
Suspension	<ul style="list-style-type: none"> - Technique très étudiée dans la littérature - Echelle industrielle possible 	<ul style="list-style-type: none"> - La présence d'eau est défavorable pour l'approche non-covalente mettant en jeu l'interaction hydrophile - La présence des différentes phases compliquent le système
Multi-step swelling (émulsion)	<ul style="list-style-type: none"> - Taille monodisperse - Adaptée pour l'application chromatographie - Technique bien établie 	<ul style="list-style-type: none"> - Encore peu étudiée et utilisée pour la synthèse de MIPs
Impression en surface	<ul style="list-style-type: none"> - Taille monodisperse - A tous les avantages de l'impression en surface (ex. cinétique rapide) - Possibilité d'utiliser des particules préformées ayant des propriétés intrinsèques spécifiques (par exemple, la magnétite) 	<ul style="list-style-type: none"> - Nécessite un matériau préformé
Précipitation	<ul style="list-style-type: none"> - Simple à mettre en œuvre après optimisation des conditions opératoires - Récupération aisée des particules sans phases de lavage liées à la présence de surfactants - Technique souple et adaptée à différentes tailles de colonne 	<ul style="list-style-type: none"> - Formation d'agrégats possible - Utilisation d'une quantité importante de solvant

La polymérisation par précipitation présente l'avantage de conduire à des sphères monodisperses de tailles micro- ou sub-micrométriques (Figure 4), libres de tout tensioactif ou stabilisant. Selon la nature de l'agent réticulant, du monomère fonctionnel, du porogène et des conditions expérimentales, elle permet d'obtenir un matériau hautement réticulé avec un diamètre et une porosité modulables [76]. Pour toutes ces raisons, cette technique a été choisie pour l'obtention

de microparticules de MIPs destinées à être incorporés dans une matrice électroconductrice permettant la validation du concept proposé.

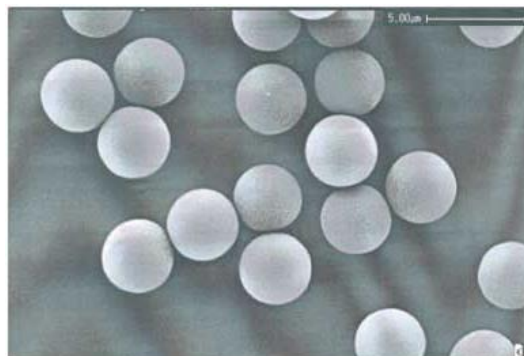


Figure 4. Exemple de MIP synthétisé par polymérisation par précipitation [76].

Le milieu réactionnel utilisé pour la polymérisation par précipitation est initialement une solution homogène de molécule empreinte, monomère(s), agent réticulant, et initiateur dans un solvant favorisant la précipitation des chaînes de polymère. Au début de la réaction, des oligomères et des chaînes plus longues appelées « nuclei » sont formées. Tandis que les oligomères sont toujours solubles dans le milieu, les nuclei commencent à précipiter et à former un mélange hétérogène. Les noyaux gonflent dans le solvant porogène. Même si aucun stabilisant n'est utilisé, les particules précipitées sont stabilisées par une couche d'oligomères. La quantité de solvant utilisée est très importante pour empêcher les particules de coalescer [70]. Bien que figurant comme le solvant le plus utilisé pour cette technique de polymérisation, l'acétonitrile ne permet pas toujours d'obtenir un matériau avec une surface spécifique élevée. Beaucoup d'auteurs mettent en évidence la formation de pores en utilisant un solvant porogène tel que le toluène ou le dodécanol [77–79].

4. Etude préliminaire de polymérisation par précipitation

Le BaP étant peu soluble dans l'acétonitrile, un co-solvant doit être ajouté à l'acétonitrile pour augmenter la solubilité du BaP dans le milieu. Le toluène semble être le meilleur candidat car il solubilise bien le BaP et ne le dégrade pas contrairement à certains solvant chlorés [80]. Il est très utilisé également comme solvant porogène dans le but d'améliorer la porosité des particules [81].

Plusieurs essais ont été effectués en polymérisation par précipitation dans le but d'optimiser le protocole permettant d'obtenir des particules micrométriques et homogènes. Dans un premier temps, différentes conditions de copolymérisation du vinylferrocène (VFc) et de l'EDMA, en absence de BaP, ont été étudiées par polymérisation par précipitation avec et sans toluène comme co-solvant (Tableau 4).

Tableau 4. Etude de copolymérisation du VFc et de l'EDMA en absence de BaP (ACN = acétonitrile, TOL = toluène).

VFc (mol éq.)	EDMA (mol éq.)	Solvant, %v/v		Température, °C	Durée	Rendement, %	Précipités	Aspect
		ACN	TOL					
1	5	100	0	80	22h	39	oui	Poudre jaune
1	5	95	5	80	48h	Pas de précipités mais solution brune foncée		
1	5	90	10	80	48h	Pas de précipités mais solution brune foncée		

Le copolymère préparé en présence d'acétonitrile seul est obtenu sous forme de microsphères assez homogènes (Figure 5) avec un diamètre moyen de $2,2 \pm 0,1 \mu\text{m}$. Le coefficient de variation (CV) caractéristique de la polydispersité de l'échantillon est calculé à partir du diamètre moyen des particules (D_n) et de l'écart type sur ce diamètre : $CV, \% = D_n \cdot 100 / \sigma$, D_n étant déterminé à partir de 100 particules à l'aide du logiciel SmarTiff. L'échantillon de Poly VFc-EDMA obtenu dans l'acétonitrile présente un CV assez faible de 11%. Toutefois, cette voie de polymérisation ne permet pas d'obtenir de résultats reproductibles en termes de taille des particules. Par ailleurs, le temps de synthèse est long, de l'ordre de 22 à 48 heures et la présence de toluène empêche la précipitation des particules dans ces conditions. Pour surmonter ces problèmes, la polymérisation par précipitation par distillation a ensuite été étudiée.

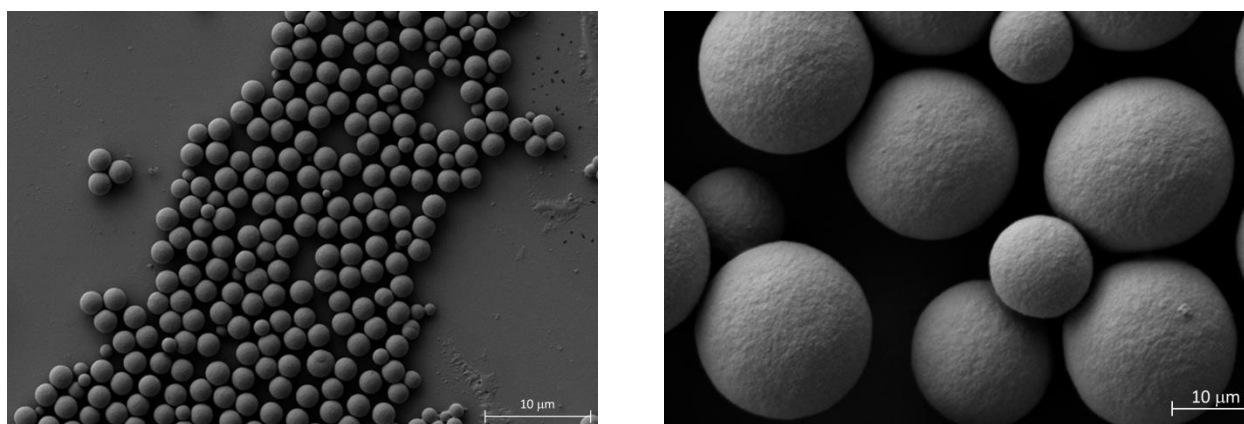


Figure 5. Clichés MEB du Poly VFc-EDMA obtenu avec l'acétonitrile pur.

5. Polymérisation par précipitation par distillation

La polymérisation par précipitation par distillation (DPP : Distillation Precipitation Polymerization) est une technique permettant d'obtenir des microsphères de polymères hautement réticulés dans le but d'optimiser la taille, la morphologie et le temps de synthèse [82]. Le principe reste identique à celui de la polymérisation par précipitation classique décrite précédemment mais

une partie du solvant est extraite du milieu réactionnel par distillation. Cette étape amorce la précipitation des particules de polymère.

5.1. Etude préliminaire de condition de synthèse

La synthèse par polymérisation par précipitation par distillation a été effectuée selon un mode opératoire décrit dans la littérature [83]. Les différents monomères ainsi que l'amorceur (AIBN) et le solvant, ou mélange de solvants, sont introduits dans un ballon surmonté par un appareil de Dean-Stark. Le milieu réactionnel est chauffé à 80°C. A ce stade, la nucléation des chaînes polymères est amorcée. Puis la température est élevée à 110°C pour évaporer la moitié du solvant et ainsi permettre aux particules de polymère de précipiter. Ces conditions permettent d'obtenir des particules de polymères au bout de 3 heures environ (Partie expérimentale).

➤ Synthèse des polymères non imprimés :

Les polymères non-imprimés (NIP) sont synthétisés en absence de BaP. Les résultats sont résumés dans le tableau 5 et les clichés MEB sont présentés par les figures 6 et 7.

Tableau 5. Conditions et résultats de polymérisation par précipitation par distillation de polymères non-imprimés (NIPs) (VFc/EDMA 1/5 mol).

Polymère	Solvant, %v/v		Rendement %	Dn μm	CV	Figure
	ACN	TOL				
NIP1	100	0	63	0,5 ± 0,1	7%	6(a)
NIP2	95	5	58	1,0 ± 0,1	7%	6(b)
NIP3	90	10	40	1,4 ± 0,1	6%	6(c)
NIP4	85	15	40	0,9 ± 0,1	7%	7(d)
NIP5	80	20	39	1,7 ± 0,7	>10%	7(e)
NIP6	70	30	37	1,8 ± 0,8	>10%	7(f)

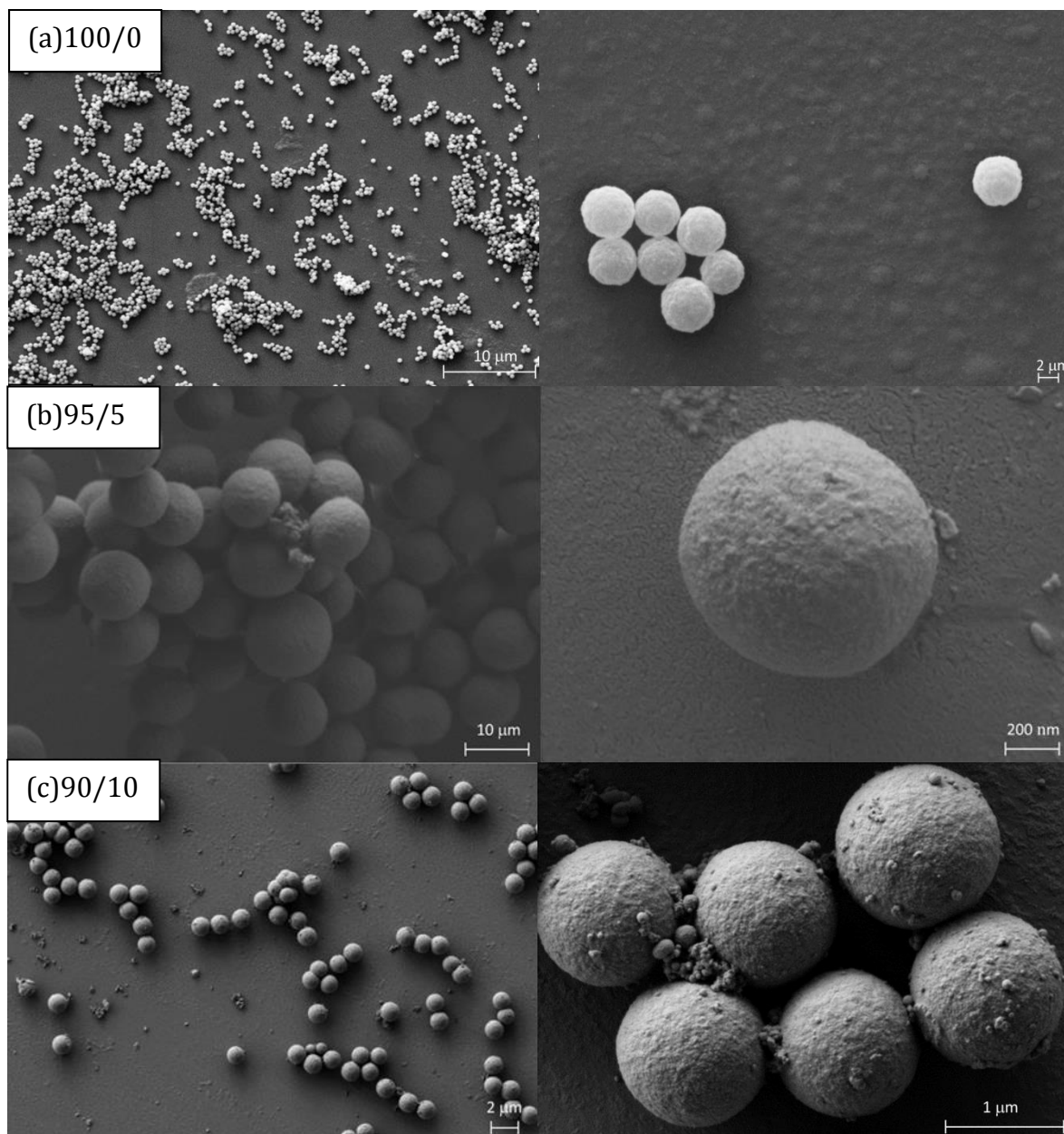


Figure 6. Clichés MEB des Poly VFc-EDMA non imprimés (NIP) synthétisés avec différentes proportions ACN/TOL %v/v: (a) 100/0, (b) 95/5, et (c) 90/10.

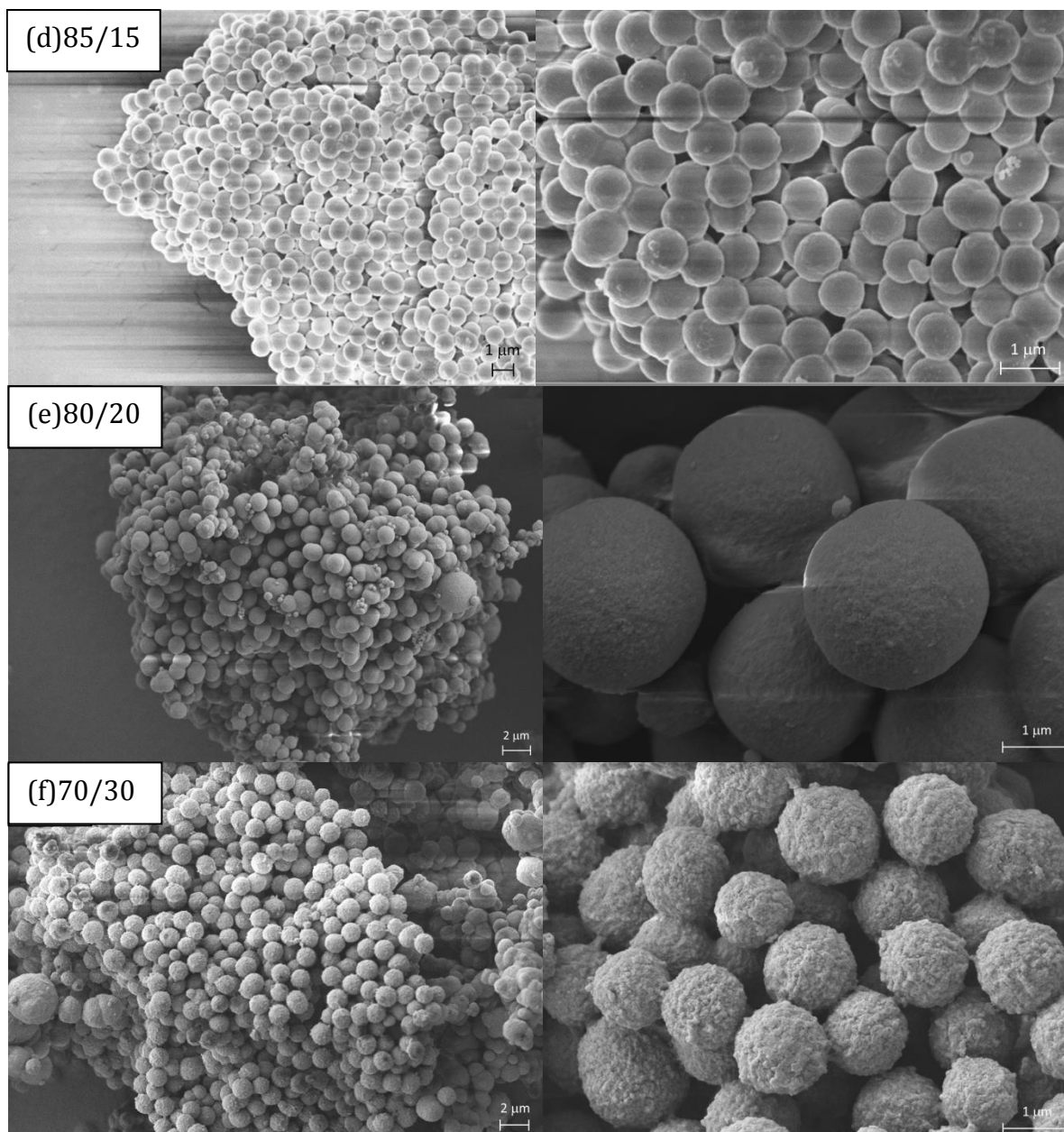


Figure 7. Clichés MEB des Poly VFc-EDMA non imprimés (NIP) synthétisés avec différentes proportions ACN/TOL %v/v: (d) 85/15, (e) 80/20, et (f) 70/30.

D'après ces résultats, l'augmentation de la quantité de toluène dans le milieu provoque l'augmentation de la taille des particules obtenues sauf pour le NIP4. Cette augmentation s'accompagne, par ailleurs, d'une hausse de la polydispersité et d'une diminution du rendement massique qui peut s'expliquer par la solubilité des particules de polymère dans le toluène ce qui augmente la partie soluble au détriment de la partie précipitée.

➤ Synthèse des polymères imprimés :

Les polymères imprimés (MIPs) ont été synthétisés en présence de BaP. Le lavage des MIPs a été effectué par plusieurs rinçages successifs à l'aide d'un mélange toluène/acétonitrile (50/50) jusqu'à ce que le surnageant contienne moins de 99,5% de BaP par rapport à la quantité introduite lors de la synthèse (détermination par HPLC-UV, procédure détaillée dans la partie expérimentale). Le paramètre étudié est le rapport volumique entre le toluène et l'acétonitrile dans le solvant de polymérisation. Les résultats sont résumés dans le tableau 6 et les clichés MEB (Figures 8 et 9).

Tableau 6. Conditions et résultats de polymérisation par précipitation par distillation de polymères imprimés (MIP) (rapport molaire : BaP/VFc/EDMA 1/5/25).

Polymère	Solvant, %v/v		Rendement %	Dn μm	CV	Figure
	ACN	TOL				
MIP1	100	0	37	1,3 ± 0,3	>10%	8(a)
MIP2	95	5	18	0,9 ± 0,4	>10%	8(b)
MIP3	90	10	24	1,3 ± 0,5	>10%	9(c)
MIP4	85	15	19	0,3 ± 0,1	>10%	9(d)
MIP5	80	20	47	2,4 ± 0,6	>10%	9(e)
MIP6	70	30	33	1,5 ± 0,4	>10%	9(f)

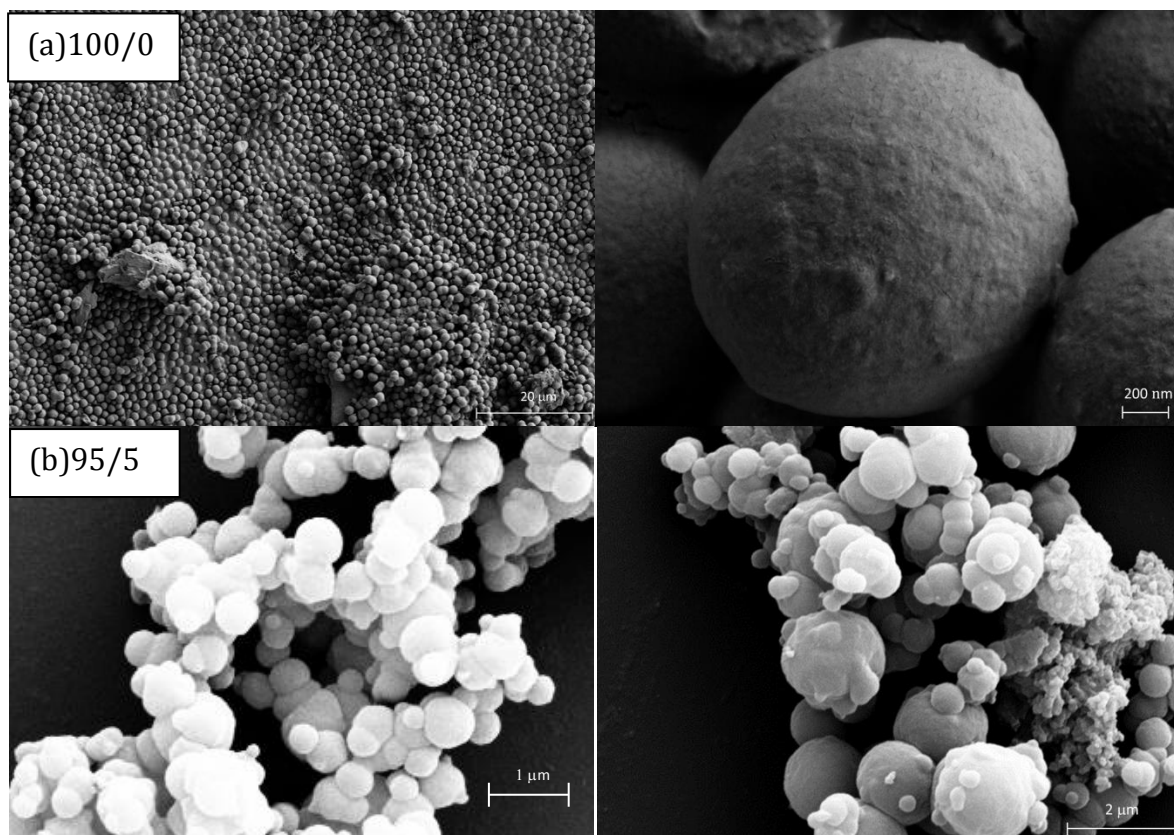


Figure 8. Clichés MEB des Poly VFc -EDMA imprimés (MIPs) synthétisés avec différentes proportions ACN/TOL : (a) 100/0, (b) 95/5.

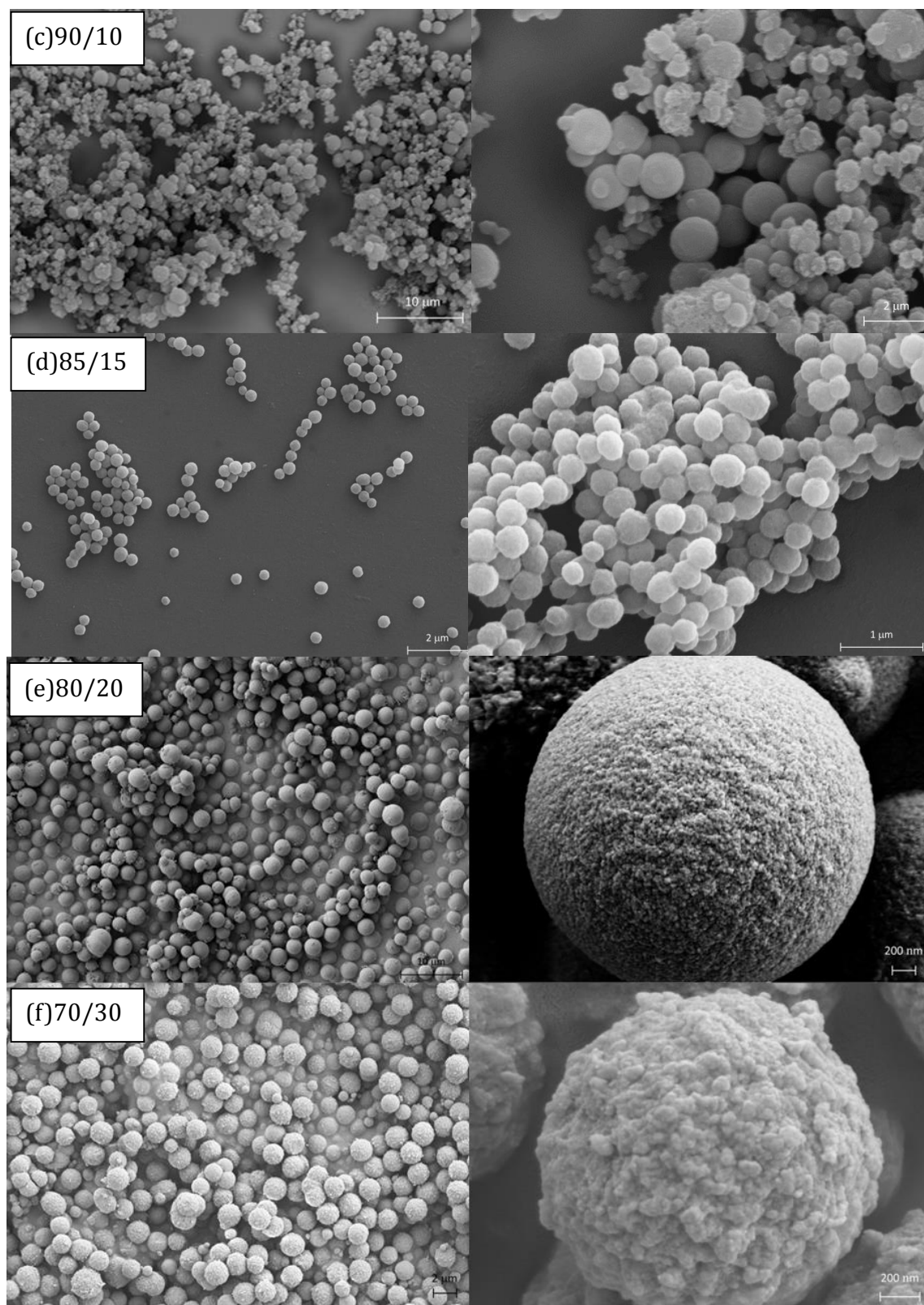


Figure 9. Clichés MEB des Poly VFc-EDMA imprimés (MIPs) synthétisés avec différentes proportions ACN/TOL : (c) 90/10, (d) 85/15, (e) 80/20 et (f) 70/30, %v/v.

L'ajout du BaP dans le milieu de polymérisation a une influence sur la morphologie des particules et le rendement. Les particules de MIPs présentent une dispersité de taille plus importante que dans le cas des NIPs avec des rendements inférieurs. Les particules de MIPs 5 et 6 sont de taille micrométrique avec un bon rendement. Ce sont ces deux MIPs qui ont fait l'objet d'une caractérisation complète.

5.2. Caractérisation par spectroscopie IRTF et analyse élémentaire

L'analyse des spectres IRTF (Figures 10 et 11) d'un homopolymère d'EDMA (obtenu dans des conditions de synthèse identiques à celles des MIPs et NIPs avec l'acétonitrile comme solvant porogène), du ferrocène, des différents MIPs et de leurs analogues NIPs a été réalisée pour valider l'incorporation des deux monomères VFc et EDMA dans les copolymères. Celle de l'EDMA est mise en évidence par la présence de bandes caractéristiques à 958 cm^{-1} (élongation C-H), 1727 cm^{-1} (élongation C=O), 1455 cm^{-1} (déformation dans le plan CH_2) et 1157 cm^{-1} (élongation C-O). Parmi les bandes caractéristiques du ferrocène (3090 cm^{-1} (élongation C-H), 1000 cm^{-1} (déformation dans le plan C-H), 730 cm^{-1} (déformation hors du plan C-H), 500 cm^{-1} (élongation C-Fe)), seules celles à 3090 et 1000 cm^{-1} ne se superposent pas aux bandes de l'homopolymère d'EDMA et sont observables sous forme d'épaulement. Même si elle permet de mettre en évidence l'incorporation des monomères et, en particulier du VFc, l'analyse IRTF ne suffit cependant pas pour caractériser correctement ces polymères car elle ne permet pas d'évaluer le taux d'incorporation du vinylferrocène.

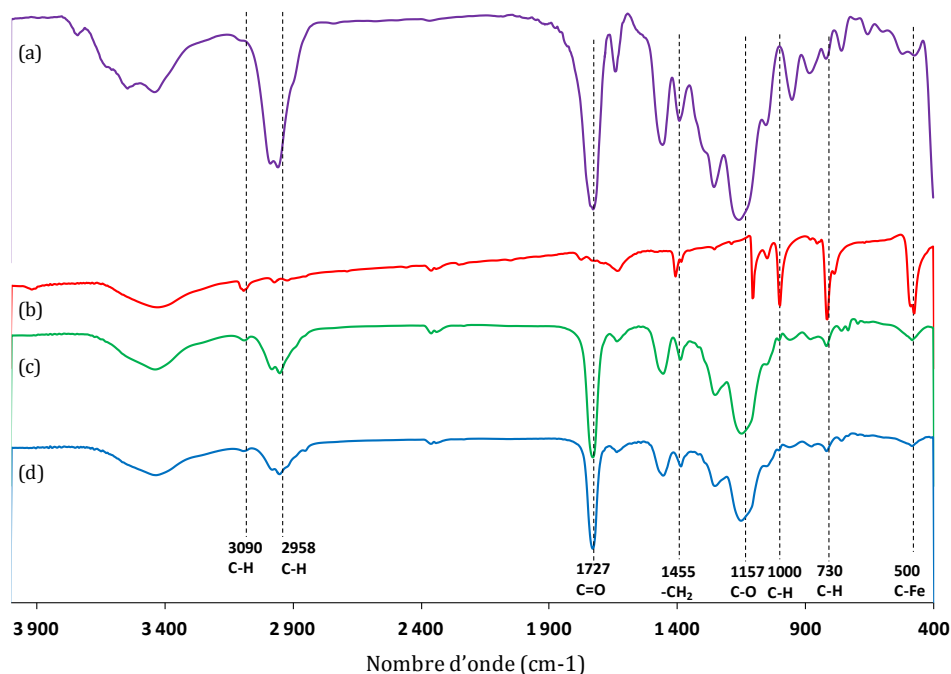


Figure 10. Superposition des spectres IRTF (en mode transmission) de l'homopolymère d'EDMA (a), ferrocène (b), MIP5 (c), et NIP5 (d).

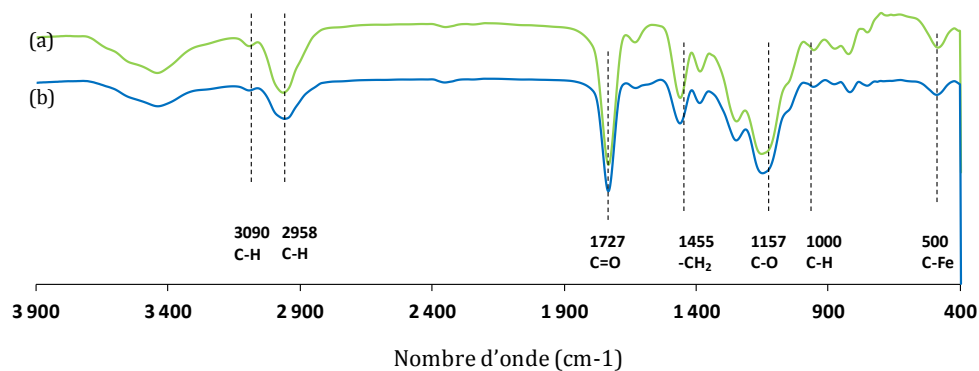


Figure 11. Superposition des spectres IRTF (en mode transmission) de l'homopolymère d'EDMA (a), du ferrocène (b), du MIP6 (c) et du NIP6 (d).

Dans ce contexte, l'analyse élémentaire (effectuée par le Service Central d'Analyse, Laboratoire du CNRS de Solaize USR-59/CNRS) a permis de confirmer la présence des deux monomères dans les copolymères et de calculer leur taux d'incorporation (Tableau 7) :

Tableau 7. Fractions massiques des différents éléments et fraction molaire des monomères déterminées par analyse élémentaire et par calcul théorique.

Polymère	C (%w/w)	Fe (%w/w)	H (%w/w)	α_{VFC} (% mol)	α_{EDMA} (% mol)
MIP5	62,6	4,5	7,0	16	84
NIP5	62,1	5,5	6,8	20	80
MIP6	62,4	5,1	7,1	18	82
NIP6	62,4	5,1	7,1	18	82
<i>Théorique</i> ¹	<u>61,5</u>	<u>4,4</u>	<u>7,3</u>	<u>16</u>	<u>84</u>

Les pourcentages massiques expérimentaux déterminés par analyse élémentaire sont en accord avec les valeurs théoriques calculées à partir des quantités introduites. De plus, la détermination de la composition des copolymères montre que les monomères sont incorporés dans les polymères avec les quantités désirées.

5.3. Propriétés texturales par adsorption-désorption de diazote (BET)

Afin d'étudier l'influence du solvant porogène et de la présence de la molécule cible sur les propriétés texturales des différents polymères, des mesures d'adsorption/désorption du diazote ont été réalisées par le Laboratoire des Technologies de Séparation de l'Université de Lappeenranta en Finlande. Ces mesures ont permis d'évaluer pour chaque support la surface spécifique et le volume poreux. La figure 12 présente les isothermes d'adsorption et désorption du diazote pour le MIP5 et les différents NIPs. Malheureusement, les mesures n'ont pas pu être menées sur MIP6 en raison d'une quantité restante insuffisante de ce polymère.

¹Les valeurs théoriques sont déterminées à partir des quantités initialement introduites.

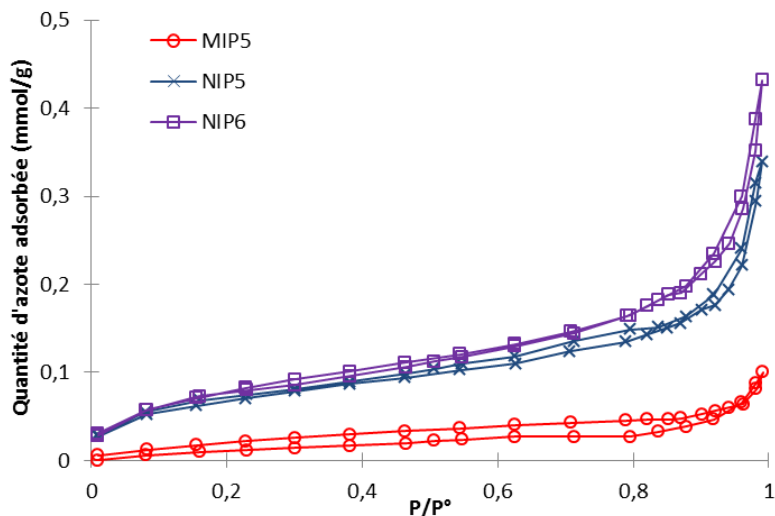


Figure 12. Isothermes d'adsorption/désorption du diazote pour les polymères MIP5, NIP5 et NIP6.

A partir de la classification donnée par l'IUPAC (Annexe 1) [84], il est possible d'obtenir des informations sur les caractéristiques du support analysé :

- la forme de l'isotherme d'adsorption dépend de la distribution poreuse et des interactions entre le gaz et le matériau solide,
- la présence d'une hystérésis indique l'existence d'une porosité et sa forme apporte des indications sur l'organisation du réseau poreux.

Les différents isothermes peuvent être assimilés à des isothermes de type II, caractéristiques de matériaux non mésoporeux (Annexe 1). Par ailleurs, pour des matériaux macroporeux et mésoporeux, la méthode BJH (Barrett Joyner Halenda) est employée pour déterminer une distribution de taille de pores [85]. Les surfaces spécifiques sont calculées à partir de la méthode BET (Brunauer Emmett Teller) [86] ainsi que de la méthode « t » [87] (Tableau 8).

 Tableau 8. Résultats des mesures de surface spécifique et du volume poreux par adsorption et désorption de diazote (S_{BET}), et valeurs de surface spécifique calculées à partir de D_n ($S_{calc.}$).

Polymère	D_n (MEB), μm	$S_{calc.}$, m^2/g	S_{BET} , m^2/g	V_p , cm^3/g
MIP5	2,4+0,6	2,5±0,5	1,9	0,003
NIP5	1,7+0,7	3,5±1,4	5,5	0,01
MIP6	1,5+0,4	4,0±1,1	Non mesuré	Non mesuré
NIP6	1,8+0,8	3,3±1,5	6,5	0,013

En accord avec la forme des isothermes, les valeurs de surface spécifique déterminées expérimentalement sont faibles. Il est intéressant de les comparer avec la surface spécifique calculée pour des particules sphériques (non poreuses) à partir de la formule suivante :

$$S = 6/(\rho \cdot D_n)$$

Avec ρ la densité du matériau (prise arbitrairement comme égale à 1 g/cm^3) et D_n le diamètre moyen des particules déterminé précédemment au MEB. Les valeurs de surfaces spécifiques mesurées (S_{BET}) et calculées (S_{calc}) sont assez proches. Ceci confirme que les copolymères sont non mésoporeux et que leur surface spécifique est liée à leur faible taille. Cela n'exclut toutefois pas la présence de macropores, dont la mise en évidence nécessiterait de faire des mesures de porosité par intrusion de mercure.

5.4. Stabilité thermique

Les analyses thermogravimétriques des MIP5 et du MIP6 après lavage avec leur NIP correspondants ont été réalisées sous azote et à vitesse de chauffage constante ($20^\circ\text{C}/\text{min}$) (Figure 13).

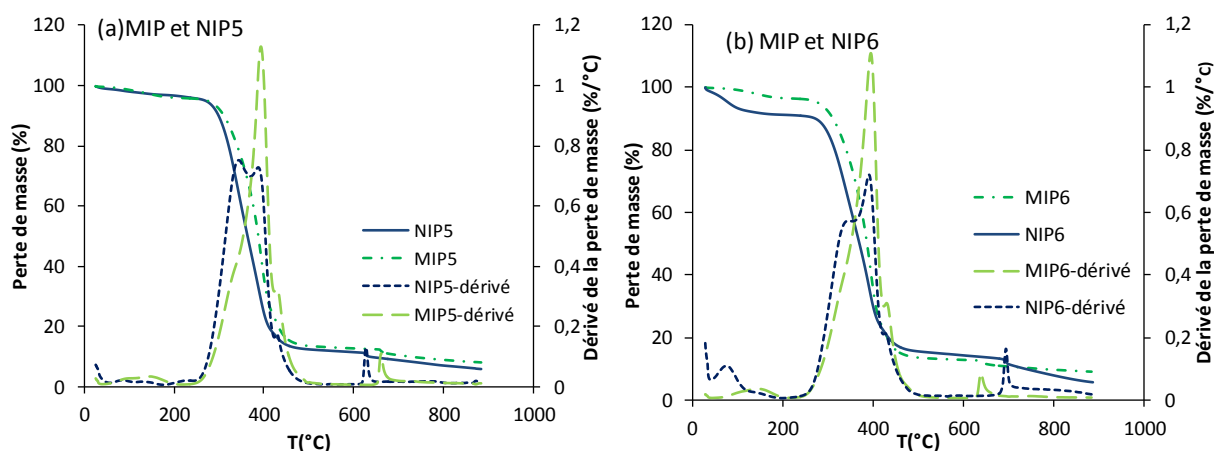


Figure 13. Superposition des thermogrammes des MIP après lavage et de leur NIP correspondants sous azote ($20^\circ\text{C}/\text{min}$).

D'après les thermogrammes obtenus, un comportement thermique identique des polymères est constaté. Ils présentent une importante perte de masse à partir de 270°C ce qui révèle une très bonne résistance thermique. Cette information est importante notamment pour la mise en forme de capteur pour laquelle un traitement thermique est nécessaire.

6. Conclusion

Des polymères à empreintes moléculaires du benzo(a)pyrène ont été préparés avec succès par polymérisation par précipitation par distillation. Cette technique a permis d'obtenir des particules sphériques de taille micrométrique (de 1,5 à 2,4 μm) en un temps relativement court, d'environ trois heures. L'analyse élémentaire confirme la présence des motifs ferrocène et EDMA dans des proportions proches de celles introduites initialement. L'analyse texturale par adsorption et désorption du diazote révèle qu'ils ne présentent pas de micro ou mésoporosité. Enfin, ces polymères sont capables de résister à des températures jusqu'à environ 270°C. Les propriétés de rétention de ces copolymères ainsi que leurs propriétés électrochimiques sont décrites dans le chapitre suivant.

7. Références

- [1] Ravindra, K.; Sokhi, R.; Van Grieken, R. Atmospheric Polycyclic Aromatic Hydrocarbons: Source Attribution, Emission Factors and Regulation. *Atmos. Environ.*, **2008**, *42*, 2895–2921.
- [2] Lee, B.-K. Sources, Distribution and Toxicity of Polyaromatic Hydrocarbons (PAHs) in Particulate Matter. In *Air Pollution*; Villanyi, V., Ed.; Sciyo, **2010**.
- [3] Nagpal, N.K. Ambient Water Quality Criteria For Polycyclic Aromatic Hydrocarbons (PAHs), **1993**.
- [4] ATSDR (Agency for Toxic Substances and Disease Registry). Toxicological Profile for Polycyclic Aromatic Hydrocarbons (PAHs).
- [5] US EPA. Toxicity and Exposure Assessment for Children's Health: Benzo(a)pyrene (BaP) <http://www.epa.gov/teach/>.
- [6] INERIS - Fiche de Données Toxicologiques et Environnementales Des Substances Chimiques- Benzo(a)pyrène (INERIS –DRC-01-25590-00DF252.doc Version No°2-3-Juillet 2006).
- [7] US EPA. Drinking Water Contaminants EPA 816-F-09-0004, May 2009 <http://water.epa.gov/drink/contaminants/index.cfm> (accessed Jul 25, 2014).
- [8] Pandey, S.K.; Kim, K.-H.; Brown, R.J.C. A Review of Techniques for the Determination of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons in Air. *TrAC Trends Anal. Chem.*, **2011**, *30*, 1716–1739.
- [9] Wolska, L.; Rawa-Adkonis, M.; Namieśnik, J. Determining PAHs and PCBs in Aqueous Samples: Finding and Evaluating Sources of Error. *Anal. Bioanal. Chem.*, **2005**, *382*, 1389–1397.
- [10] Lai, J.P.; Niessner, R.; Knopp, D. Benzo [a] Pyrene Imprinted Polymers: Synthesis, Characterization and SPE Application in Water and Coffee Samples. *Anal. Chim. Acta*, **2004**, *522*, 137–144.
- [11] Dickert, F.L.; Besenböck, H.; Tortschanoff, M. Molecular Imprinting Through van Der Waals Interactions: Fluorescence Detection of PAHs in Water. *Adv. Mater.*, **1998**, *10*, 149–151.
- [12] Dickert, F.L.; Hayden, O. Imprinting with Sensor Development – On the Way to Synthetic Antibodies. *Fresenius J. Anal. Chem.*, **1999**, *364*, 506–511.
- [13] Dickert, F.L.; Forth, P.; Lieberzeit, P.; Tortschanoff, M. Molecular Imprinting in Chemical Sensing – Detection of Aromatic and Halogenated Hydrocarbons as Well as Polar Solvent Vapors. *Fresenius J. Anal. Chem.*, **1998**, *360*, 759–762.
- [14] Dickert, F.L.; Tortschanoff, M.; Bulst, W.E.; Fischerauer, G. Molecularly Imprinted Sensor Layers for the Detection of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons in Water. *Anal. Chem.*, **1999**, *71*, 4559–4563.

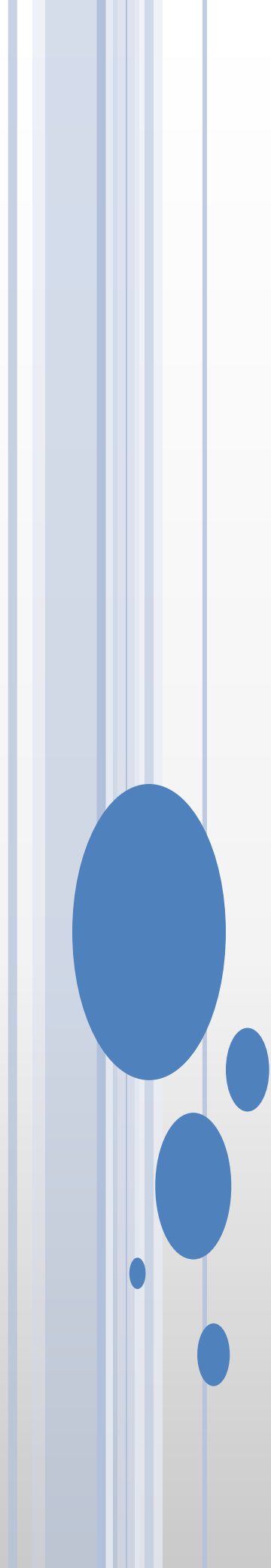
- [15] Dickert, F.L.; Lieberzeit, P.; Tortschanoff, M. Molecular Imprints as Artificial Antibodies — a New Generation of Chemical Sensors. *Sens. Actuators B Chem.*, **2000**, *65*, 186–189.
- [16] Lieberzeit, P.A.; Halikias, K.; Afzal, A.; Dickert, F.L. Polymers Imprinted with PAH Mixtures—comparing Fluorescence and QCM Sensors. *Anal. Bioanal. Chem.*, **2008**, *392*, 1405–1410.
- [17] Pschenitzka, M.; Hackenberg, R.; Niessner, R.; Knopp, D. Analysis of Benzo[a]pyrene in Vegetable Oils Using Molecularly Imprinted Solid Phase Extraction (MISPE) Coupled with Enzyme-Linked Immunosorbent Assay (ELISA). *Sensors*, **2014**, *14*, 9720–9737.
- [18] Krupadam, R.; Patel, G.; Balasubramanian, R. Removal of Cyanotoxins from Surface Water Resources Using Reusable Molecularly Imprinted Polymer Adsorbents. *Environ. Sci. Pollut. Res.*, **2012**, *19*, 1841–1851.
- [19] Baltrons, O.; López-Mesas, M.; Palet, C.; Derf, F.L.; Portet-Koltalo, F. Molecularly Imprinted Polymer-Liquid Chromatography/fluorescence for the Selective Clean-up of Hydroxylated Polycyclic Aromatic Hydrocarbons in Soils. *Anal. Methods*, **2013**, *5*, 6297–6305.
- [20] Krupadam, R.J.; Bhagat, B.; Wate, S.R.; Bodhe, G.L.; Sellergren, B.; Anjaneyulu, Y. Fluorescence Spectrophotometer Analysis of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons in Environmental Samples Based on Solid Phase Extraction Using Molecularly Imprinted Polymer. *Environ. Sci. Technol.*, **2009**, *43*, 2871–2877.
- [21] Dickert, F.L.; Besenböck, H.; Tortschanoff, M. Molecular Imprinting Through van Der Waals Interactions: Fluorescence Detection of PAHs in Water. *Adv. Mater.*, **1998**, *10*, 149–151.
- [22] Dickert, F.L.; Achatz, P.; Halikias, K. Double Molecular Imprinting – a New Sensor Concept for Improving Selectivity in the Detection of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons (PAHs) in Water. *Fresenius J. Anal. Chem.*, **2001**, *371*, 11–15.
- [23] Krupadam, R.J. An Efficient Fluorescent Polymer Sensing Material for Detection of Traces of Benzo[a]pyrene in Environmental Samples. *Environ. Chem. Lett.*, **2010**, *9*, 389–395.
- [24] Krupadam, R.J.; Nesterov, E.E.; Spivak, D.A. Highly Selective Detection of Oil Spill Polycyclic Aromatic Hydrocarbons Using Molecularly Imprinted Polymers for Marine Ecosystems. *J. Hazard. Mater.*
- [25] Dickert, F.L.; Halikias, K.; Hayden, O.; Piu, L.; Sikorski, R. Sensors Based on Fingerprints of Neutral and Ionic Analytes in Polymeric Materials. *Sens. Actuators B Chem.*, **2001**, *76*, 295–298.
- [26] Kirsch, N.; Hart, J.P.; Bird, D.J.; Luxton, R.W.; McCalley, D.V. Towards the Development of Molecularly Imprinted Polymer Based Screen-Printed Sensors for Metabolites of PAHs. *Analyst*, **2001**, *126*, 1936–1941.
- [27] Kirsch, N.; Honeychurch, K.C.; Hart, J.P.; Whitcombe, M.J. Voltammetric Determination of Urinary 1-Hydroxypyrene Using Molecularly Imprinted Polymer-Modified Screen-Printed Carbon Electrodes. *Electroanalysis*, **2005**, *17*, 571–578.
- [28] Ho, W.L.; Lin, T.C.; Liu, Y.Y.; Chen, J.A. Analysis of Smoke PAHs from Selected Taiwanese Cigarettes by Using Molecular Imprinting Polymers. *J. Environ. Sci. Health Part A*, **2010**, *45*, 211–223.
- [29] Dickert, F.L.; Hayden, O.; Halikias, K.P. Synthetic Receptors as Sensor Coatings for Molecules and Living Cells. *Analyst*, **2001**, *126*, 766–771.
- [30] Luo, N.; Hatchett, D.W.; Rogers, K.R. Recognition of Pyrene Using Molecularly Imprinted Electrochemically Deposited Poly(2-Mercaptobenzimidazole) or Poly(resorcinol) on Gold Electrodes. *Electroanalysis*, **2007**, *19*, 2117–2124.
- [31] Selyanchyn, R.; Lee, S.-W. Molecularly Imprinted Polystyrene–titania Hybrids with Both Ionic and Π - π Interactions: A Case Study with Pyrenebutyric Acid. *Microchim. Acta*, **2013**, *180*, 1443–1452.
- [32] Krupadam, R.; Bhagat, B.; Khan, M. Highly Sensitive Determination of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons in Ambient Air Dust by Gas Chromatography-Mass Spectrometry after Molecularly Imprinted Polymer Extraction. *Anal. Bioanal. Chem.*, **2010**, *397*, 3097–3106.

- [33] Krupadam, R.J.; Khan, M.S.; Wate, S.R. Removal of Probable Human Carcinogenic Polycyclic Aromatic Hydrocarbons from Contaminated Water Using Molecularly Imprinted Polymer. *Water Res.*, **2010**, *44*, 681–688.
- [34] Krupadam, R.J.; Bhagat, B.; Khan, M.S.; Wate, P.S. Molecularly Imprinted Nanoporous Polyacrylate Surface for Benzo(α)Pyrene Recognition. *J. Nanosci. Nanotechnol.*, **2009**, *9*, 5441–5447.
- [35] Krupadam, R.J.; Ahuja, R.; Wate, S.R. Benzo(α)pyrene Imprinted Polyacrylate Nanosurfaces: Adsorption and Binding Characteristics. *Sens. Actuators B Chem.*, **2007**, *124*, 444–451.
- [36] Muntazir S. Khan; Prateek S.Wate. Combinatorial Screening of Polymer Precursors for Preparation of Benzo[α] Pyrene Imprinted Polymer: An Ab Initio Computational Approach - Springer. *J. Mol. Model.*, *18*, 1969–1981.
- [37] Ho, W.-L.; Liu, Y.-Y.; Lin, T.-C. Development of Molecular Imprinted Polymer for Selective Adsorption of Benz[a]pyrene Among Airborne Polycyclic Aromatic Hydrocarbon Compounds. *Environ. Eng. Sci.*, **2011**, *28*, 421–434.
- [38] Baggiani, C.; Anfossi, L.; Baravalle, P.; Giovannoli, C.; Giraudi, G. Molecular Recognition of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons by Pyrene-Imprinted Microspheres. *Anal. Bioanal. Chem.*, **2007**, *389*, 413–422.
- [39] Dickert, F.L.; Lieberzeit, P.A.; Hayden, O.; Gazda-Miarecka, S.; Halikias, K.; Mann, K.J.; Palfinger, C. Chemical Sensors – from Molecules, Complex Mixtures to Cells – Supramolecular Imprinting Strategies. *Sensors*, **2003**, *3*, 381–392.
- [40] Dickert, F.L.; Lieberzeit, P.; Gazda-Miarecka, S.; Halikias, K.; Mann, K.-J. Modifying Polymers by Self-Organisation for the Mass-Sensitive Detection of Environmental and Biogeneous Analytes. *Sens. Actuators B Chem.*, **2004**, *100*, 112–116.
- [41] Hosoya, K.; Iwakoshi, Y.; Yoshizako, K.; Kimata, K.; Tanaka, N.; Takehira, H.; Haginaka, J. An Unexpected Molecular Imprinting Effect for a Polyaromatic Hydrocarbon, Anthracene, Using Uniform Size Ethylene Dimethacrylate Particles. *J. High Resolut. Chromatogr.*, **1999**, *22*, 256–260.
- [42] Song, X.; Li, J.; Xu, S.; Ying, R.; Ma, J.; Liao, C.; Liu, D.; Yu, J.; Chen, L. Determination of 16 Polycyclic Aromatic Hydrocarbons in Seawater Using Molecularly Imprinted Solid-Phase Extraction Coupled with Gas Chromatography-Mass Spectrometry. *Talanta*, **2012**, *99*, 75–82.
- [43] Xie, J.; Cai, C.; Lai, S.; Yang, L.; Luo, L.; Yang, H.; Chen, Y.; Chen, X. Synthesis and Application of a Molecularly Imprinted Polymer as a Filter to Reduce Polycyclic Aromatic Hydrocarbon Levels in Mainstream Cigarette Smoke. *React. Funct. Polym.*, **2013**, *73*, 1606–1611.
- [44] Koshkin, A.V.; Sazhnikov, V.A.; Men'shikova, A.Y.; Pankova, G.A.; Evseeva, T.G.; Alfimov, M.V. Naphthalene Vapor Sorption by Polymer Nanoparticles with Molecularly Imprinted Shells. *Nanotechnologies Russ.*, **2012**, *7*, 15–21.
- [45] Sreenivasan, K. Improving the Efficiency of Imprinting in poly(HEMA) for Polyaromatic Hydrocarbon Using Silver Ions. *J. Appl. Polym. Sci.*, **2008**, *109*, 3275–3278.
- [46] Li, H.; Wang, L. Highly Selective Detection of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons Using Multifunctional Magnetic-Luminescent Molecularly Imprinted Polymers. *ACS Appl. Mater. Interfaces*, **2013**.
- [47] Chen, Y.-C.; Brazier, J.J.; Yan, M.; Bargo, P.R.; Prahl, S.A. Fluorescence-Based Optical Sensor Design for Molecularly Imprinted Polymers. *Sens. Actuators B Chem.*, **2004**, *102*, 107–116.
- [48] Burdeniuc, J. Aromatic Stacking between Ferrocene and Perfluorophenanthrene to Give a 2 + 2 Supramolecular Assembly in the Solid State. *Bull. Soc. Chim. Fr.*, *134*, 955–958.
- [49] Blom, N.F.; Neuse, E.W.; Thomas, H.G. Electrochemical Characterization of Some Ferrocenylcarboxylic Acids. *Transit. Met. Chem.*, **1987**, *12*, 301–306.
- [50] Cass, A.E.G.; Davis, G.; Green, M.J.; Hill, H.A.O. Ferricinium Ion as an Electron Acceptor for Oxido-Reductases. *J. Electroanal. Chem. Interfacial Electrochem.*, **1985**, *190*, 117–127.

- [51] Cass, A.E.G.; Davis, G.; Francis, G.D.; Hill, H.A.O.; Aston, W.J.; Higgins, I.J.; Plotkin, E.V.; Scott, L.D.L.; Turner, A.P.F. Ferrocene-Mediated Enzyme Electrode for Amperometric Determination of Glucose. *Anal. Chem.*, **1984**, *56*, 667–671.
- [52] Dechtrirat, D.; Gajovic-Eichelmann, N.; Wojcik, F.; Hartmann, L.; Bier, F.F.; Scheller, F.W. Electrochemical Displacement Sensor Based on Ferrocene Boronic Acid Tracer and Immobilized Glycan for Saccharide Binding Proteins and E. Coli. *Biosens. Bioelectron.*, **2014**, *58*, 1–8.
- [53] Ryabov, A.D. The Biochemical Reactions of Organometallics with Enzymes and Proteins. *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.*, **1991**, *30*, 931–941.
- [54] Dong, S.; Wang, B.; Liu, B. Amperometric Glucose Sensor with Ferrocene as an Electron Transfer Mediator. *Biosens. Bioelectron.*, **1992**, *7*, 215–222.
- [55] Razumiene, J.; Vilkanauskyte, A.; Gureviciene, V.; Laurinavicius, V.; Roznyatovskaya, N.V.; Ageeva, Y.V.; Reshetova, M.D.; Ryabov, A.D. New Bioorganometallic Ferrocene Derivatives as Efficient Mediators for Glucose and Ethanol Biosensors Based on PQQ-Dependent Dehydrogenases. *J. Organomet. Chem.*, **2003**, *668*, 83–90.
- [56] Vidal, J.C.; Yague, M.A.; Castillo, J.R. A Chronoamperometric Sensor for Hydrogen Peroxide Based on Electron Transfer between Immobilized Horseradish Peroxidase on a Glassy Carbon Electrode and a Diffusing Ferrocene Mediator. *Sens. Actuators B Chem.*, **1994**, *21*, 135–141.
- [57] Okawa, Y.; Nagano, M.; Hirota, S.; Kobayashi, H.; Ohno, T.; Watanabe, M. Tethered Mediator Biosensor. Mediated Electron Transfer between Redox Enzyme and Electrode via Ferrocene Anchored to Electrode Surface with Long Poly(oxyethylene) Chain. *Biosens. Bioelectron.*, **1999**, *14*, 229–235.
- [58] Wang, Y.-P.; Lin, T.-S.; Shyu, R.-S.; Hwu, J.-M.; Wang, Y.; Cheng, M.-C. Syntheses, Spectra and Crystal Structure of $(\text{CO})_2(\text{NO})\text{Cr}(\eta^5\text{-C}_5\text{H}_4)\text{CH}_2(\eta^5\text{-C}_5\text{H}_4)\text{Fe}[\text{vinyl-}(\eta^5\text{-C}_5\text{H}_4)]$. *J. Organomet. Chem.*, **1989**, *371*, 57–69.
- [59] Dai, Z.; Yang, X.; Huang, W. Preparation of Narrow-Disperse or Monodisperse Poly{[poly(ethylene Glycol) Methyl Ether Acrylate]-Co-(acrylic Acid)} Microspheres with Ethyleneglycol Dimethacrylate as Crosslinker by Distillation Precipitation Polymerization. *Polym. Int.*, **2007**, *56*, 224–230.
- [60] Gao, Q.; Luo, D.; Ding, J.; Feng, Y.-Q. Rapid Magnetic Solid-Phase Extraction Based on Magnetite/silica/poly(methacrylic Acid-co-ethylene Glycol Dimethacrylate) Composite Microspheres for the Determination of Sulfonamide in Milk Samples. *J. Chromatogr. A*, **2010**, *1217*, 5602–5609.
- [61] Goh, E.C.C.; Stöver, H.D.H. Cross-Linked Poly(methacrylic Acid-Co-Poly(ethylene Oxide) Methyl Ether Methacrylate) Microspheres and Microgels Prepared by Precipitation Polymerization: A Morphology Study. *Macromolecules*, **2002**, *35*, 9983–9989.
- [62] Ha, M.; Lee, K.; Choe, S. Crosslinkable Functional Moiety for the Formation of Highly Crosslinked Stable Microspheres in the Precipitation Polymerization. *Polymer*, **2008**, *49*, 4592–4601.
- [63] Jiang, X.; Tu, W. Stable Poly(glycidyl Methacrylate-Co-Ethylene Glycol Dimethacrylate) Microspheres via Precipitation Polymerization. *J. Appl. Polym. Sci.*, **2010**, *115*, 963–968.
- [64] Kara, A.; Uzun, L.; Beşirli, N.; Denizli, A. Poly(ethylene Glycol Dimethacrylate-N-Vinyl Imidazole) Beads for Heavy Metal Removal. *J. Hazard. Mater.*, **2004**, *106*, 93–99.
- [65] Medina-Castillo, A.L.; Fernandez-Sanchez, J.F.; Segura-Carretero, A.; Fernandez-Gutierrez, A. Micrometer and Submicrometer Particles Prepared by Precipitation Polymerization: Thermodynamic Model and Experimental Evidence of the Relation between Flory's Parameter and Particle Size. *Macromolecules*, **2010**, *43*, 5804–5813.
- [66] Perrier-Cornet, R.; Héroguez, V.; Thienpont, A.; Babot, O.; Toupance, T. Functional Crosslinked Polymer Particles Synthesized by Precipitation Polymerization for Liquid Chromatography. *J. Chromatogr. A*, **2008**, *1179*, 2–8.

- [67] Qi, D.; Bai, F.; Yang, X.; Huang, W. Synthesis of Core-Shell Polymer Microspheres by Two-Stage Distillation–precipitation Polymerization. *Eur. Polym. J.*, **2005**, *41*, 2320–2328.
- [68] Chern, C.S. Emulsion Polymerization Mechanisms and Kinetics. *Prog. Polym. Sci.*, **2006**, *31*, 443–486.
- [69] Richez, A.P.; Yow, H.N.; Biggs, S.; Cayre, O.J. Dispersion Polymerization in Non-Polar Solvent: Evolution toward Emerging Applications. *Prog. Polym. Sci.*, **2013**, *38*, 897–931.
- [70] Gokmen, M.T.; Du Prez, F.E. Porous Polymer particles—A Comprehensive Guide to Synthesis, Characterization, Functionalization and Applications. *Prog. Polym. Sci.*, **2012**, *37*, 365–405.
- [71] Arshady, R. Suspension, Emulsion, and Dispersion Polymerization: A Methodological Survey. *Colloid Polym. Sci.*, **1992**, *270*, 717–732.
- [72] Ye, L.; Cormack, P.A.G.; Mosbach, K. Molecularly Imprinted Monodisperse Microspheres for Competitive Radioassay. *Anal. Commun.*, **1999**, *36*, 35–38.
- [73] Vivaldo-Lima, E.; Wood, P.E.; Hamielec, A.E.; Penlidis, A. An Updated Review on Suspension Polymerization. *Ind. Eng. Chem. Res.*, **1997**, *36*, 939–965.
- [74] Ansell, R.J.; Mosbach, K. Molecularly Imprinted Polymers by Suspension Polymerisation in Perfluorocarbon Liquids, with Emphasis on the Influence of the Porogenic Solvent. *J. Chromatogr. A*, **1997**, *787*, 55–66.
- [75] Sellergren, B. *Molecularly Imprinted Polymers: Man-Made Mimics of Antibodies and Their Application in Analytical Chemistry*; Elsevier, **2000**.
- [76] Wang, J.; Cormack, P.A.G.; Sherrington, D.C.; Khoshdel, E. Monodisperse, Molecularly Imprinted Polymer Microspheres Prepared by Precipitation Polymerization for Affinity Separation Applications. *Angew. Chem. Int. Ed.*, **2003**, *42*, 5336–5338.
- [77] Wang, Y.; Liu, Q.; Rong, F.; Fu, D. A Facile Method for Grafting of Bisphenol A Imprinted Polymer Shells onto Poly(divinylbenzene) Microspheres through Precipitation Polymerization. *Appl. Surf. Sci.*, **2011**, *257*, 6704–6710.
- [78] Saraçoğlu, B.; Uğuzdoğan, E.; Gölgelioğlu, Ç.; Tuncel, A. Synthesis of Monodisperse Glycerol Dimethacrylate-Based Microgel Particles by Precipitation Polymerization. *Ind. Eng. Chem. Res.*, **2009**, *48*, 4844–4851.
- [79] Sambe, H.; Hoshina, K.; Moaddel, R.; Wainer, I.W.; Haginaka, J. Uniformly-Sized, Molecularly Imprinted Polymers for Nicotine by Precipitation Polymerization. *J. Chromatogr. A*, **2006**, *1134*, 88–94.
- [80] Nagata, S.; Kondo, G. PHOTO-OXIDATION OF CRUDE OILS. *Int. Oil Spill Conf. Proc.*, **1977**, *1977*, 617–620.
- [81] Limé, F.; Irgum, K. Preparation of Divinylbenzene and Divinylbenzene-Co-Glycidyl Methacrylate Particles by Photoinitiated Precipitation Polymerization in Different Solvent Mixtures. *Macromolecules*, **2009**, *42*, 4436–4442.
- [82] Bai, F.; Yang, X.; Huang, W. Synthesis of Narrow or Monodisperse Poly(divinylbenzene) Microspheres by Distillation–Precipitation Polymerization. *Macromolecules*, **2004**, *37*, 9746–9752.
- [83] Bai, F.; Li, R.; Yang, X.; Li, S.; Huang, W. Preparation of Narrow-dispersion or Monodisperse Polymer Microspheres with Active Hydroxyl Group by Distillation–precipitation Polymerization. *Polym. Int.*, **2005**, *55*, 319–325.
- [84] Rouquerol, J.; Rouquerol, F.; Llewellyn, P.; Maurin, G.; Sing, K.S.W. *Adsorption by Powders and Porous Solids: Principles, Methodology and Applications*; Academic Press, **2013**.
- [85] Barrett, E.P.; Joyner, L.G.; Halenda, P.P. The Determination of Pore Volume and Area Distributions in Porous Substances. I. Computations from Nitrogen Isotherms. *J. Am. Chem. Soc.*, **1951**, *73*, 373–380.
- [86] Brunauer, S.; Emmett, P.H.; Teller, E. Adsorption of Gases in Multimolecular Layers. *J. Am. Chem. Soc.*, **1938**, *60*, 309–319.

- [87] Rouquerol, J.; Rouquerol, F.; Luciani, L.; Llewellyn, P.; Denoyel, R. Texture Des Matériaux Pulvérulents Ou Poreux. *Tech. Ing. Anal. Surf. Matér.*, **2014**, base documentaire : TIB383DUO.



Chapitre 3. Propriétés d'adsorption et propriétés électrochimiques des MIPs électrochimiques

Table des matières

1. Quantification des HAPs par HPLC, détermination de LOD et LOQ.....	80
2. Propriétés d'adsorption	82
2.1. Cinétique d'adsorption.....	83
2.2. Isothermes d'adsorption.....	84
2.3. Application des modèles théoriques d'adsorption.....	85
2.4. Comparaison avec la littérature	87
3. Sélectivité croisée.....	87
4. Influence de la matière organique.....	89
5. Etude électrochimique	91
5.1. Voltampérométrie cyclique des électrodes à base de MIP/NIP.....	92
5.2. Propriétés électrochimiques des électrodes à base de MIP/NIP en présence de BaP	96
6. Conclusion.....	100
7. Références.....	102

Dans ce chapitre, les propriétés d'adsorption des polymères issus de la polymérisation par précipitation par distillation (DPP) sont abordées. Après une introduction sur la quantification des HAPs par chromatographie liquide haute performance (HPLC), l'étude cinétique est discutée. Cette étude a permis de déterminer le temps minimal de contact entre le polymère et la cible pour obtenir une adsorption maximale. Ce temps est le temps de référence pour le reste des études d'adsorption. Ensuite, les isothermes d'adsorption sont réalisés en batch. Ces isothermes donnent la capacité d'adsorption (Q) de chaque polymère imprimé ainsi que leur analogue non-imprimé. La sélectivité croisée permet de comparer l'affinité des polymères pour différents HAPs. L'affinité pour le BaP est également évaluée en présence d'une matière organique. Cette condition, proche de celle des échantillons « réels », est une première approche sur le comportement des polymères imprimés lors d'une utilisation « sur terrain » en présence de matière organique. Enfin, les propriétés électrochimiques de ces nouveaux polymères sont présentées.

1. Quantification des HAPs par HPLC, détermination des LOD et LOQ

Plusieurs méthodes d'analyse des HAPs sont proposées dans la littérature pour des applications diverses telles que l'analyse des sols, de l'air, des eaux, et des aliments [1–5]. En général, les protocoles expérimentaux décrits nécessitent une étape d'extraction suivie d'une ou plusieurs étapes de purification par chromatographie sur colonne, sur couche mince ou par extraction solide-liquide.

La quantification des HAPs est généralement réalisée soit par HPLC avec une détection par fluorescence (HPLC-FL) ou UV (HPLC-UV), soit par spectrofluorimétrie seule (FL), soit par chromatographie en phase gazeuse couplée à un détecteur à ionisation de flamme (GC-FID) ou à un spectromètre de masse (GC-MS). D'autres méthodes moins communes sont la luminescence et la spectroscopie de fluorescence synchronisée. La qualité de l'analyse est également dépendante du milieu dans lequel se trouvent les HAPs et du traitement des échantillons. En général, la sensibilité est décroissante lorsque l'on passe de la spectrométrie de masse, à la fluorimétrie et enfin à la spectroscopie UV-visible [6]. Plus précisément, la GC-MS est la technique qui présente la meilleure sensibilité [6]. Cependant, l'analyse par HPLC équipée d'un détecteur d'UV constitue une méthode de choix notamment lorsque les concentrations en HAPs ne sont pas trop faibles. Cette technique peu coûteuse, par rapport à un couplage avec un spectromètre de masse, conduit à des résultats plus faciles à traiter que ceux obtenus avec la détection par fluorescence. Dans ce travail, les HAPs sont présents dans des échantillons aqueux. Un traitement au préalable n'est pas nécessaire car il s'agit d'échantillons préparés dans un milieu sans interférents.

Dans cette étude, un appareillage de chromatographie en phase liquide équipé d'un détecteur UV-visible à barrette de photodiodes a été utilisé. Les paramètres d'analyse (choix de la phase stationnaire et de la phase mobile, volume d'échantillon injecté, débit de la phase mobile, température de la colonne) ont été optimisés afin d'obtenir la meilleure sensibilité possible pour les HAPs étudiés. Pour analyser le BaP seul, les analyses ont été réalisées en mode isocratique, sans changement de la composition de l'éluant, tandis qu'un gradient d'éluant est utilisé quand plusieurs HAPs sont dosés (Partie expérimentale).

➤ Détermination des LOD et LOQ :

Les limites de détection (LOD) et de quantification (LOQ) sont déterminées pour chaque composé par la méthode graphique en prenant le rapport signal sur bruit (S/N) égale à 3 pour les LOD et 10 pour les LOQ, respectivement, et à partir de chromatogrammes obtenus avec la concentration de chaque espèce estimée pour donner un signal avec un S/N de 5 environ (par tâtonnement de la concentration). Le milieu des échantillons utilisé est acétonitrile/eau 1/99, v/v. Les valeurs de LOD et LOQ sont obtenues à partir de deux lots de 10 *réplicas*. Les résultats sont récapitulés dans le tableau 1.

Tableau 1. Limites de détection (LOD) et de quantification (LOQ) pour chaque HAP, en condition isocratique pour le BaP (acétonitrile), et avec un gradient d'élution pour les autres HAPs (eau/acétonitrile).

	Mw ^a (g/mol)	T _R ^b (min)	λ ^c (nm)	LOD (µg/L)	LOQ (µg/L)
Benzo(a)pyrène ^d	252,31	8,5	296	0,68	2,26
Fluorène	166,20	17,0	262	0,36	1,19
Phénanthrène	178,23	19,4	254	0,04	0,13
Anthracène	178,23	22,0	254	0,23	0,77
Fluoranthène	202,25	23,8	286	0,10	0,33
Pyrène	202,25	25,7	242	0,42	1,39
Chrysène	228,28	32,9	267	0,07	0,23
Benzo(a)pyrène ^e	252,31	39,9	296	0,79	2,64
Dibenzo(a,h)anthracène	278,35	42,1	296	0,23	0,77

^a masse molaire

^b temps de rétention

^c longueur d'onde de détection

^d Valeurs déterminées pour la condition isocratique dans laquelle seul le BaP est présent

^e Valeurs déterminées avec un gradient d'élution en présence de tous les HAPs

Les valeurs de LOD et LOQ obtenues sont suffisantes pour des analyses de faibles concentrations de quelques centaines de nanogramme par litre. Elles sont également en adéquation avec la littérature [7].

➤ Détermination du coefficient d'extinction molaire (et massique), ε :

La courbe d'étalonnage (aire en fonction de la concentration en mg/L ou en µmol/L) est réalisée à partir de solutions d'étalonnage de dix concentrations différentes. Le milieu utilisé est acétonitrile/eau 1/99, v/v. Etant donné que le coefficient d'extinction molaire (ε) est différent pour chaque composé, les concentrations utilisées ne sont donc pas identiques. La détermination de ε est effectuée sur deux lots d'étalons et avec deux injections par échantillon en faisant la moyenne des

deux. Les coefficients d'extinction molaire obtenus seront employés ultérieurement pour la quantification des HAPs.

Tableau 2. Coefficients d'extinction molaires et massiques, et coefficients de corrélation obtenus par courbe d'étalonnage.

	λ , nm	Concentrations ($\mu\text{mol/L}$)	ϵ ($\text{L}/\mu\text{mol}$)	ϵ (L/mg)	R^2
Benzo(a)pyrène ^a	296	0,04-32	226	895	0,9999
Fluorène	262	0,01-6	66	396	0,9995
Phénanthrène	254	0,01-5,6	185	1040	0,9917
Anthracène	254	0,01-5,6	315	1766	0,9966
Fluoranthène	286	0,01-4,9	106	524	0,9944
Pyrène	242	0,01-4,9	182	899	0,9962
Chrysène	267	0,009-4,4	435	1906	0,9941
Benzo(a)pyrène ^b	296	0,008-4,0	161	638	0,9904
Dibenzo(a,h)anthracène	296	0,007-3,6	477	1713	0,9944

^a Valeurs déterminées pour la condition isocratique dans laquelle seul le BaP est présent.

^b Valeurs déterminées avec un gradient d'élution en présence de tous les HAPs.

Toutes les courbes d'étalonnage présentent une bonne linéarité sur tout l'intervalle de concentrations utilisé avec des coefficients de corrélation supérieurs à 0,99. De plus, une série d'étalons est analysée systématiquement avant d'effectuer les mesures dans le but de contrôler une reproductibilité.

2. Propriétés d'adsorption

L'analyse par batch est une des techniques permettant d'évaluer la capacité des polymères imprimés dans des conditions statiques, c'est à dire en l'absence de tout flux continu de solvant. Elle consiste à placer le polymère imprimé dans des solutions de concentrations croissantes et connues. Après l'agitation en un temps fixé pour obtenir un équilibre entre l'adsorption et la désorption, le surnageant est prélevé et sa concentration (C_e) est déterminée. Elle est comparée à celle de la solution initiale (C_i). La différence permet d'évaluer la quantité absorbée et donc la capacité d'adsorption du polymère exprimée en mg d'analyte par gramme de polymère (Q , Equations 1 et 2). Le taux de rétention par le polymère, exprimé en pourcentage, peut également être calculé comme étant le rapport de la quantité adsorbée par la quantité introduite (Equation 3). Le rapport entre la capacité d'adsorption d'un MIP et celle de son analogue non imprimé (NIP) permet de déterminer un facteur d'empreinte (IF, Equation 4).

$$Q = \frac{\text{Quantité de BaP adsorbée (mg)}}{\text{Quantité de polymère (g)}}$$

Équation 1. Définition de la capacité d'adsorption exprimée en mg de BaP par gramme de polymère.

$$\text{ou } Q = \frac{(C_i - C_e) \times V}{\text{Quantité de polymère (g)}}$$

Équation 2. Détermination de la capacité d'adsorption exprimée en mg/g.

$$\text{Rétention (\%)} = \frac{\text{Quantité adsorbée}}{\text{Quantité introduite}} \times 100$$

Équation 3. Détermination de la rétention de la cible, exprimée en pourcentage.

$$\text{IF} = \frac{Q_{\text{MIP}}}{Q_{\text{NIP}}}$$

Équation 4. Détermination de facteur d'empreinte (IF).

Avec

Q : capacité d'adsorption (mg/g)

C_i : concentration initiale de BaP (mg/L)

C_e : concentration d'équilibre en BaP (mg/L)

V : volume de la solution de BaP en contact avec le polymère (L)

2.1. Cinétique d'adsorption

Les MIP/NIP sont mis en contact avec une solution de BaP de concentration égale à 1,25 mg/L (soit 5 μmol/L), sous agitation. Le surnageant est analysé à différents temps de contact. L'adsorption est maximale et constante après un temps de contact de 4 heures (Figure 1). Ce temps servira de référence pour toutes les études d'adsorption comme temps minimal de contact entre le polymère et la solution de HAP.

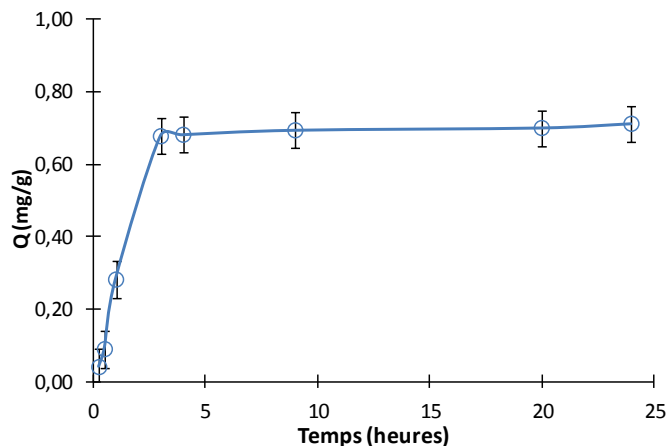


Figure 1. Evolution du taux de rétention du BaP par le MIP5 en fonction du temps.

2.2. Isothermes d'adsorption

Les isothermes d'adsorption sont obtenus en traçant la capacité d'adsorption en fonction de la concentration d'équilibre (C_e). Le polymère (10 mg) est mis en contact avec 10 mL de solution de BaP de concentrations différentes allant de 0,01 à 7,2 mg/L (la concentration de 7,2 mg/L correspond à la solubilité maximale du BaP dans ce milieu). Le contact dure 24 heures pour assurer l'adsorption maximale à l'équilibre. Les isothermes d'adsorption en fonction de la concentration d'équilibre de BaP des MIPs et NIPs 5 et 6 sont présentés sur la figure 2. Les valeurs de capacité maximale d'adsorption sont résumées dans le tableau 3 tandis que les facteurs d'empreinte ont été calculés pour une concentration initiale en BaP fixe de 6 mg/L.

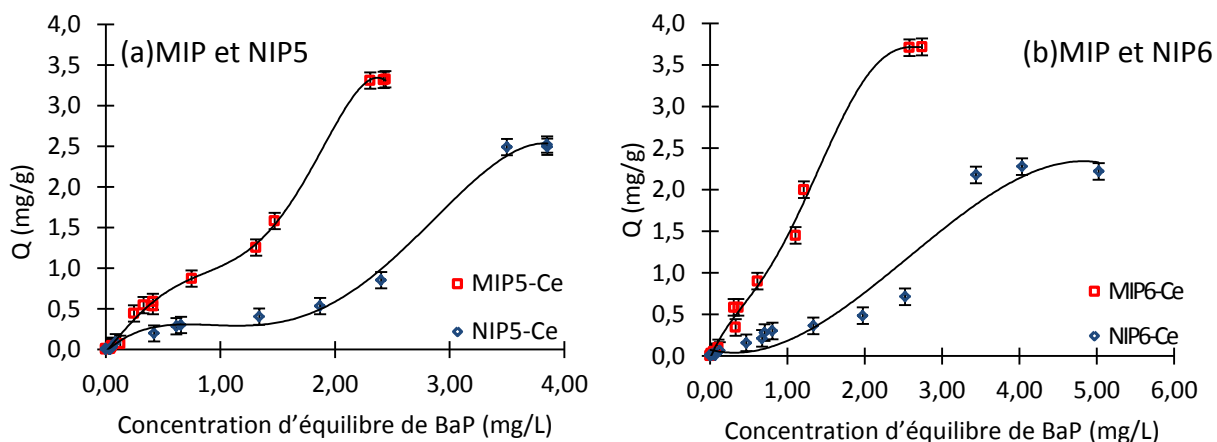


Figure 2. Courbes de Q (mg/g) en fonction de la concentration d'équilibre (C_e) de (a) MIP5 et NIP5 et de (b) MIP6 et NIP6.

D'après la figure 2, les courbes représentant les capacités d'adsorption (Q) des MIPs et NIPs s'écartent rapidement, indiquant un effet d'empreinte qui devient de plus en plus important lorsque la concentration en BaP augmente. L'isotherme du MIP6 semble être de type « L » (Annexe 2), indiquant une saturation progressive du polymère. En revanche, dans le cas des MIP5, NIP5 et NIP6, l'allure des isothermes est particulière car ils correspondent au type « S » (Sigmoïdal) avec un point d'inflexion. Ce cas particulier indique un effet coopératif, la première couche de molécules adsorbées favorisant l'adsorption ultérieure des autres molécules [8].

Tableau 3. Valeurs de capacité d'adsorption maximale (Q_{\max}) et facteurs d'empreinte des polymères MIP et NIP, 5 et 6.

MIP	Q_{\max} (mg/g)	NIP	Q_{\max} (mg/g)	IF^1
MIP5	$3,3 \pm 0,1$	NIP5	$2,5 \pm 0,1$	1,3
MIP6	$3,7 \pm 0,1$	NIP6	$2,2 \pm 0,1$	1,7

Les valeurs de Q_{\max} données dans le tableau 3 ont été déterminées sur le plateau pour tous les polymères. Pour les deux polymères à empreintes, un facteur d'empreinte supérieur à 1 est obtenu révélant l'efficacité de l'impression moléculaire pour ce type de polymères. Une meilleure capacité d'adsorption ainsi qu'un meilleur facteur d'empreinte sont obtenus pour le MIP6.

2.3. Application des modèles théoriques d'adsorption

Les isothermes précédemment établis peuvent être modélisés pour interpréter les phénomènes d'adsorption. Pour une adsorption homogène, les paramètres d'adsorption peuvent être estimés de façon directe. Dans le cas contraire, l'estimation est plus complexe et est basée sur la généralisation des contributions de l'adsorption à différentes concentrations. Deux modèles ont été étudiés à savoir Langmuir et Freundlich qui correspondent à l'adsorption homogène et à l'adsorption hétérogène, respectivement [8,9].

➤ *Modèle de Langmuir simple*

Ce modèle se base sur cinq hypothèses :

- La capacité d'adsorption peut avoir une valeur maximale (Q_{\max}).
- Tous les sites sont équivalents.
- Chaque site est occupé par une seule molécule.
- L'énergie et l'encombrement stérique ne sont pas dépendants de la quantité adsorbée.
- Le coefficient d'activité de surface est égal à 1 (adsorption homogène).

¹ Déterminés à la concentration initiale en BaP de 6 mg/L.

Après linéarisation, on obtient :

$$\frac{1}{Q} = \frac{1}{Q_{\max} K_L C_e} + \frac{1}{Q_{\max}}$$

Avec

K_L : coefficient d'affinité d'adsorption

Q_{\max} : capacité d'adsorption maximale à l'équilibre

Q : quantité adsorbée (ou capacité d'adsorption)

C_e : quantité libre (ou concentration d'équilibre)

Le tracé de $\frac{1}{Q}$ en fonction de $\frac{1}{C_e}$ donne une relation linéaire avec une pente de $\frac{1}{Q_{\max} K_L}$ et $\frac{1}{Q_{\max}}$ comme ordonnée à l'origine de la droite, permettant l'accès aux valeurs de K_L et de Q_{\max} .

➤ **Modèle de Freundlich**

Ce modèle se base sur une fonction empirique pour une adsorption multicouche non-idéale sur une surface hétérogène. Selon ce modèle, Q n'atteint pas de plateau lorsque C_e augmente.

$$Q = K_F C_e^m$$

$$\log Q = \log K_F + m \log C_e$$

Avec

K_F : coefficient d'adsorption de Freundlich

m : indice d'hétérogénéité

Q : quantité adsorbée (ou capacité d'adsorption)

C_e : quantité libre (ou concentration d'équilibre)

Le tracé de $\log Q$ en fonction de $\log C_e$ conduit à une relation linéaire avec une pente m et avec $\log K_F$ comme ordonnée à l'origine de la droite.

Les tracés selon ces deux modèles sont présentés en Annexe 7 (figures 3 et 4). Les valeurs de constante de Langmuir et de Freundlich et les coefficients de corrélation (R^2) obtenus pour chaque modèle sont listées dans le tableau 4. Considérant les valeurs de coefficients de corrélation (R^2), les polymères sont mieux décrits par le modèle de Freundlich avec un indice d'hétérogénéité (m) supérieur à 1 confirmant le caractère d'une adsorption de type « S » avec un point d'inflexion [8,10]. Pour mieux décrire ces phénomènes d'adsorption, un autre modèle tel que le Langmuir étendu devra être appliqué. Il est à noter que pour le MIP6, le modèle de Langmuir donne également un résultat qui peut sembler satisfaisant en accord avec la forme différente de l'isotherme.

Tableau 4. Constantes et coefficients de corrélation des modèles de Langmuir et de Freundlich appliqués aux polymères étudiés.

Polymère	Q (mg/g) expérimentale	Type	Langmuir			Freundlich		
			R ²	K _L	Q _{max} (mg/g)	R ²	K _F	m
MIP5	3,30	S	0,9433	0,40	4,52	0,9625	1,27	1,26
NIP5	2,50	S	0,9106	1,36	0,83	0,9178	0,46	1,13
MIP6	3,70	L	0,9901	0,99	1,23	0,9916	1,34	1,05
NIP6	2,28	S	0,3465	0,02	4,79	0,9535	0,41	1,02

2.4. Comparaison avec la littérature

Les capacités d'adsorption obtenues sont comparées à des valeurs trouvées dans la littérature (Tableau 5). Les MIPs 5 et 6 présentent de meilleures capacités d'adsorption. Cependant, les effets d'empreinte (IF) dans la littérature restent meilleurs. Le polymère qui présente la meilleure capacité d'adsorption est le 4VP-EDMA mais celui qui présente le meilleur facteur d'empreinte est le MAA-EDMA [11,12]. Avec une approche par un calcul *ab initio*, M.S. Khan et *al.* ont également montré une meilleure interaction avec le BaP pour le MAA et la 4VP, respectivement [13].

Tableau 5. Valeurs de capacité d'adsorption et de facteur d'empreinte pour le BaP dans la littérature.

Polymère	Q MIP	Q NIP	IF	Référence
VFc-EDMA (MIP5)	3,3 mg/g	2,5 mg/g	1,32	Ce travail
VFc-EDMA (MIP6)	3,7 mg/g	2,2 mg/g	1,62	
4VP-EDMA	0,67 mg/g	0,19 mg/g	3,52	[11]
MAA-EDMA	0,28 µg/g	0,08 µg/g	3,50	[14]
MAA-EDMA	0,117 mg/g	0,025 mg/g	4,68	[12]
4VP-DVB	16,3 µg/g	7,8 µg/g	2,09	[15]
4VP-EDMA	10,2 µg/g	5,5 µg/g	1,89	
4VP-DVB	20,78 µg/g	16,33 µg/g	1,34	[16]
4VP-EDMA	4,77 µg/g	2,13 µg/g	2,30	
MAA-TRIM	7,80 µg/g	3,88 µg/g	2,01	[17]
DMAEM-DVB	7,68 µg/g	2,93 µg/g	2,93	

3. Sélectivité croisée

L'étude de sélectivité croisée est réalisée en mettant en contact le polymère et une solution contenant du BaP ainsi qu'un autre HAP avec une concentration molaire équivalente pour les deux espèces, dans un milieu de mesure acétonitrile/eau = 1/99 v/v. La concentration de chaque HAP est égale à 0,5 µmol/L sauf dans le cas du DaA où les concentrations de BaP et de DaA sont de 0,01

$\mu\text{mol/L}$, en raison de la concentration trop faible de la solution mère commercialisée. Dans cette étude, les HAPs choisis comme espèces compétitrices pour le BaP sont : le fluorène, le phénanthrène, l'anthracène, le fluoranthène, le pyrène, le chrysène, et le dibenzo(a,h)anthracène (Figure 3). Ces HAPs ont été choisis en raison de leur structure similaire au BaP.

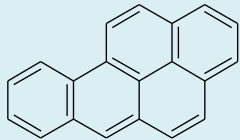
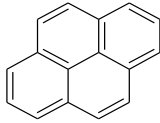
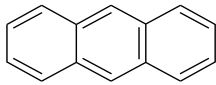
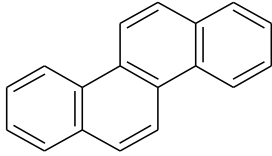
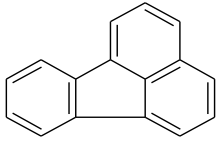
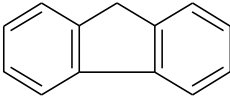
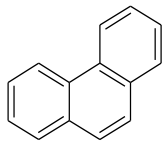
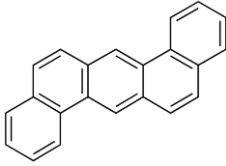
		
Benzo(a)pyrène (BaP)	Pyrène (PY)	Anthracène (ANT)
		
Chrysène (CHR)	Fluoranthène (FA)	Fluorène (FL)
		
Phénanthrène (PHE)	Dibenzo(a,h)anthracène (DaA)	

Figure 3. Structure des HAPs étudiés.

La détermination des capacités d'adsorption des deux HAPs présents dans le milieu permet de calculer les différents coefficients permettant la comparaison entre le MIP et le NIP. Les différents coefficients sont récapitulés dans le tableau 6. :

- Le coefficient de distribution (K_d) est le rapport entre la capacité d'adsorption sur la concentration d'équilibre (C_e) :

$$K_d = \frac{Q_e}{C_e}$$

Équation 5. Coefficient de distribution, K_d .

- Le coefficient de sélectivité (k) est le rapport entre le coefficient de distribution de la cible sur celui de la molécule interférente :

$$k = \frac{K_d \text{ BaP}}{K_d \text{ HAP}}$$

Équation 6. Coefficient de sélectivité, k .

- Le coefficient de sélectivité relative k' est le rapport entre les coefficients de sélectivité du MIP et du NIP :

$$k' = \frac{k_{\text{MIP}}}{k_{\text{NIP}}}$$

 Équation 7. Coefficient de sélectivité relative, k' .

 Tableau 6. Coefficients de sélectivité (k) et coefficients de sélectivité relative (k').

	k		k'	k		k'
	MIP5	NIP5		MIP6	NIP6	
Fluorène	0,560	0,580	0,97	0,658	0,639	1,03
Phénanthrène	2,862	1,590	1,80	2,310	1,422	1,62
Anthracène	0,449	0,375	1,20	1,605	0,401	4,01
Fluoranthène	0,722	0,553	1,31	0,802	0,433	1,85
Pyrène	0,552	0,483	1,14	0,402	0,659	0,61
Chrysène	0,624	0,580	1,08	0,567	0,574	0,99
Dibenzo(a,h)anthracène	1,866	1,577	1,18	2,435	1,474	1,65

Les coefficients de sélectivité relative (k') sont supérieurs ou très proches de 1 à l'exception de l'anthracène pour le MIP6 et NIP6. Ceci signifie qu'il existe systématiquement un effet d'empreinte, plus marqué dans le cas de l'anthracène pour le MIP6. Toutefois, les faibles valeurs des coefficients de sélectivité (k) montrent que l'effet de reconnaissance du BaP par rapport au HAP mis en concurrence est faible. Ceci peut s'expliquer par les structures chimiques très similaires de ces composés et l'absence de fonctionnalités spécifiques. Ce même résultat est également observé dans la littérature [15].

4. Influence de la matière organique

Pour se rapprocher d'une situation réelle d'analyse de polluant à laquelle ces polymères imprimés sont destinés, il est important que les MIPs soient capables de ne pas perdre leur affinité pour le BaP en présence d'une matière organique. Une étude a donc été menée en choisissant le sel de sodium de l'acide humique comme matière organique de référence (Figure 4).

Dans cette étude, une quantité croissante en sel d'acide humique, entre 0 et 4 mg/L, est mise en contact avec 10 mg de polymère en présence de BaP à 0,5 mg/L. Cette concentration initiale du BaP est choisie de façon à avoir sa rétention proche de 100% (déterminée à partir des isothermes d'adsorption). L'ensemble est agité avec un agitateur orbitalaire à 250 rpm. Le contact dure 24 heures

puis le surnageant est analysé pour déterminer la quantité de BaP adsorbée. Seuls les MIP5 et NIP 5 ont pu être étudiés en raison d'une quantité insuffisante en MIP6.

Une autre technique de détermination de la quantité de BaP adsorbée a également été envisagée. Il s'agit de faire relarguer le BaP adsorbé par le polymère par des lavages successifs et de le quantifier. Cette méthode a pour but de s'affranchir de la « complexation » éventuelle entre le BaP et le sel d'acide humique ce qui empêcherait la quantification du BaP véritablement adsorbée par le polymère lors de l'analyse du surnageant. Il s'avère que les deux méthodes conduisent à des résultats identiques. De plus, il a été validé que la présence de sel d'acide humique n'interfère pas avec la quantification de BaP par HPLC-UV. Ces résultats montrent qu'il n'y a pas de complexation entre le BaP et le sel d'acide humique dans les conditions de cette étude. La figure 5 montre l'évolution du taux de rétention du BaP et de la capacité d'adsorption en fonction de la concentration en sel d'acide humique.

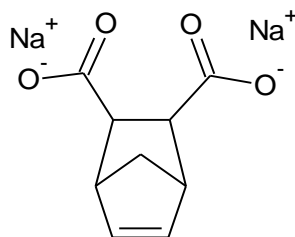


Figure 4. Sel de sodium d'acide humique.

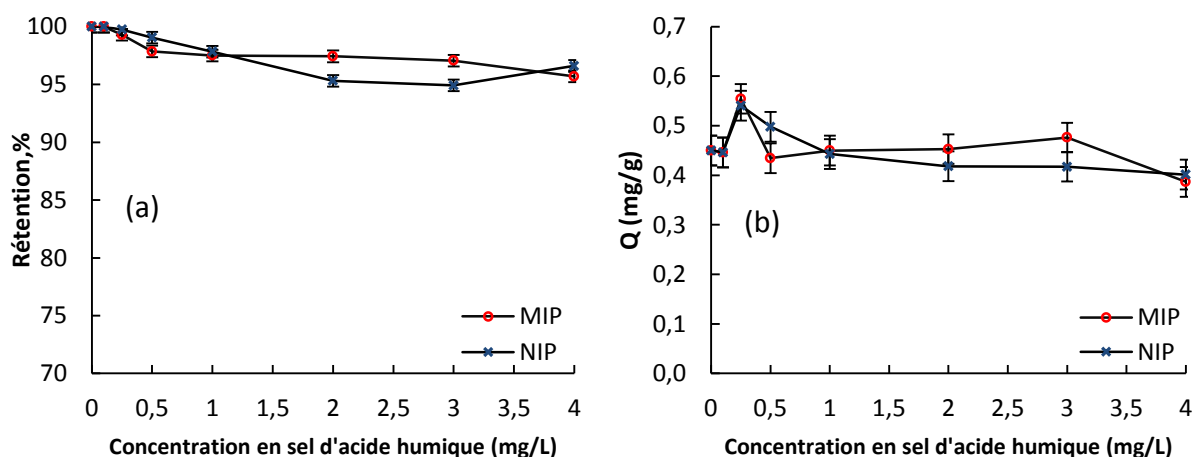


Figure 5. Evolution de (a) la rétention et (b) la capacité d'adsorption de BaP par les MIP5 et NIP5 en fonction de la concentration en sel d'acide humique.

D'après la figure 5, aucun changement significatif en termes de capacité d'absorption ni de rétention n'est constaté tant pour le MIP que pour le NIP. L'efficacité des polymères est ainsi

conservée en présence de cette matière organique. Cette information est essentielle car elle indique que ces polymères peuvent être utilisés dans le milieu naturel qui contient des matières organiques.

5. Etude électrochimique

Pour déterminer les propriétés électrochimiques des polymères imprimés, chaque MIP et NIP est mélangé à de la pâte de carbone puis l'ensemble est introduit dans une électrode de travail creuse de 5 mm de diamètre (Metrohm 6.1241.060) (le procédé de préparation est décrit dans la partie expérimentale). Les voltampérogrammes sont enregistrés dans l'acétonitrile avec comme électrolyte support le tétra *n*-butylammonium hexafluorophosphate, TBAPF₆ (0,1M), la solution étant préalablement purgée à l'argon. L'électrode de référence est une électrode au calomel saturé (ECS), et la contre électrode est une électrode de platine de 1 cm de diamètre. L'ensemble est introduit dans une cellule électrolytique classique fermée pour éviter la dissolution de l'oxygène ambiant dans le milieu.

C'est l'oxydation des motifs ferrocène en ion ferrocénium (Fc/Fc⁺) des différents MIP et NIP qui va être analysé afin de déterminer si la présence de la cible affecte ce processus rédox. En effet, si l'hypothèse de départ est correcte, l'adsorption du BaP devrait entraîner une interaction de type π - π avec le ferrocène, phénomène qui devrait se traduire par une modification des propriétés rédox du ferrocène. Les modifications attendues concernent l'intensité du pic anodique et/ou du cathodique accompagné, ou pas, d'un déplacement positif ou négatif du potentiel de pic anodique et/ou du pic cathodique.

Dans un premier temps, la voltampérométrie cyclique (CV : Cyclic Voltammetry) est utilisée. La CV est une technique de choix, généralement utilisée en premier, car elle est facile à mettre en œuvre, rapide et permet d'obtenir des informations sur les processus rédox (réversibilité, quasi-réversibilité, non réversibilité), les valeurs des pics anodiques et/ou cathodiques, le nombre d'électrons mis en jeu dans la(es) réaction(s) de transfert électronique, s'il y a adsorption ou pas ainsi que la stabilité électrochimique des systèmes étudiés. La CV consiste à enregistrer les courbes intensité-potential ($i = f(E)$) à une vitesse donnée, fixée par l'expérimentateur.

Dans un second temps, la voltampérométrie différentielle pulsée (DPV : Differential Pulse Voltammetry) ou la voltampérométrie à onde carrée (SWV : Square Wave Voltammetry) sont utilisées pour affiner les résultats obtenus avec la CV. Ces techniques sont plus sensibles et plus sélectives. La SWV est basée sur la superposition d'un « escalier » de potentiel, de hauteur ΔE_p , et d'une onde carrée symétrique d'amplitude ΔE_s en phase avec la fréquence des « marches de l'escalier ». Le signal mesuré est la différence entre les courants anodique et cathodique mesurés à la fin de chaque impulsion montante et descendante de l'onde carrée, éliminant ainsi le courant capacitif. Le principal avantage de la SWV, par rapport à la DPV qui consiste en une impulsion rectangulaire d'amplitude $|\Delta E|$ et de durée Δt le long d'une rampe de potentiel, est qu'elle permet de varier le potentiel à des vitesses beaucoup plus élevées, et ainsi d'améliorer la sensibilité non seulement par une

augmentation du rapport courant faradique/courant capacitif mais également par la réduction du temps de mesure [18].

Dans ce travail, la CV puis la DPV et la SWV ont été utilisées pour caractériser les MIPs et les NIPs. La SWV a été utilisée pour évaluer la limite de détection (LOD) et la limite de quantification (LOQ) des MIP6 et NIP6. La préparation de l'électrode ainsi que les différents paramètres fixés en CV, DPV et en SWV sont indiqués dans la partie expérimentale.

5.1. Voltampérométrie cyclique des électrodes à base de MIP/NIP

L'électrode de travail est préparée à partir d'un polymère MIP ou NIP et d'une pâte de carbone avec un ratio polymère/pâte de carbone 1/4 en masse, ces électrodes seront par la suite appelées MIP-CPE et NIP-CPE, CPE pour Carbon Paste Electrode. Une fois polie et séchée, la surface est observée par microscopie électronique à balayage (Figure 6). Le cliché MEB montre des flocons isolés et irréguliers de pâte de carbone avec des particules de polymère dispersées à la surface de l'électrode. Une grande quantité de particules sont accessibles pour une analyse en solution.

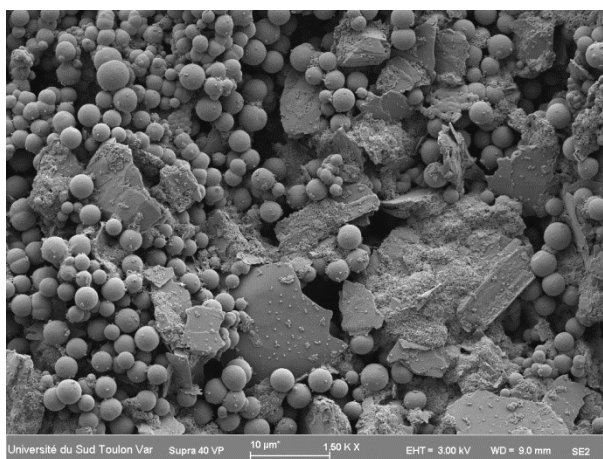


Figure 6. Surface de l'électrode de travail à base de MIP5.

Les voltampérogrammes cycliques des NIP5-CPE et NIP6-CPE et de leurs MIP-CPE correspondants ont été enregistrés dans l'acétonitrile avec 0,1M de TBAPF₆ comme l'électrolyte support (Figure 7). Tous les voltampérogrammes cycliques présentent des pics anodique et cathodique correspondants respectivement à l'oxydation du ferrocène en ferrocénium puis à la réduction du ferrocénium en ferrocène alors que le voltampérogramme cyclique de l'électrode à pâte de carbone sans polymère, dans les mêmes conditions, ne révèle aucun système rédox. La différence de potentiel entre les pics anodique (E_{pa}) et cathodique (E_{pc}), quel que soit le MIP ou le NIP étudié, est de l'ordre de 200 mV, ce qui laisse penser à un système quasi-réversible alors qu'un processus réversible est généralement attendu avec le ferrocène en solution. Ici, le ferrocène est intégré dans un polymère ce qui est probablement à l'origine de l'écart observé [19]. Dans tous les cas, les valeurs des potentiels des pics anodique et cathodique sont constantes avec la vitesse de balayage. Les valeurs

des courants anodique (I_a) et cathodique (I_c) ne sont pas des relations linéaires avec la vitesse de balayage (entre 5 et 500 mV/s) (Figure 8) mais avec la racine carrée de la vitesse de balayage (Figure 9). Ces résultats sont en accord avec un système contrôlé par la diffusion qui dans le cas présent peut être dû au transfert électronique entre ferrocène voisin ou au déplacement des contre-ions [20]. Ceci peut expliquer le fait que la différence de potentiel entre les pics anodique et cathodique est de l'ordre de 200 mV.

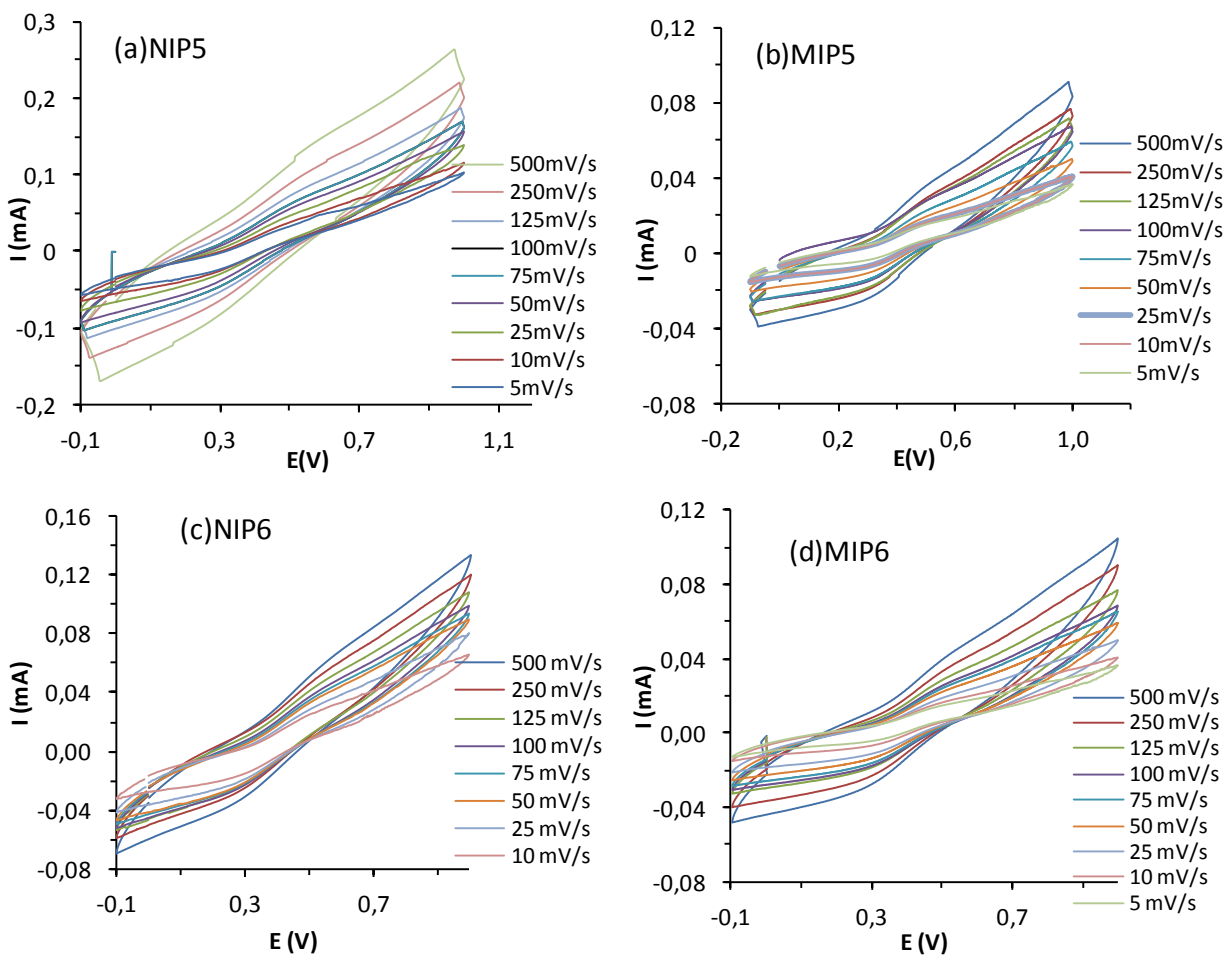


Figure 7. Voltampérogrammes cycliques de (a) NIP5-CPE, (b) MIP5-CPE, (c) NIP6-CPE et (d) MIP6-CPE dans 0,1M TBAPF₆ dans l'acétonitrile avec des vitesses de balayage entre 5 et 500 mV/s.

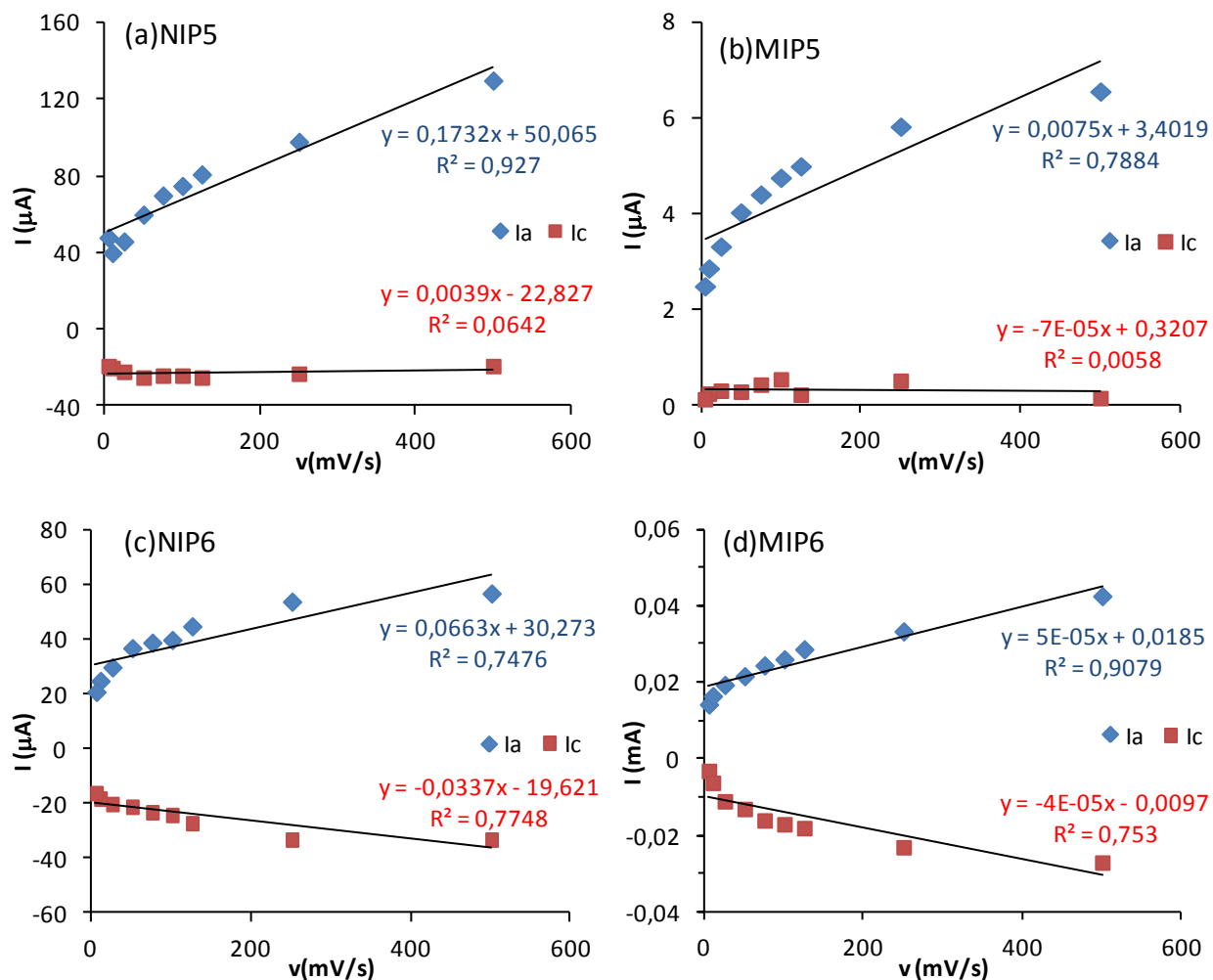


Figure 8. Courants anodique (bleu) et cathodique (rouge) en fonction de la vitesse (a) NIP5-CPE, (b) MIP5-CPE, (c) NIP6-CPE et (d) MIP6-CPE dans 0,1M TBAPF₆ dans l'acétonitrile.

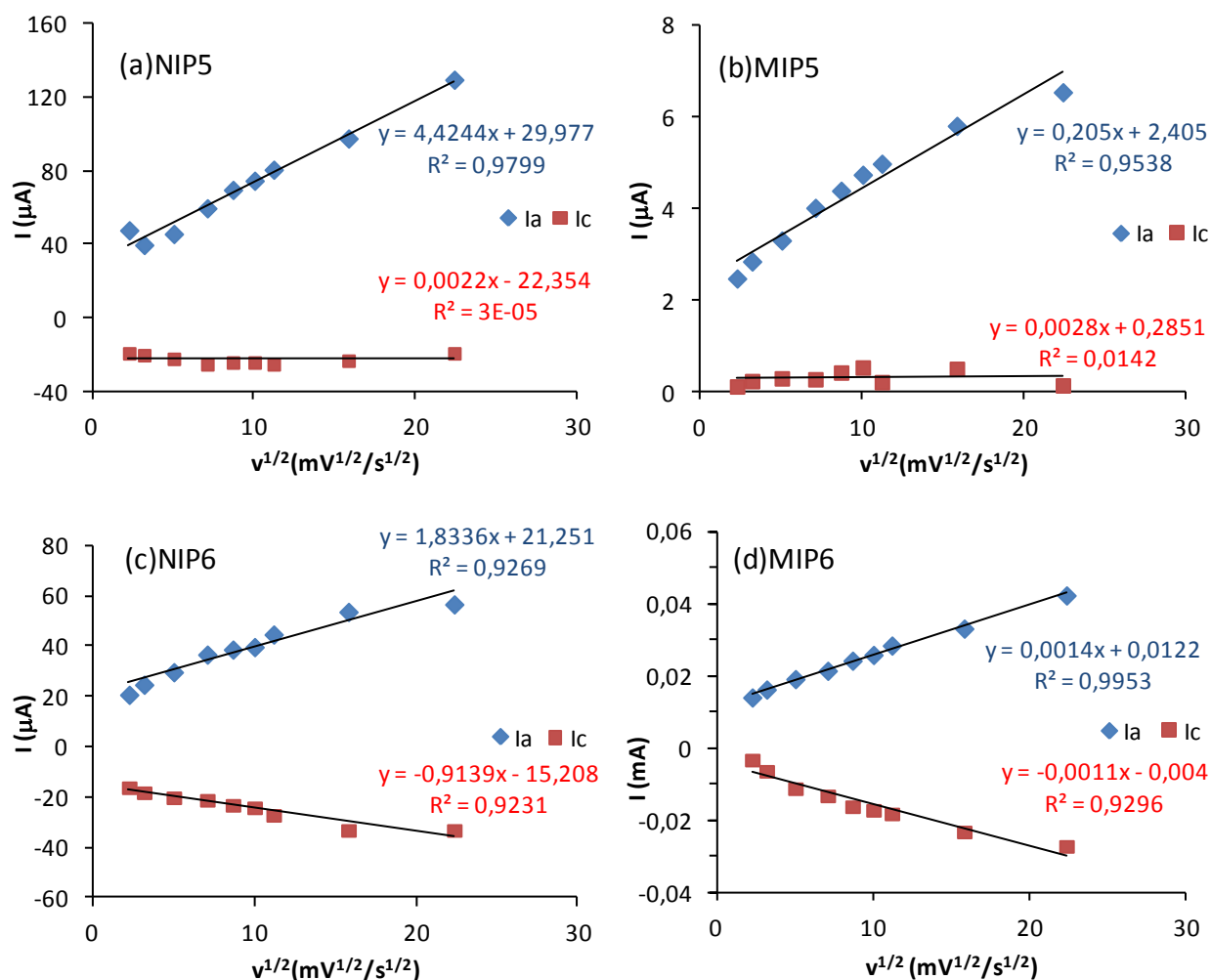


Figure 9. Courants anodique (bleu) et cathodique (rouge) en fonction de la racine carrée de la vitesse de balayage de (a) NIP5-CPE, (b) MIP5-CPE, (c) NIP6-CPE et (d) MIP6-CPE dans 0,1M TBAPF₆ dans l'acétonitrile.

La détermination de la quantité de ferrocène oxydé pendant le balayage aller est effectuée par l'intégration de la vague anodique qui correspond à la charge électrique (Q) associée à ce processus. La charge Q est liée au nombre de moles de ferrocène oxydées par la relation $Q = nFN$, avec n le nombre d'électrons impliqué dans l'oxydation ($n = 1$ pour le couple Fc/Fc^+), F la constante de Faraday et N le nombre de moles d'espèces électroactives oxydées. La détermination de la charge Q peut être faite pour des systèmes rédox immobilisés, ce qui est supposé être le cas dans les systèmes décrits ici. Dans tous les cas, la charge Q diminue avec la vitesse de balayage (Figure 10). Ramirez et *al.* ont observé le même phénomène dans un travail concernant les propriétés électrochimique du ferrocène dans de la pâte de carbone [21]. Ces auteurs rapportent des courbes, similaires à celles obtenues dans ce travail, avec deux régions : une pour les vitesses lentes où l'ensemble des ferrocènes de la matrice sont oxydés, et une pour les vitesses rapides où seuls les ferrocènes se trouvant à l'interface de

l'électrolyte sont oxydés. Les auteurs attribuent leurs observations à un phénomène de diffusion des espèces en solution. Sur la base de leurs résultats, une explication similaire peut-être émise dans le cas des MIP/NIP-CPE. En d'autres termes, les vitesses de balayage lentes sont à privilégier.

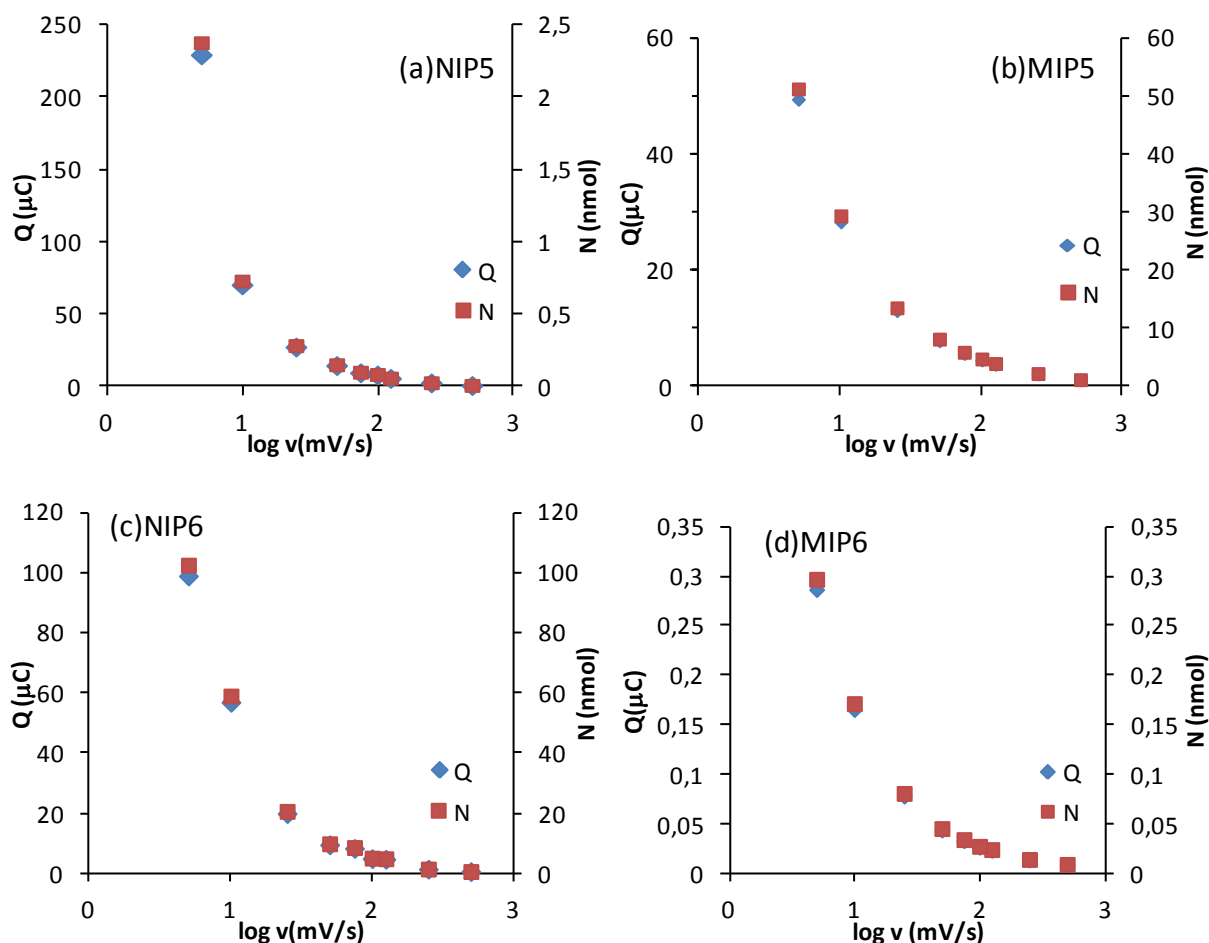


Figure 10. Variation de Q et N en fonction du logarithme de la vitesse de (a) NIP5-CPE, (b) MIP5-CPE, (c) NIP6-CPE et (d) MIP6-CPE dans 0,1M TBAPF₆ dans l'acétonitrile.

5.2. Propriétés électrochimiques des électrodes à base de MIP/NIP en présence de BaP

Dans cette étude les couples MIP/NIP ont été étudiés en DPV ou en SWV en présence d'une solution de BaP de concentration croissante. Les comportements électrochimiques des MIP5-CPE et NIP5-CPE, d'une part, et des MIP6-CPE et NIP6-CPE d'autre part, ont été étudiés par DPV et par SWV, respectivement (Figures 11 et 12). Dans tous les cas, l'addition de BaP a été effectuée après une immersion de 4 heures des électrodes MIP/NIP-CPE dans la solution électrolytique. Après ces 4

heures, 100 μl d'une solution du BaP à 10 mg/L dans l'acétonitrile sont additionnés directement dans la solution d'électrolyte, sans déplacer aucune électrode et sans agitation ; la concentration finale en BaP est égale à 0,2 mg/L. Les enregistrements sont ensuite effectués à période régulière.

La DPV du NIP5-CPE et du MIP5-CPE présentent, comme attendu, un pic d'oxydation du ferrocène en ferrocénium à respectivement $E_p = 0,43$ et $0,42$ V par rapport à l'ECS, (Figure 11). Dans le cas du NIP5-CPE, une faible diminution de l'intensité du courant est observée à partir de 2 heures pour atteindre une valeur de l'ordre de 5 μA après 4 heures. A noter que pour le NIP5-CPE, il n'y a pas de déplacement du potentiel d'oxydation. L'effet observé pour le NIP5-CPE peut être raisonnablement attribué à un phénomène d'adsorption du BaP qui empêche l'oxydation d'un certain nombre d'entités ferrocène initialement accessibles. Un phénomène similaire a été rapporté concernant des ferrocènes qui deviennent électrochimiquement inactifs après l'adsorption d'enzyme [22].

Dans le cas du MIP5-CPE, le comportement est différent. En effet, dans un premier temps, il y a une chute importante de l'intensité du courant avant que celle-ci ne revienne à sa valeur initiale mais avec un décalage négatif du pic E_p jusqu'à 3 heures. Après 3 heures, un autre pic d'oxydation apparaît proche de la valeur du potentiel initial pour enfin, 30 minutes après et au-delà, ne plus observer qu'un seul pic d'oxydation avec une intensité faible et une valeur de potentiel décalée vers les potentiels plus élevés par rapport à la valeur initiale. J. Hodak et *al.* ont rapporté une modification du potentiel d'oxydation de groupement ferrocényles greffés à la surface de couches auto-assemblées due à un changement du micro-environnement des ferrocènes [22]. Un phénomène similaire pourrait être envisagé dans le cas du MIP5-CPE mais reste difficile à démontrer. Finalement, après un temps largement supérieur à 4 heures, l'intensité est quasiment revenue à sa valeur initiale et le pic d'oxydation a subi un décalage positif d'environ 100 mV.

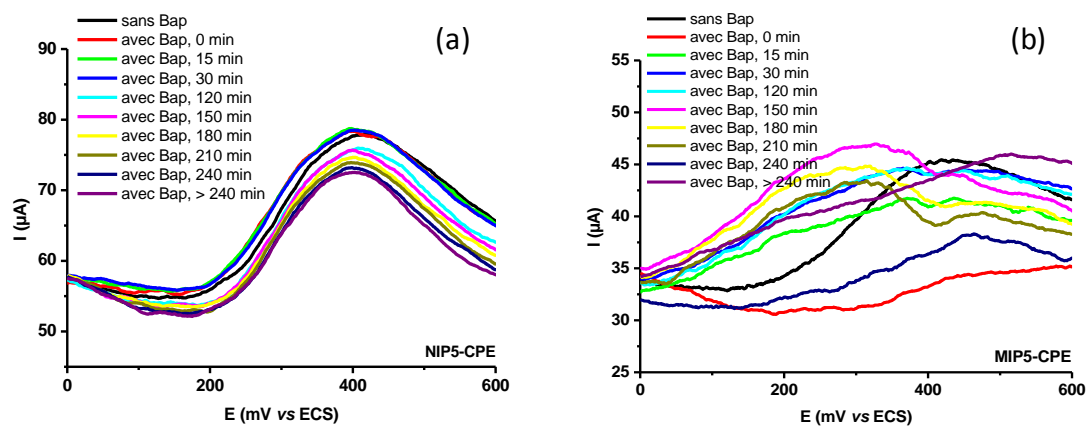


Figure 11. DPV du (a) NIP5-CPE et du (b) MIP5-CPE avant et après l'ajout du BaP.

Dans le cas du NIP6-CPE, après addition d'une solution de BaP, une importante diminution de l'intensité du courant est observée, sans variation notable de E_p (Figure 12). A partir d'une heure, l'intensité remonte, jusqu'à 4 heures, avant finalement de redescendre un peu et de se stabiliser. Bien que l'évolution de l'intensité soit plus complexe que dans le cas du NIP5-CPE, l'adsorption du BaP

faisant écran à l'oxydation du ferrocène peut être également avancée car, au bilan, il y a bien une diminution de l'intensité sans variation de la valeur du potentiel E_p .

Pour le MIP6-CPE, après addition de BaP, l'intensité du courant augmente rapidement jusqu'à 2 heures avant de diminuer fortement en étant accompagnée d'un décalage positif de E_p de 0,47 à 0,55 V pour atteindre une stabilisation après 4 heures. Comme précédemment pour le MIP5-CPE, ce comportement est difficile à expliquer notamment l'augmentation de l'intensité observée dans un premier temps. La chute de l'intensité observée après 4 heures peut être attribuée à de l'adsorption en accord avec ce qui est observé pour le NIP6-CPE. Cette adsorption jouerait le rôle d'écran empêchant certains ferrocènes d'être oxydés alors qu'ils l'étaient avant l'addition du BaP.

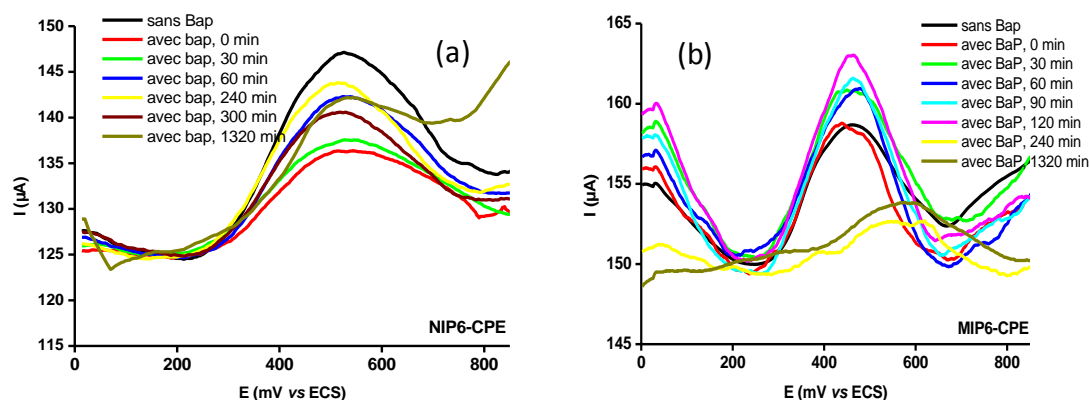


Figure 12. SWV du (a) NIP6-CPE et (b) MIP6-CPE avant et après l'ajout du BaP.

Le décalage positif de E_p pourrait, quant à lui, être attribué à un effet d'empreinte. En effet, le décalage positif de E_p indique clairement que les ferrocènes encore oxydables le sont plus difficilement. En d'autres termes, le décalage positif de E_p traduit un effet électro-attracteur exercés sur les ferrocènes rendant leur oxydation plus difficile. Dans ce contexte, puisque les ferrocènes ne subissent aucune modification chimique consistant à leur greffer un groupement électro-attracteur, des interactions π - π entre ferrocène et BaP peuvent être avancées pour expliquer le décalage positif de E_p . Des études supplémentaires, qui n'ont pas eu être faites dans le temps imparti pour ce travail, devront être menées afin de valider ou d'invalider cette hypothèse. Néanmoins, bien que des questions subsistent sur l'origine des phénomènes observés, ces résultats sont reproductibles.

Pour plus de clarté et afin de mieux faire apparaître les modifications des voltampérogrammes, seules les intensités initiales et celles obtenues après 4 heures sont représentées sur la figure 13.

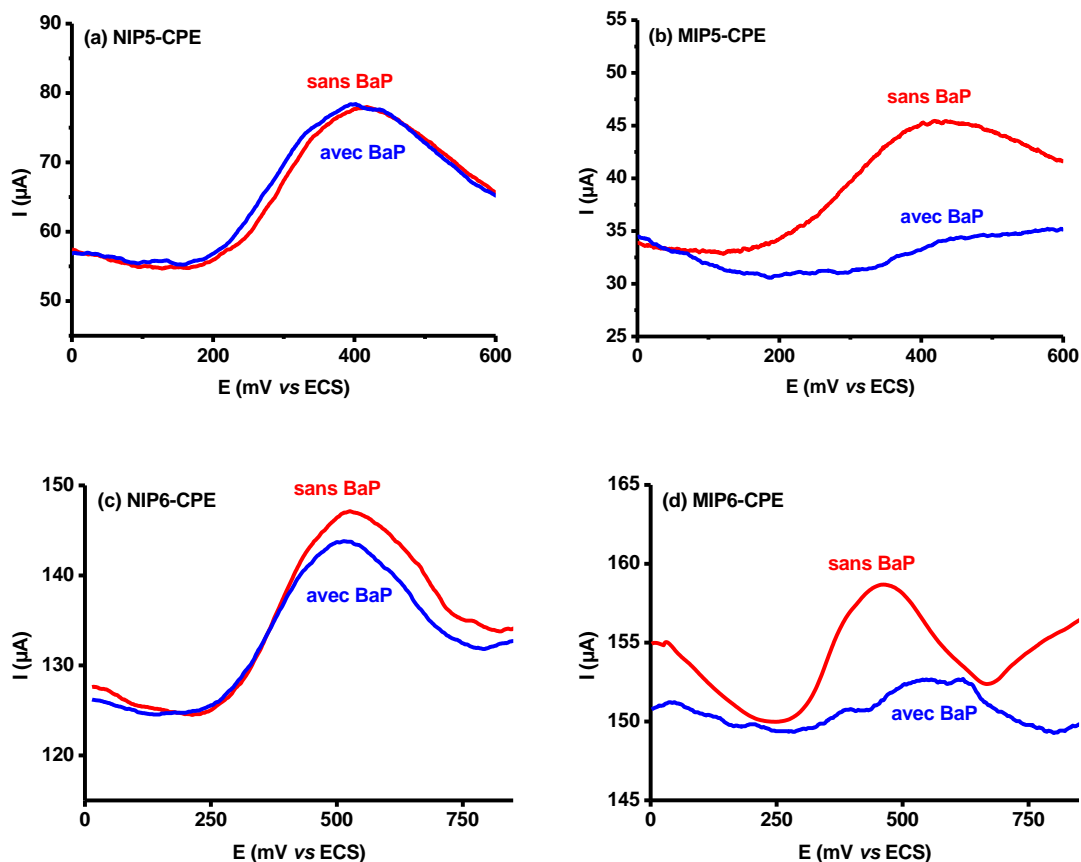


Figure 13. DPV du (a) NIP5-CPE et, (b) MIP5-CPE avec et sans BaP après 4h. SWV du (c) NIP6-CPE et du (d) MIP6-CPE avec et sans BaP après 4h. Conditions pour DPV: 50 mV d'amplitude d'impulsion, 5 mV potentiels de saut; pour SWV : 150 mV d'amplitude d'impulsion, 2 mV potentiel de saut.

Comme les courbes obtenues pour les NIP6-CPE et MIP6-CPE se sont avérées plus simples à analyser, des mesures ont été effectuées en fonction de la concentration de BaP (0 à 1 mg/L) et en suivant l'évolution de l'intensité pour $E_p = 0,46$ V, 4 heures après l'addition du BaP (Figure 14 (a)). L'expression de la variation d'intensité en fonction de la concentration conduit, dans les deux cas, à des courbes présentant deux parties linéaires avec un changement de pente beaucoup plus marqué pour le MIP6-CPE après 0,4 g/L. Afin de faciliter l'analyse, deux nouvelles droites ont été tracées en normalisant l'intensité, c'est-à-dire en l'exprimant en pourcentage de variation d'intensité (Figure 14 (b)). Dans les deux cas, des droites sont obtenues et celles-ci présentent des valeurs de pente égales à 3,52%/ μM et 1,90 %/ μM , respectivement pour le MIP6-CPE et le NIP6-CPE. Les limites de détection (LOD) et de quantification (LOQ) sont déterminées par la méthode des moindres carrés. Les LOD pour le MIP6-CPE et le NIP6-CPE sont égales à 0,09 μM (22 $\mu\text{g/L}$) et 0,24 μM (60 $\mu\text{g/L}$), respectivement. Les LOQ, quant à elles, sont égales à 0,32 μM (78 $\mu\text{g/L}$) et 0,82 μM (200 $\mu\text{g/L}$) pour respectivement le MIP6-CPE et le NIP6-CPE.

Bien qu'il n'y ait pas dans la littérature de systèmes similaires à ceux développés dans ce travail, les résultats de N. Luo et *al.* peuvent être pris en compte pour comparaison [23]. En effet, ces auteurs ont décrit un MIP développé pour le pyrène avec une détection en SWV. Ces auteurs indiquent une détection du pyrène en solution de l'ordre de 10 nM en utilisant le ferricyanure de potassium comme sonde rédox externe. Il y a donc un facteur 9 entre le système développé par Luo et *al.* et celui de ce travail, ce qui est particulièrement encourageant pour la poursuite de ce travail, avec l'optimisation des électrodes modifiées.

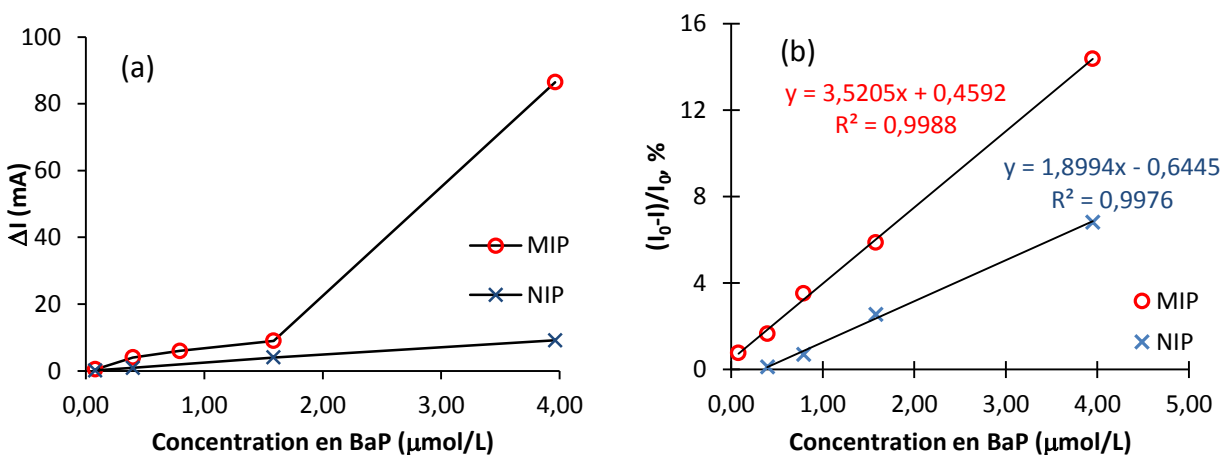


Figure 14. Evolution du courant du (a) MIP6-CPE et du NIP6-CPE en fonction de la concentration en BaP dans une solution d'électrolyte. (b) Courbes de courant normalisé exprimé en pourcentage où I est le courant obtenu en présence de BaP et I_0 le courant avant l'ajout de BaP.

6. Conclusion

Dans ce chapitre, les propriétés d'adsorption des polymères à empreintes et de leurs analogues non-imprimés ont été évaluées en mode batch, vis-à-vis de la présence de la molécule cible, le BaP. Les polymères à empreintes préparés par polymérisation par précipitation par distillation avec le vinylferrocène (VFc) comme monomère fonctionnel et le diméthacrylate d'éthylène glycol (EDMA) comme agent réticulant présentent une bonne capacité d'adsorption comparée à la littérature. Ils présentent un facteur d'empreinte supérieur à 1 ce qui montre l'efficacité de l'impression par cette technique. Le MIP6 préparé avec une plus grande quantité de toluène que le MIP5 présente une meilleure capacité d'adsorption et un facteur d'empreinte supérieur. Les études de sélectivité montrent une meilleure sélectivité du MIP6 en présence de l'antracène par rapport à son NIP. Toutefois, ces polymères ne sont guère sélectifs vis-à-vis des HAPs mis en concurrence. Les propriétés d'adsorption sont par ailleurs conservées en présence d'une matrice organique (sel d'acide humique) au moins jusqu'à 4 mg/L. Ces résultats donnent une information importante pour une utilisation future de ces polymères en milieu naturel en présence de matières organique.

Les mesures électrochimiques ont révélé un comportement de transfert d'électron contrôlé par la diffusion. La technique SWV a été employée pour déterminer la diminution de courant d'oxydation des motifs ferrocène au sein des différents polymères en fonction de la concentration de la cible. Une relation linéaire a été obtenue avec une pente supérieure pour le MIP6 que pour son analogue non-imprimé. Ces résultats ont montré qu'il est possible de détecter de façon qualitative le BaP par cette technique avec une limite de détection actuelle de 0,09 $\mu\text{mol/L}$ (MIP6-CPE). Ces premiers résultats sont particulièrement encourageants car, bien que tous les phénomènes observés ne soient pas expliqués, ils démontrent que la stratégie mise en œuvre est intéressante pour le développement de nouvelles phases associant reconnaissance et traceur électrochimique.

7. Références

- [1] Moret, S.; Conte, L.S. A Rapid Method for Polycyclic Aromatic Hydrocarbon Determination in Vegetable Oils. *J. Sep. Sci.*, **2002**, *25*, 96–100.
- [2] Moreda, J.M.; Arranz, A.; Betoño, S.F.D.; Cid, A.; Arranz, J.F. Chromatographic Determination of Aliphatic Hydrocarbons and Polyaromatic Hydrocarbons (PAHs) in a Sewage Sludge. *Sci. Total Environ.*, **1998**, *220*, 33–43.
- [3] Pandey, S.K.; Kim, K.-H.; Brown, R.J.C. A Review of Techniques for the Determination of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons in Air. *TrAC Trends Anal. Chem.*, **2011**, *30*, 1716–1739.
- [4] Stanley, S.; Percival, C.J.; Auer, M.; Braithwaite, A.; Newton, M.I.; McHale, G.; Hayes, W. Detection of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons Using Quartz Crystal Microbalances. *Anal. Chem.*, **2003**, *75*, 1573–1577.
- [5] Andrade-Eiroa, A.; Leroy, V.; Dagaut, P.; Bedjanian, Y. Determination of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons in Kerosene and Bio-Kerosene Soot. *Chemosphere*, **2010**, *78*, 1342–1349.
- [6] Plaza-Bolaños, P.; Frenich, A.G.; Vidal, J.L.M. Polycyclic Aromatic Hydrocarbons in Food and Beverages. Analytical Methods and Trends. *J. Chromatogr. A*, **2010**, *1217*, 6303–6326.
- [7] Dost, K.; İdeli, C. Determination of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons in Edible Oils and Barbecued Food by HPLC/UV-Vis Detection. *Food Chem.*, **2012**, *133*, 193–199.
- [8] Limousin, G.; Gaudet, J.-P.; Charlet, L.; Szenknect, S.; Barthès, V.; Krimissa, M. Sorption Isotherms: A Review on Physical Bases, Modeling and Measurement. *Appl. Geochem.*, **2007**, *22*, 249–275.
- [9] Corton, E.; García-Calzón, J.A.; Díaz-García, M.E. Kinetics and Binding Properties of Cloramphenicol Imprinted Polymers. *J. Non-Cryst. Solids*, **2007**, *353*, 974–980.
- [10] Hinz, C. Description of Sorption Data with Isotherm Equations. *Geoderma*, **2001**, *99*, 225–243.
- [11] Krupadam, R.; Bhagat, B.; Khan, M. Highly Sensitive Determination of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons in Ambient Air Dust by Gas Chromatography-Mass Spectrometry after Molecularly Imprinted Polymer Extraction. *Anal. Bioanal. Chem.*, **2010**, *397*, 3097–3106.
- [12] Krupadam, R.J.; Khan, M.S.; Wate, S.R. Removal of Probable Human Carcinogenic Polycyclic Aromatic Hydrocarbons from Contaminated Water Using Molecularly Imprinted Polymer. *Water Res.*, **2010**, *44*, 681–688.
- [13] Muntazir S. Khan; Prateek S.Wate. Combinatorial Screening of Polymer Precursors for Preparation of Benzo[α] Pyrene Imprinted Polymer: An Ab Initio Computational Approach - Springer. *J. Mol. Model.*, *18*, 1969–1981.
- [14] Krupadam, R.J.; Bhagat, B.; Wate, S.R.; Bodhe, G.L.; Sellergren, B.; Anjaneyulu, Y. Fluorescence Spectrophotometer Analysis of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons in Environmental Samples Based on Solid Phase Extraction Using Molecularly Imprinted Polymer. *Environ. Sci. Technol.*, **2009**, *43*, 2871–2877.
- [15] Lai, J.P.; Niessner, R.; Knopp, D. Benzo [a] Pyrene Imprinted Polymers: Synthesis, Characterization and SPE Application in Water and Coffee Samples. *Anal. Chim. Acta*, **2004**, *522*, 137–144.
- [16] Ho, W.L.; Lin, T.C.; Liu, Y.Y.; Chen, J.A. Analysis of Smoke PAHs from Selected Taiwanese Cigarettes by Using Molecular Imprinting Polymers. *J. Environ. Sci. Health Part A*, **2010**, *45*, 211–223.
- [17] Ho, W.-L.; Liu, Y.-Y.; Lin, T.-C. Development of Molecular Imprinted Polymer for Selective Adsorption of Benz[a]pyrene Among Airborne Polycyclic Aromatic Hydrocarbon Compounds. *Environ. Eng. Sci.*, **2011**, *28*, 421–434.
- [18] Wang, J. *Analytical Electrochemistry*; John Wiley & Sons, **2006**.

- [19] Mokhtari, A.; Karimi-Maleh, H.; Ensafi, A.A.; Beitollahi, H. Application of Modified Multiwall Carbon Nanotubes Paste Electrode for Simultaneous Voltammetric Determination of Morphine and Diclofenac in Biological and Pharmaceutical Samples. *Sens. Actuators B Chem.*, **2012**, *169*, 96–105.
- [20] Saito, T.; Watanabe, M. Characterization of Poly(vinylferrocene-Co-2-Hydroxyethyl Methacrylate) for Use as Electron Mediator in Enzymatic Glucose Sensor. *React. Funct. Polym.*, **1998**, *37*, 263–269.
- [21] Martínez, R.; Ramírez, M.T.; González, I. Voltammetric Characterization of Carbon Paste Electrodes with a Nonconducting Binder. Part I: Evidence of the Influence of Electroactive Species Dissolution into the Paste on the Voltammetric Response. *Electroanalysis*, **1998**, *10*, 336–342.
- [22] Hodak, J.; Etchenique, R.; Calvo, E.J.; Singhal, K.; Bartlett, P.N. Layer-by-Layer Self-Assembly of Glucose Oxidase with a Poly(allylamine)ferrocene Redox Mediator. *Langmuir*, **1997**, *13*, 2708–2716.
- [23] Luo, N.; Hatchett, D.W.; Rogers, K.R. Recognition of Pyrene Using Molecularly Imprinted Electrochemically Deposited Poly(2-Mercaptobenzimidazole) or Poly(resorcinol) on Gold Electrodes. *Electroanalysis*, **2007**, *19*, 2117–2124.

**Chapitre 4. Extension et études
des MIPs électrochimiques à
des monomères aromatiques**

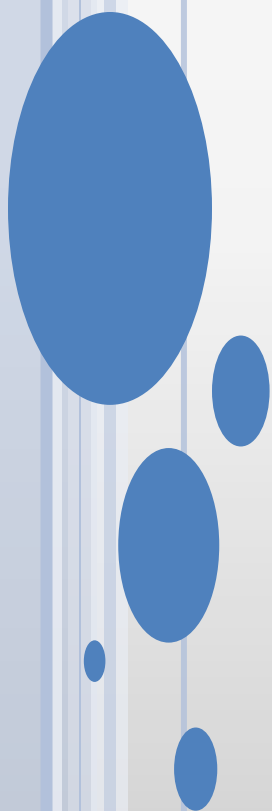


Table des matières

1. Polymérisation par précipitation avec un four d'hybridation et caractérisation morphologique	106
1.1. Polymérisation avec un four d'hybridation	106
1.2. Caractérisation par analyse élémentaire	110
1.3. Propriétés texturales par adsorption-désorption de diazote (BET)	111
1.4. Stabilité thermique	113
2. Propriétés d'adsorption	114
2.1. Cinétique d'adsorption.....	115
2.2. Isothermes d'adsorption.....	116
2.3. Application des modèles théoriques d'adsorption.....	118
3. Sélectivité croisée.....	118
4. Influence de la matière organique.....	119
5. Recyclage	120
6. Etude électrochimique	121
6.1. Evaluation du comportement de l'électrode à base de MIP.....	121
6.2. Propriétés électrochimiques en présence du BaP	123
7. Conclusion.....	125
8. Références.....	127

Dans ce chapitre, le mode de synthèse des polymères a été modifié. La polymérisation par précipitation a cette fois été réalisée au moyen d'un four d'hybridation (ou roller). Une agitation homogène du milieu réactionnel est ainsi réalisée, assurant une montée en température plus efficace. Cette technique permet de produire plusieurs lots de polymères dans des conditions identiques. La quantité produite est donc plus importante que par la polymérisation par précipitation par distillation.

Les polymères synthétisés par cette technique l'ont été en introduisant de nouveaux monomères : la 4-vinylpyridine (4VP) et le divinylbenzène (DVB). En effet, les travaux de Lai *et al.* ont montré que l'utilisation de ces deux monomères permettaient d'augmenter les performances des MIPs en termes de facteur d'empreinte, sélectivité et capacité d'adsorption [1] (Tableau 2, Chapitre 2). Les cycles aromatiques présents dans ces composés interagissent via des interactions de type π - π avec le benzo(a)pyrène. Par ailleurs, le DVB est connu pour donner des particules sphériques homogènes par polymérisation par précipitation [2]. Ainsi, trois MIPs (et NIPs correspondants) : VFc-4VP-EDMA, VFc-DVB et VFc-4VP-EDMA ont été préparés avec le roller. A titre de comparaison, les MIP et NIP VFc-EDMA ont également été synthétisés dans les mêmes conditions que le MIP6 et le NIP6, obtenus par polymérisation par précipitation distillation. L'objet de cette étude est d'évaluer l'influence de l'introduction d'un co-monomère fonctionnel et de la nature de l'agent réticulant sur les propriétés des matériaux.

1. Polymérisation par précipitation avec un four d'hybridation et caractérisation morphologique

1.1. Polymérisation avec un four d'hybridation

La polymérisation par précipitation par distillation présente l'avantage de produire des particules de polymères en peu de temps par rapport à la technique traditionnelle. En revanche, la quantité de particules de polymères est limitée à environ 500 mg par synthèse de par la taille du Dean-Stark et du volume du milieu réactionnel. Une autre technique d'agitation utilisée pour la polymérisation par précipitation est une agitation selon l'axe du récipient de réaction. Cette technique permet de favoriser le chauffage homogène du milieu et d'éviter aux particules de coaguler [2–4]. Elle présente de nombreux avantages tels qu'une agitation douce et homogène, un contrôle de température également homogène et la possibilité de préparer simultanément plusieurs lots de polymères dans les mêmes conditions. La quantité de MIP synthétisé en une fois est donc plus importante, diminuant ainsi le temps de préparation par rapport à la précipitation par distillation, à quantité produite égale.

La polymérisation par précipitation a été réalisée dans un four d'hybridation, modèle UVP HB-1000 Hybridizer (fournisseur UVP, Figure 1). Les tubes utilisés sont en verre Pyrex de 35 mm de diamètre (120 mL de volume). Une rampe de température de 30 à 80°C a été appliquée en 2 heures (Partie expérimentale), avec une rotation horizontale suivant l'axe du tube à 8 tours par minute, puis

la température a été maintenue à 80°C pendant une vingtaine d'heures. Les résultats sont résumés dans le tableau 1 et les clichés MEB des polymères sont présentés sur les figures 2 et 3.



Figure 1. Four d'hybridation (source: www.uvp.com/hybridizer).

Tableau 1. Résultats de polymérisation par précipitation avec un four d'hybridation avec les rapports molaires : BaP/VFc/EDMA 1/5/25 ; BaP/VFc/4VP/EDMA 1/2,5/2,5/25 ; BaP/VFc/DVB 1/5/25 et BaP/VFc/4VP/DVB 1/2,5/2,5/25 pour les MIPs et des conditions identiques sans BaP pour les NIPs.

Polymère	solvant, %v/v		rendement (%)	D _n ¹ (nm)	CV ² (%)	Figure
	ACN	TOL				
MIP VFc-EDMA	70	30	59	580 ± 170	29	2(a)
NIP VFc-EDMA	70	30	80	210 ± 60	29	2(b)
MIP VFc-4VP-EDMA	95 (heptane)	5	40	Non mesuré		2(c)
NIP VFc-4VP-EDMA	95 (heptane)	5	40			2(d)
MIP VFc-DVB	95	5	30	220 ± 40	19	3(a)
NIP VFc-DVB	95	5	40	250 ± 90	37	3(b)
MIP VFc-4VP-DVB	95	5	26	300 ± 150	49	3(c)
NIP VFc-4VP-DVB	95	5	28	570 ± 240	43	3(d)
MIP6*	70	30	33	1500 ± 400	26	Voir le chapitre 2
NIP6*	70	30	37	1800 ± 800	45	

* Pour rappel, polymères synthétisés par polymérisation par précipitation-distillation et décrits dans le chapitre 2.

¹ Le diamètre moyen des particules (D_n) est déterminé à partir de clichés pris au MEB de 100 particules et à l'aide du logiciel SmarTiff.

² Coefficient de variation ou CV, exprimé en pourcentage, est défini par la taille moyenne des particules sur l'écart-type (CV,% = D_nx 100/σ).

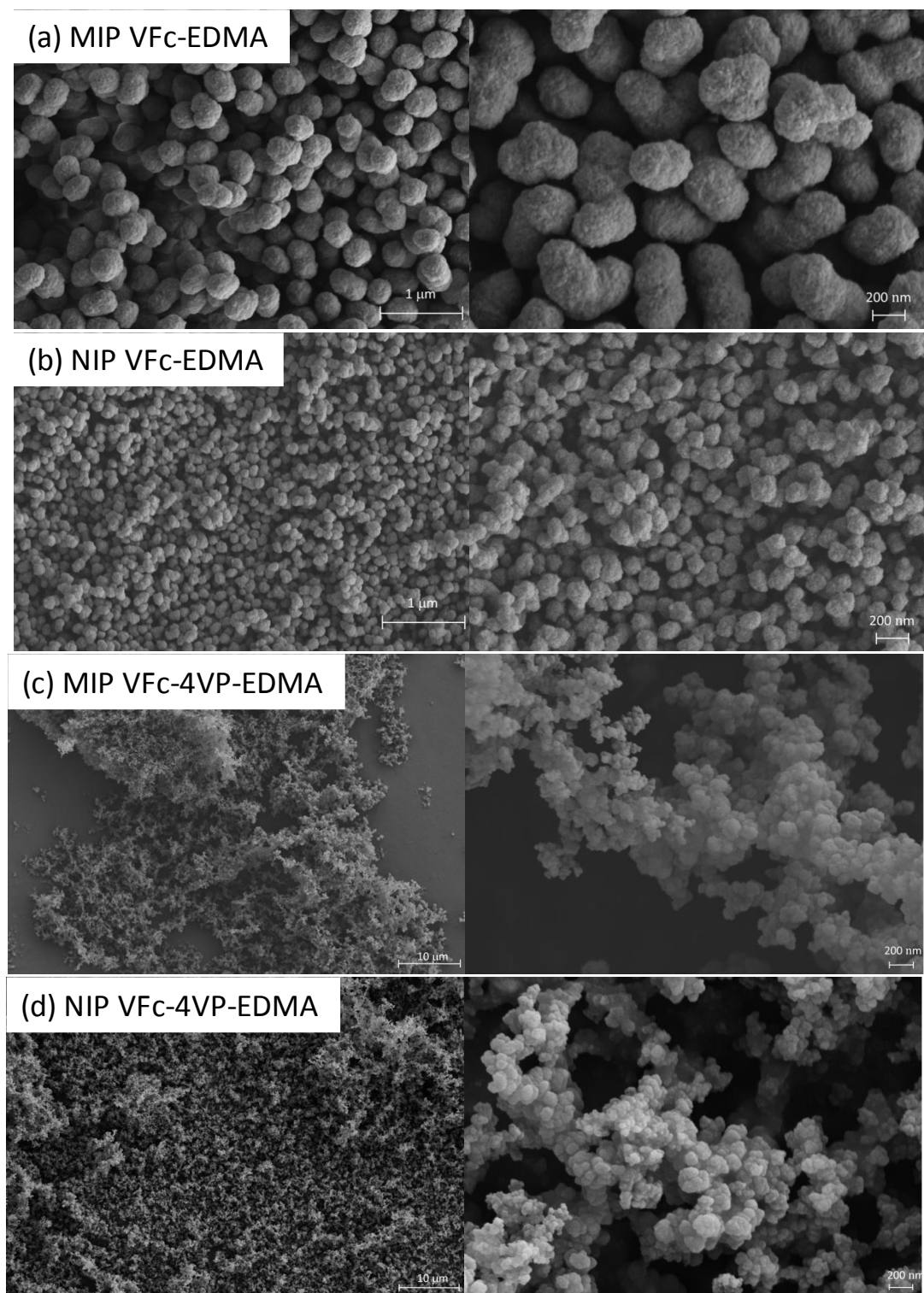


Figure 2. Clichés MEB des polymères MIPs et NIPs synthétisés dans le four d'hybridation : (a) MIP VFc-EDMA, (b) NIP VFc-EDMA, (c) MIP VFc-4VP-EDMA et (d) NIP VFc-4VP-EDMA.

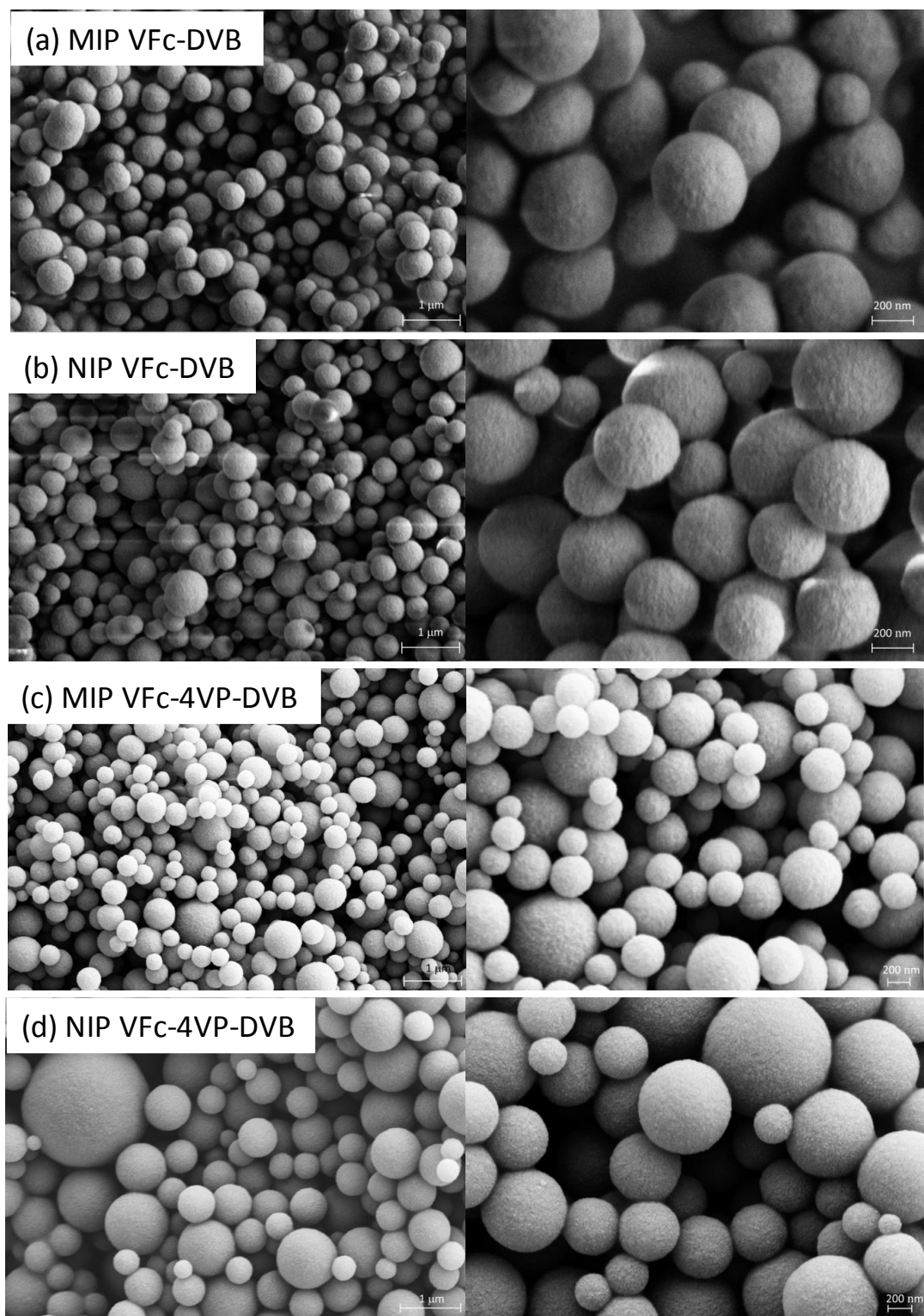


Figure 3. Clichés MEB des polymères MIPs et NIPs synthétisés dans le four d'hybridation : (a) MIP VFc-DVB, (b) NIP VFc-DVB, (c) MIP VFc-4VP-DVB et (d) NIP VFc-4VP-DVB.

Les polymères VFc-EDMA ont été préparés dans un mélange 70/30 acétonitrile/toluène, identique au MIP6 décrit dans les chapitres précédents. Cette condition permet de comparer les résultats obtenus par cette technique et par la polymérisation par précipitation par distillation. Les particules obtenues sont plus petites en taille et présentent une forme de coalescence de particules sphériques. Le rendement de réaction est meilleur, 59% pour le MIP contre 33% pour le MIP6. Par ailleurs, le volume utilisé pour la polymérisation par précipitation par distillation est limité par la taille du ballon (40 mL) avec un temps de préparation de 3 heures alors que, dans un tube de polymérisation par distillation dans le four d'hybridation, le volume de solvant peut atteindre 100 mL. La polymérisation dure en général 24 heures et il est possible de réaliser 10 polymérisations simultanément, dans des conditions strictement identiques, ce qui permet de gagner un facteur temps de 3 avec une meilleure reproductibilité.

Dans le cas où la 4-vinylpyridine a été ajoutée comme co-monomère fonctionnel associée à l'EDMA, aucun précipité n'a été obtenu en utilisant des mélanges d'acétonitrile et de toluène, dans différentes proportions. Le seul mélange permettant de faire précipiter des particules de polymères est un mélange heptane/toluène (95/5). Toutefois, les particules obtenues sont sous la forme d'agrégats (Figures 2(c) et 2(d)). En ce qui concerne les polymères préparés à partir du divinylbenzène, des particules sphériques ont été obtenues en utilisant un mélange 95/5 d'acétonitrile/toluène (Figure 3). Dans tous les cas, l'emploi du roller a permis de produire des particules de polymères de taille submicronique avec des rendements légèrement plus faibles dans le cas de l'utilisation du DVB.

1.2. Caractérisation par analyse élémentaire

L'analyse élémentaire, effectuées par le Service Central d'Analyse Laboratoire du CNRS de Solaize USR-59C/CNRS, confirme la présence des différents monomères et permet de calculer leur taux d'incorporation molaire (Tableau 2).

Tableau 2. Fractions massiques des différents éléments et fractions molaires des monomères déterminées par analyse élémentaire et par calcul théorique.

%w/w	C	Fe	H	N	α_{VFc} (% mol)	α_{4VP} (% mol)	α_{EDMA} OU α_{DVB} (% mol)
MIP VFc-EDMA	60,4	4,9	7,0	/	19	/	81
NIP VFc-EDMA	60,4	4,6	7,0	/	18	/	82
<i>Théorique</i> ³	<u>61,5</u>	<u>4,4</u>	<u>7,3</u>	/	<u>17</u>	/	<u>83</u>
MIP VFc-4VP-EDMA	61,6	2,1	7,1	0,8	8	8	84
NIP VFc-4VP-EDMA	61,9	2,1	7,0	0,9	8	8	84

³Les valeurs théoriques sont déterminées à partir des quantités introduites.

%w/w	C	Fe	H	N	α_{VFc} (% mol)	α_{4VP} (% mol)	α_{EDMA} OU α_{DVB} (% mol)
<i>Théorique</i>	<u>62,2</u>	<u>2,4</u>	<u>7,0</u>	<u>0,6</u>	<u>8</u>	<u>8</u>	<u>84</u>
MIP VFc-DVB	85,5	1,7	7,5	/	9	/	91
NIP VFc-DVB	84,3	1,9	7,6	/	9	/	91
<i>Théorique</i>	<u>86,3</u>	<u>6,5</u>	<u>7,2</u>	<u>/</u>	<u>17</u>	<u>/</u>	<u>83</u>
MIP VFc-4VP-DVB	89,3	0,9	7,8	1,1	2	11	87
NIP VFc-4VP-DVB	61,9	2,1	7,0	0,9	3	11	86
<i>Théorique</i>	<u>88,3</u>	<u>3,5</u>	<u>7,4</u>	<u>0,9</u>	<u>8</u>	<u>8</u>	<u>84</u>

La détermination de la quantité de fer et d'azote par analyse élémentaire permet d'évaluer respectivement les taux d'incorporation du VFc et de la 4VP. Pour les copolymères à base d'EDMA, ces taux sont en accord avec les valeurs théoriques. Par ailleurs, quels que soient les copolymères, la 4VP est introduite selon les proportions attendues. En revanche, pour les copolymères réticulés avec le DVB, les résultats montrent que le VFc n'est pas correctement incorporé. M.H George et G.F. Hayes ont observé des comportements inhabituels du VFc tels que le degré de polymérisation qui n'était pas dépendant de la concentration de l'initiateur mais également la mauvaise incorporation de ce monomère avec le styrène [5]. Ils ont émis l'hypothèse d'un transfert électronique intramoléculaire de l'atome de fer au centre radicalaire générant une extrémité anionique qui donne lieu à une réaction de terminaison intramoléculaire [6].

1.3. Propriétés texturales par adsorption-désorption de diazote (BET)

Afin d'observer l'influence des conditions de synthèse et de la présence de la molécule empreinte sur les propriétés structurales des différents polymères, des mesures d'adsorption/désorption du diazote ont été réalisées par le Laboratoire des Technologies de Séparation de l'Université de Lappeenranta en Finlande. Ces mesures ont permis d'évaluer pour chaque support la surface spécifique, le volume poreux ainsi que le diamètre des pores. La figure 4 présente les isothermes d'adsorption et de désorption de molécules de diazote pour les différents MIPs et NIPs. Le volume poreux, les surfaces spécifiques théoriques et expérimentales sont présentées dans le tableau 3.

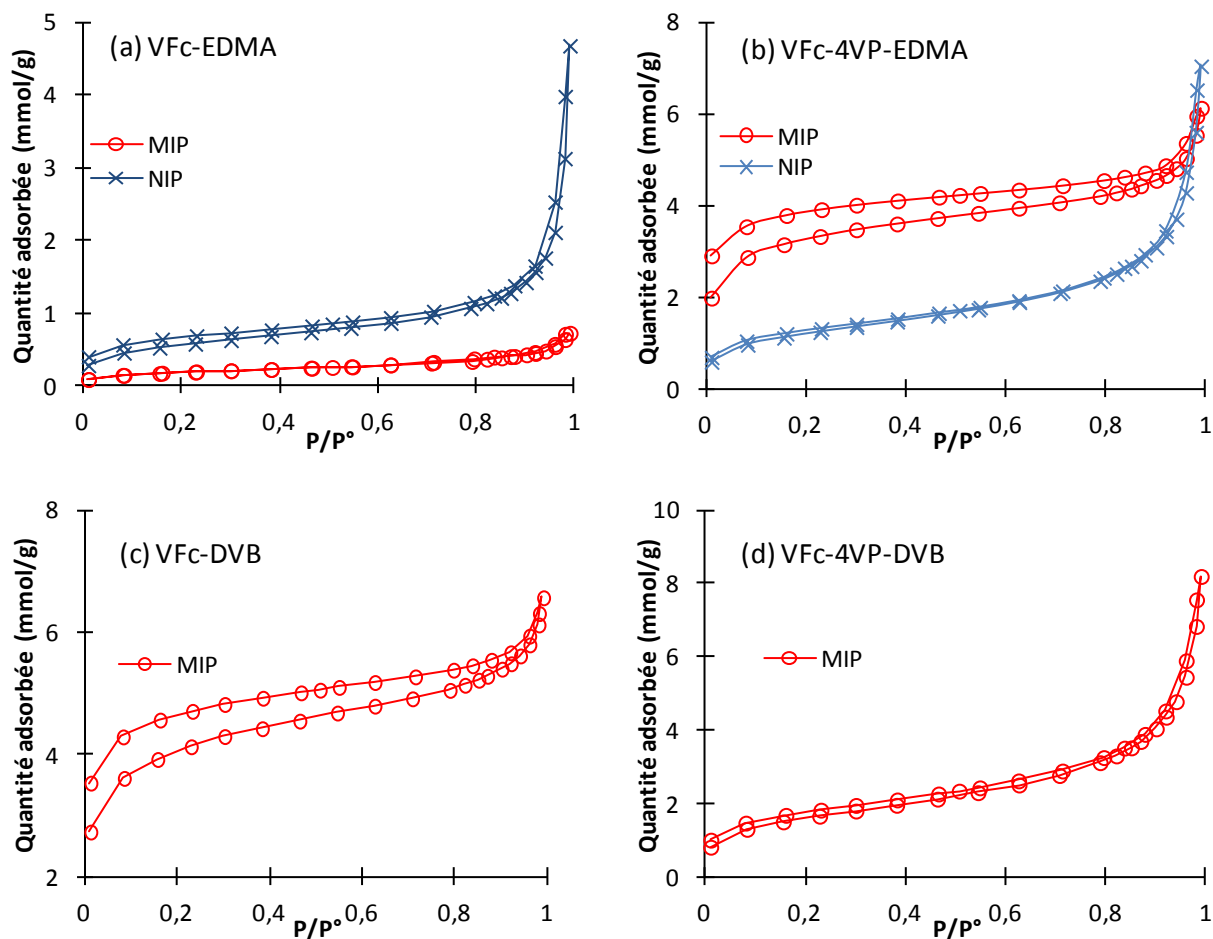


Figure 4. Isothermes d'adsorption/désorption du diazote de (a) VFc-EDMA, (b) VFc-4VP-EDMA, (c) MIP VFc-DVB, et (d) MIP VFc-4VP-DVB.

L'isotherme d'adsorption/désorption du diazote du MIP VFc-EDMA montre qu'il n'est pas poreux, résultat confirmé par comparaison de la surface spécifique déterminée expérimentalement (S_{BET}) proche de celle calculée à partir du diamètre moyen des particules ($S_{théorique}$). En revanche, les autres copolymères présentent des isothermes de type II selon la classification de l'IUPAC (Annexe 1), caractéristiques de matériaux non poreux ou macroporeux. Toutefois, compte-tenu de la différence entre les valeurs de surface spécifique mesurées et calculées, une macroporosité peut être présente, notamment pour le MIP VFc-DVB et le MIP VFc-4VP-DVB. Il en est de même pour les copolymères à base de VFc-4VP-EDMA, pour lesquels le diamètre moyen des particules n'a pas pu être déterminé.

Tableau 3. Résultats des mesures de surface spécifique par adsorption et désorption d'azote (S_{BET}), et valeurs théoriques ($S_{\text{théorique}}$).

Polymère	D_n (MEB), nm	$S_{\text{théorique}}^4$, m ² /g	S_{BET} , m ² /g	V_p , cm ³ /g
MIP VFc-EDMA	580 ± 170	10,3±3,0	14,6	0,022
NIP VFc-EDMA	210 ± 60	28,6±8,2	43,8	0,153
MIP VFc-4VP-EDMA	Non mesuré	Non mesuré	241,5	0,132
NIP VFc-4VP-EDMA	Non mesuré	Non mesuré	93,7	0,225
MIP VFc-DVB	220 ± 40	26,8±5,0	125,1	0,258
NIP VFc-DVB	250 ± 90	24±8,6	Non mesuré	Non mesuré
MIP VFc-4VP-DVB	300 ± 150	20±10	298,2	0,161
NIP VFc-4VP-DVB	570± 240	10,5±4,4	Non mesuré	Non mesuré
NIP6	1800 ± 800	3,3±1,5	6,5	Non mesuré

Dans le cas du NIP VFc-EDMA, la surface spécifique est environ 7 fois supérieure à celle du NIP6 obtenu par polymérisation par précipitation par distillation, sensiblement en accord avec le rapport de 9 des diamètres moyens des particules. Pour une taille de particules comparable, environ 200 nm, l'utilisation du DVB en tant qu'agent réticulant à la place de l'EDMA (couples VFc-EDMA / VFc-DVB) accroît significativement la surface spécifique et le volume poreux. A taux de réticulation équivalent, l'addition de la 4VP comme co-monomère fonctionnel augmente les surfaces spécifiques d'un facteur compris entre 2 et 16. L'interprétation de ces données n'est pas aisée car les variations de porosité peuvent être liées à l'utilisation de solvants porogènes différents, et également aux taux d'incorporation des monomères.

1.4. Stabilité thermique

Les analyses thermogravimétriques ont été réalisées sous diazote et à vitesse de chauffage constante (20°C/min). Les thermogrammes présentent la perte de masse, et sa dérivée, en fonction de la température (Figure 5).

⁴ La surface spécifique théorique est déterminée à partir de l'équation $S_{\text{spé}} = 6/(\rho \times D_n)$ avec ρ la densité du matériau (1 g/cm³) et D_n le diamètre moyen des particules obtenu par microscopie électronique à balayage.

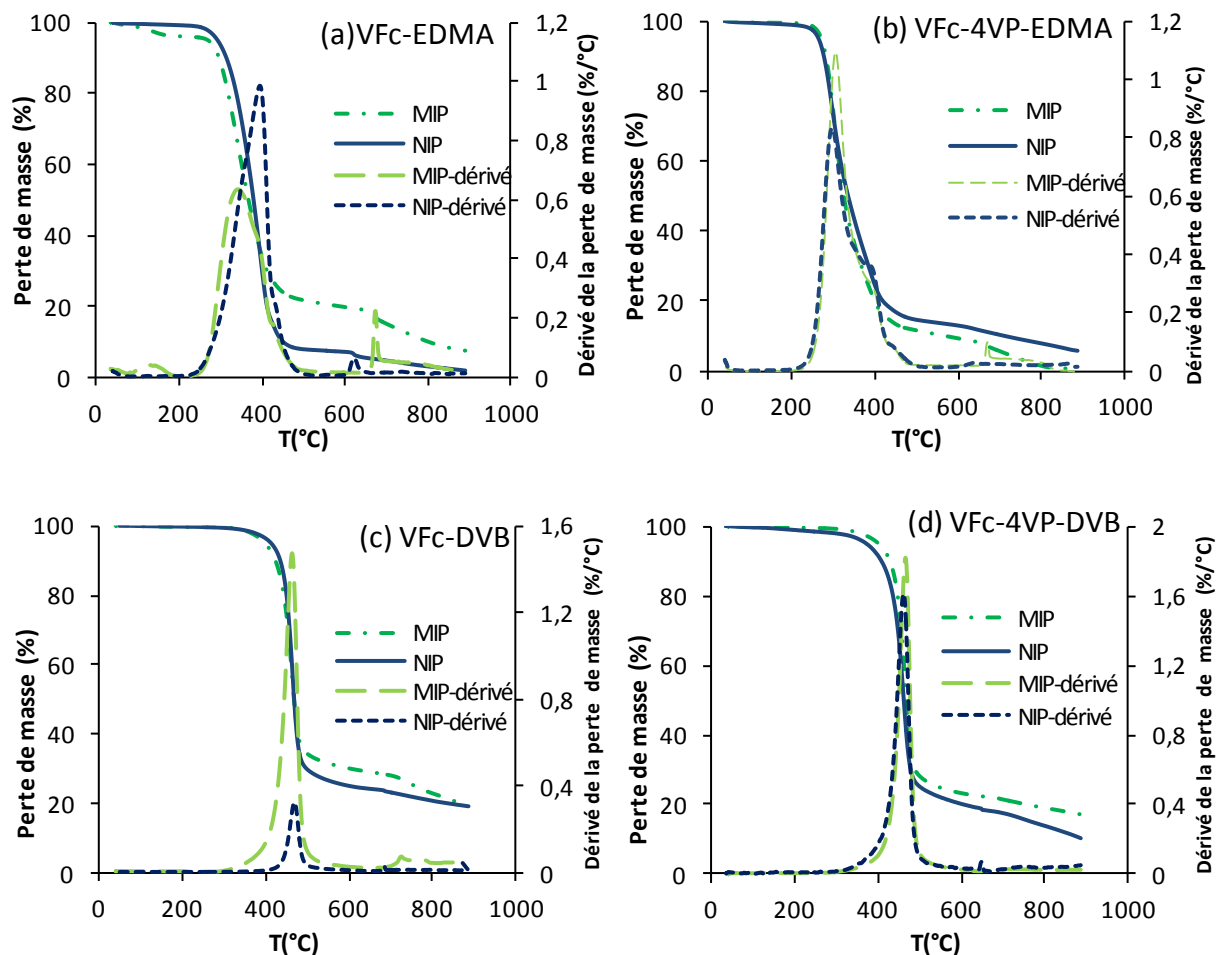


Figure 5. Superposition des thermogrammes des MIPs et NIPs, (a) VFc-EDMA, (b) VFc-4VP-EDMA, (c) VFc-DVB, et (d) VFc-4VP-DVB, (sous diazote, 20°C/min).

D'après les thermogrammes obtenus, un comportement thermique identique entre chaque MIP et NIP correspondant est constaté. Les VFc-EDMA et VFc-4VP-EDMA commencent à se dégrader à partir de 250°C. Les polymères à base de DVB sont plus résistants thermiquement avec des températures de début de dégradation à 320°C pour le MIP VFc-DVB, 410°C pour le NIP VFc-DVB, et 320°C pour le VFc-4VP-DVB.

2. Propriétés d'adsorption

L'étude des propriétés d'adsorption comprend tout d'abord une étude de cinétique d'adsorption dont le but est de déterminer le temps de contact nécessaire entre un polymère et une solution de benzo(a)pyrène pour atteindre l'adsorption maximale. Ensuite, des isothermes d'adsorption sont réalisées et deux modèles d'adsorption sont appliqués à ces isothermes dans l'objectif de déterminer plus précisément les comportements d'adsorption. L'étude est conclue par

l'évaluation de la sélectivité croisée en présence d'interférents de type HAP et de matière organique. Toutes les mesures sont réalisées en mode batch, en milieu majoritairement aqueux contenant 1% en volume d'acétonitrile, le détail étant décrit dans la partie expérimentale.

2.1. Cinétique d'adsorption

Le polymère est mis en contact avec une solution de BaP de concentration égale à 1 mg/L, soit 4 $\mu\text{mol/L}$. Le surnageant est analysé à différents temps de contact, jusqu'à 24 heures (Figure 6).

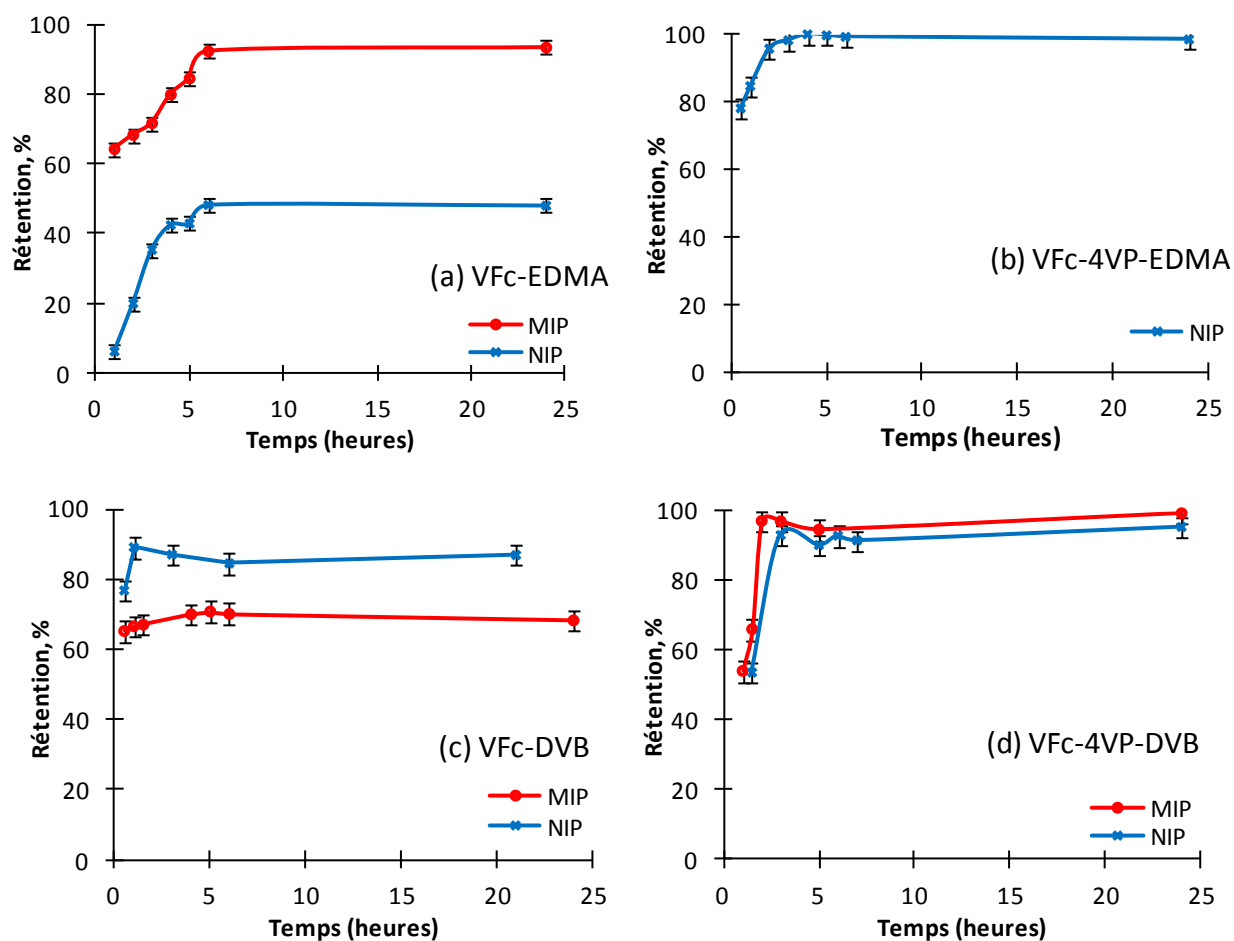


Figure 6. Taux de rétention du BaP par (a) MIP et NIP VFc-EDMA, (b) NIP VFc-4VP-EDMA, (c) MIP et le NIP VFc-DVB, et par (d) MIP et le NIP VFc-4VP-DVB en fonction du temps.

Les quatre types de copolymères MIP et NIP présentent une cinétique d'adsorption similaire. La rétention du BaP augmente fortement dès les premières heures de mise en contact. Elle est maximale et constante après un temps de contact de 6 heures jusqu'à la fin de l'expérience à 24

heures. Ce temps servira de référence pour les études d'adsorption ultérieures comme le temps de mise en contact.

2.2. Isothermes d'adsorption

Les isothermes d'adsorption en fonction de la concentration de BaP des différents polymères sont présentés sur la figure 7. Les valeurs de capacité d'adsorption Q et les facteurs d'empreintes IF sont résumés dans le tableau 4. Les facteurs d'empreinte ont été calculés pour une concentration initiale en BaP fixe de 6 mg/L.

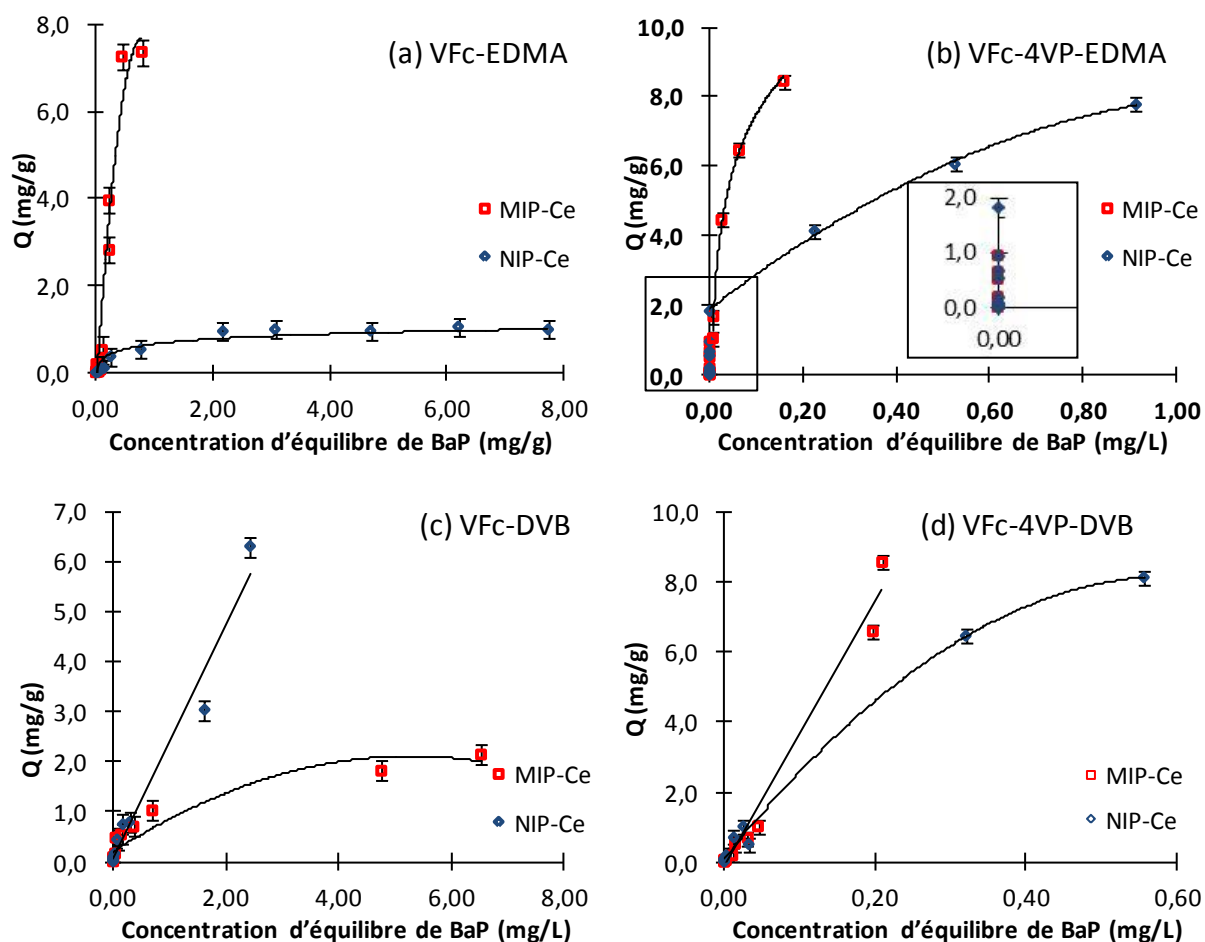


Figure 7. Isothermes d'adsorption des MIPs et NIPs : (a) VFc-EDMA, (b) VFc-4VP-EDMA, (c) VFc-DVB, et (d) VFc-4VP-DVB en fonction de la concentration d'équilibre (C_e) du BaP, milieu eau/acétonitrile 99/1 (v/v).

Deux types d'isothermes d'adsorption sont observés : les isothermes de type « L » et les isothermes de type « H ». Pour les isothermes de type L, le ratio entre la capacité d'adsorption et la concentration de la cible restante en solution, concentration à l'équilibre ou C_e , diminue lorsque cette dernière augmente. Une courbe concave avec un plateau net ou non est obtenue [7,8] (Annexe 2). Les isothermes de type H sont un cas particulier des précédents présentant une pente initiale très élevée. Les isothermes des polymères MIP et NIP VFc-EDMA (Figure 7(a)), MIP et NIP VFc-DVB (Figure 7(c)) ainsi que MIP et NIP VFc-4VP-DVB (Figure 7(d)) peuvent être assimilés à des isothermes de type L, alors que les isothermes des polymères MIP et NIP VFc-4VP-EDMA (Figure 7(b)) sont de type H. Néanmoins, hormis pour le NIP VFc-EDMA et le MIP VFc-DVB, aucun plateau net n'est observé. Ceci peut s'expliquer par le fait que la concentration en BaP introduite, limitée par la solubilité du BaP dans le mélange eau/acétonitrile 99/1, n'a pas été assez élevée pour permettre d'atteindre le plateau. Les capacités d'adsorption reportées dans le tableau 4 ont été déterminées comme les valeurs maximales atteintes sur les isothermes.

Tableau 4. Valeurs de capacité d'adsorption (Q) et facteurs d'empreinte (IF) des différents polymères.

	Q (mg/g)		Q (mg/g)	IF^5
MIP VFc-EDMA	7,3±0,2	NIP VFc-EDMA	1,0±0,2	5,8
MIP VFc-4VP-EDMA	8,5±0,2	NIP VFc-4VP-EDMA	7,8±0,2	1,1
MIP VFc-DVB	2,0±0,2	NIP VFc-DVB	6,3±0,2	0,6
MIP VFc-4VP-DVB	8,6±0,2	NIP VFc-4VP-DVB	8,1±0,2	1,0
MIP6	3,7±0,1	NIP6	2,2±0,1	1,7

Les polymères à empreintes présentant les meilleures capacités d'adsorption sont les MIPs VFc-4VP-DVB et VFc-4VP-EDMA suivis du MIP VFc-EDMA. Le meilleur effet d'empreinte est obtenu pour le couple VFc-EDMA, qui est bien supérieur aux VFc-4VP-EDMA et VFc-4VP-DVB. Pour ces deux derniers le facteur d'empreinte est proche de 1, révélant l'absence d'effet d'empreinte. En revanche, le polymère non-imprimé du couple VFc-DVB adsorbe bien mieux le BaP que le polymère à empreintes : dans ce cas, il n'y a donc pas d'intérêt à synthétiser le MIP.

En ce qui concerne la comparaison entre l'utilisation de l'EDMA et du DVB, les observations sont en accord avec les études de W.L. Ho et *al.* [9]. Ces auteurs ont comparé les polymères 4VP-EDMA et 4VP-DVB pour le BaP et ils ont trouvé une meilleure capacité d'adsorption pour le MIP 4VP-DVB (20,78 $\mu\text{g/g}$, IF 1,34) mais un meilleur effet d'empreinte pour les polymères 4VP-EDMA (4,77 $\mu\text{g/g}$, IF 2,30). En ce qui concerne l'effet de la 4VP, le remplacement d'une partie du VFc par ce deuxième monomère fonctionnel augmente sensiblement la capacité d'adsorption. Néanmoins, elle n'améliore pas l'effet d'empreinte.

⁵ Déterminés à la concentration initiale en BaP de 6 mg/L.

2.3. Application des modèles théoriques d'adsorption

Pour mieux comprendre le phénomène d'adsorption, les deux modèles d'adsorption, simples, Langmuir et Freundlich (décrits dans le chapitre 3), sont appliqués. Le tableau 5 récapitule les coefficients de corrélation et les constantes de Langmuir ou de Freundlich obtenues pour chaque polymère. Les tracés selon ces deux modèles sont présentés en Annexe 7 (figures 5 à 8).

Tableau 5. Constantes et coefficients de corrélation des modèles de Langmuir et de Freundlich appliqués aux polymères étudiés.

Polymère	Q (mg/g) <i>expérimentale</i>	Type	Langmuir			Freundlich		
			R^2	K_L	Q_{max} (mg/g)	R^2	K_F	m
MIP VFc-EDMA	7,3±0,2	L	0,4373	184,21	0,09	0,8918	0,10	0,98
NIP VFc-EDMA	1,0±0,2	L	0,9798	2,58	0,43	0,9434	0,40	0,76
MIP VFc-4VP-EDMA	8,5±0,2	H	0,9966	31,47	9,93	0,9903	16,42	0,35
NIP VFc-4VP-EDMA	7,8±0,2	H	0,9923	2,95	10,32	1,0000	8,09	0,45
MIP VFc-DVB	2,0±0,2	L	0,9891	0,37	2,59	0,9722	1,11	0,31
NIP VFc-DVB	6,3±0,2	L	0,9868	0,48	5,00	0,8622	2,29	0,58
MIP VFc-4VP-DVB	8,6±0,2	L	0,7706	24,65	0,90	0,9222	20,72	0,98
NIP VFc-4VP-DVB	8,1±0,2	L	0,9204	36,34	2,17	0,9296	13,83	0,74

Le modèle de Langmuir simple, adsorption monocouche homogène, est plus approprié pour les polymères NIP VFc-EDMA et MIP VFc-4VP-EDMA. Les valeurs de capacité d'adsorption maximale obtenues par l'application de ce modèle sont du même ordre de grandeur que les valeurs expérimentales. Pour les autres polymères, c'est le modèle de Freundlich qui est le plus approprié, modèle basé sur une fonction empirique pour une adsorption multicouche non-idéale sur une surface hétérogène avec m l'indice d'hétérogénéité qui varie entre 0 et 1.

3. Sélectivité croisée

L'étude de la sélectivité croisée a été faite sur le couple VFc-EDMA car celui-ci présente le meilleur facteur d'empreinte. Les polymères sont mis en contact avec une solution contenant à la fois le BaP et un autre HAP. Le milieu de mesure est un mélange eau/acétonitrile = 99/1 v/v avec la concentration du BaP équivalente à celle de l'autre HAP et est égale à 0,5 $\mu\text{mol/L}$ (sauf dans le cas du DaA où les concentrations en BaP et en DaA sont de 0,01 $\mu\text{mol/L}$). Les différents coefficients sont récapitulés dans le tableau 6.

Pour tous les MIPs, les faibles valeurs des coefficients de sélectivité (k) montrent que l'effet de reconnaissance du BaP par rapport aux HAPs mis en concurrence est faible. Toutefois, les coefficients de sélectivité relative (k') supérieurs à 1 pour le phénanthrène, le fluoranthène et le

pyrène indiquent un effet d'empreinte pour le MIP VFc-EDMA, effet nettement plus marqué dans le cas du phénanthrène.

Tableau 6. Coefficients de sélectivité (k) et coefficients de sélectivité relative (k') pour chaque espèce HAP pour le polymère VFc-EDMA.

	k	k	k'
	MIP	NIP	
Fluorène	0,11	0,15	0,73
Phénanthrène	1,33	0,02	66,5
Anthracène	0,03	0,63	0,05
Fluoranthène	1,39	0,76	1,83
Pyrène	0,90	0,47	1,91
Chrysène	0,38	0,62	0,61
Dibenzo(a,h)anthracène	2,60	4,30	0,60

4. Influence de la matière organique

Dans cette étude, une quantité croissante en sel d'acide humique (entre 0 et 4 mg/L) est mise en contact avec 10 mg de polymère en présence de BaP à 0,5 mg/L dans un milieu eau/acétonitrile 99/1 (v/v). Cette concentration initiale en BaP est choisie de façon à avoir sa rétention proche de 100% (déterminée à partir des isothermes d'adsorption). L'ensemble est agité avec un agitateur orbitalaire à 250 rpm.

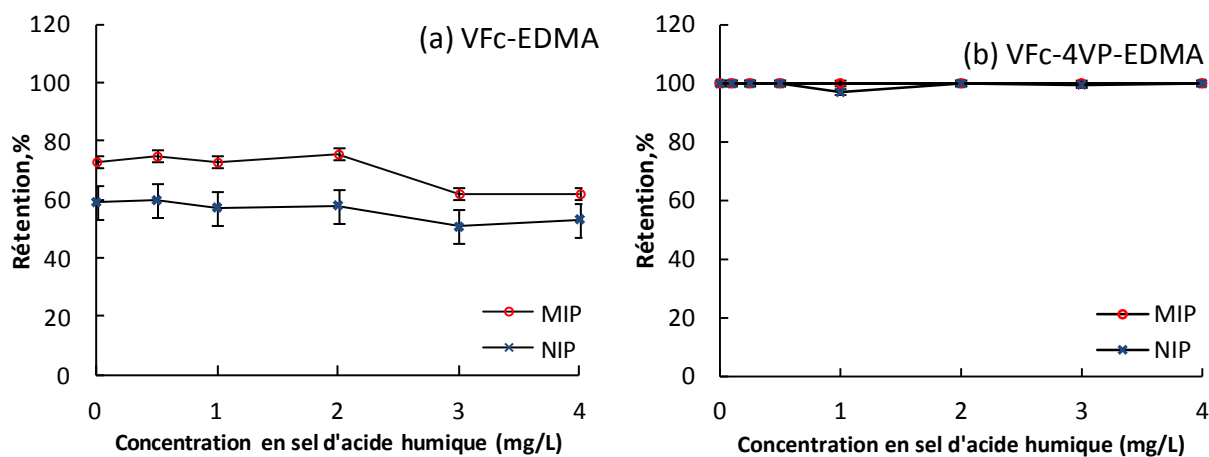


Figure 8. Evolution de la rétention du BaP des (a) MIP et NIP VFc-EDMA, et des (b) MIP et NIP VFc-4VP-EDMA, en présence de sel d'acide humique.

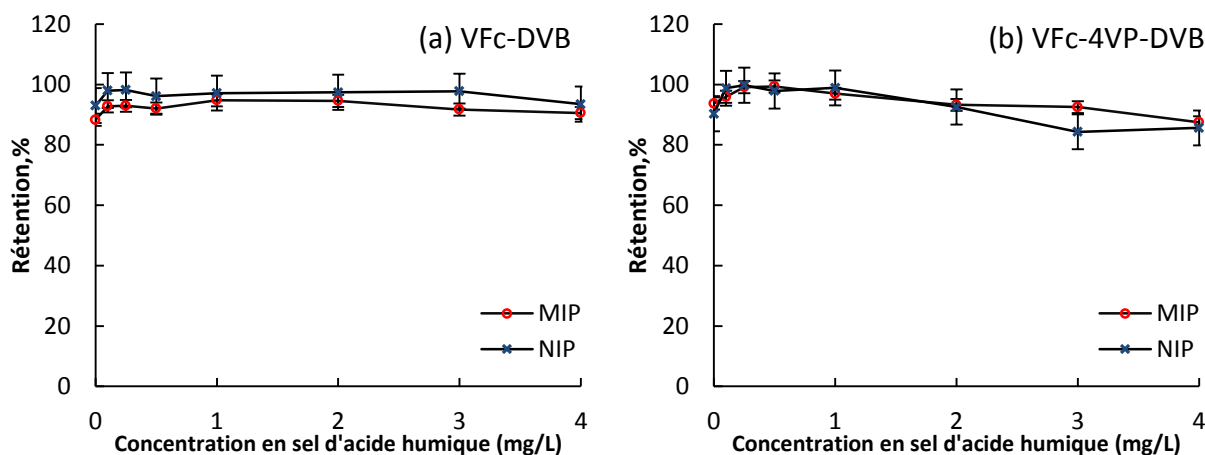


Figure 9. Evolution de la rétention du BaP des (a) MIP et NIP VFc-DVB, et des (b) MIP et NIP VFc-4VP-DVB, en présence de sel d'acide humique.

D'après les figures 8 et 9, la rétention du BaP par les copolymères VFc-4VP-EDMA et VFc-DVB n'est pas affectée par la présence de sel d'acide humique. En revanche, elle diminue de près de 15% pour les MIP et NIP VFc-4VP-DVB et de 10% pour les MIP et NIP VFc-EDMA. Ces résultats montrent que ces derniers présentent une adsorption pour la matrice organique au détriment de la cible.

5. Recyclage

Le but de cette étude est de déterminer l'influence de plusieurs cycles d'adsorption et de désorption (lavage) du BaP sur les polymères. Le polymère est mis en contact avec une solution de BaP à 0,5 mg/L dans un milieu eau/acétonitrile 99/1 (v/v). Une fois utilisée, ce même polymère est lavé plusieurs fois pour enlever tout le BaP. Il est remis en contact avec le BaP dans la même condition de température et d'agitation. La rétention ainsi que l'effet d'empreinte sont évaluées en fonction du nombre de cycles. Seuls les polymères VFc-EDMA ont été étudiés car ils présentent un meilleur facteur d'empreinte lors de l'étude de propriétés d'adsorption (Figure 10).

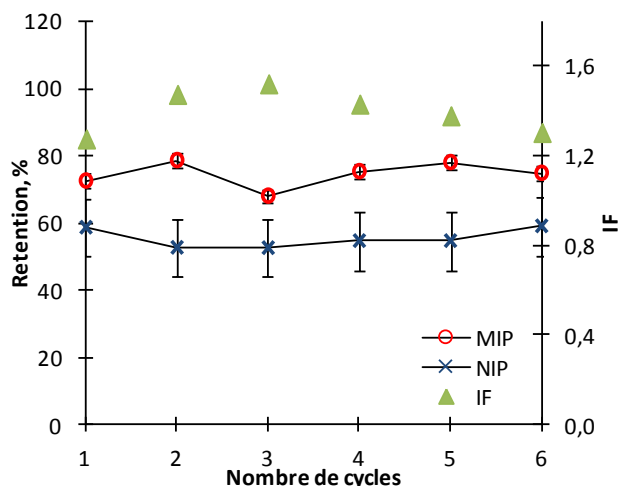


Figure 10. Rétention du BaP et facteur d'empreinte (IF) des polymères VFc-EDMA en fonction des cycles d'adsorption/désorption.

Jusqu'au sixième cycle, les propriétés d'adsorption des polymères restent quasiment inchangées. Par conséquent, le facteur d'empreinte est maintenu constant. Ce résultat permet d'envisager l'utilisation répétée de ces polymères dans des dispositifs de mesure.

6. Etude électrochimique

6.1. Evaluation du comportement de l'électrode à base de MIP

Les voltampérogrammes cycliques des électrodes à pâte de carbone, préparées à partir des MIP VFc-EDMA et VFc-4VP-EDMA et de leurs NIPs correspondants, ont été enregistrés dans l'acétonitrile avec 0,1M de TBAPF₆ comme électrolyte support. Comme pour les MIP6 et NIP6, tous les voltampérogrammes cycliques présentent des pics anodique et cathodique correspondants respectivement à l'oxydation du ferrocène en ferrocénium puis à la réduction du ferrocénium en ferrocène. La différence de potentiel entre les pics anodique et cathodique, quel que soit le MIP ou le NIP étudié, est de l'ordre de 200 mV (Figure 11). Ces résultats sont similaires à ceux des polymères obtenus par polymérisation par précipitation par distillation (chapitre 3).

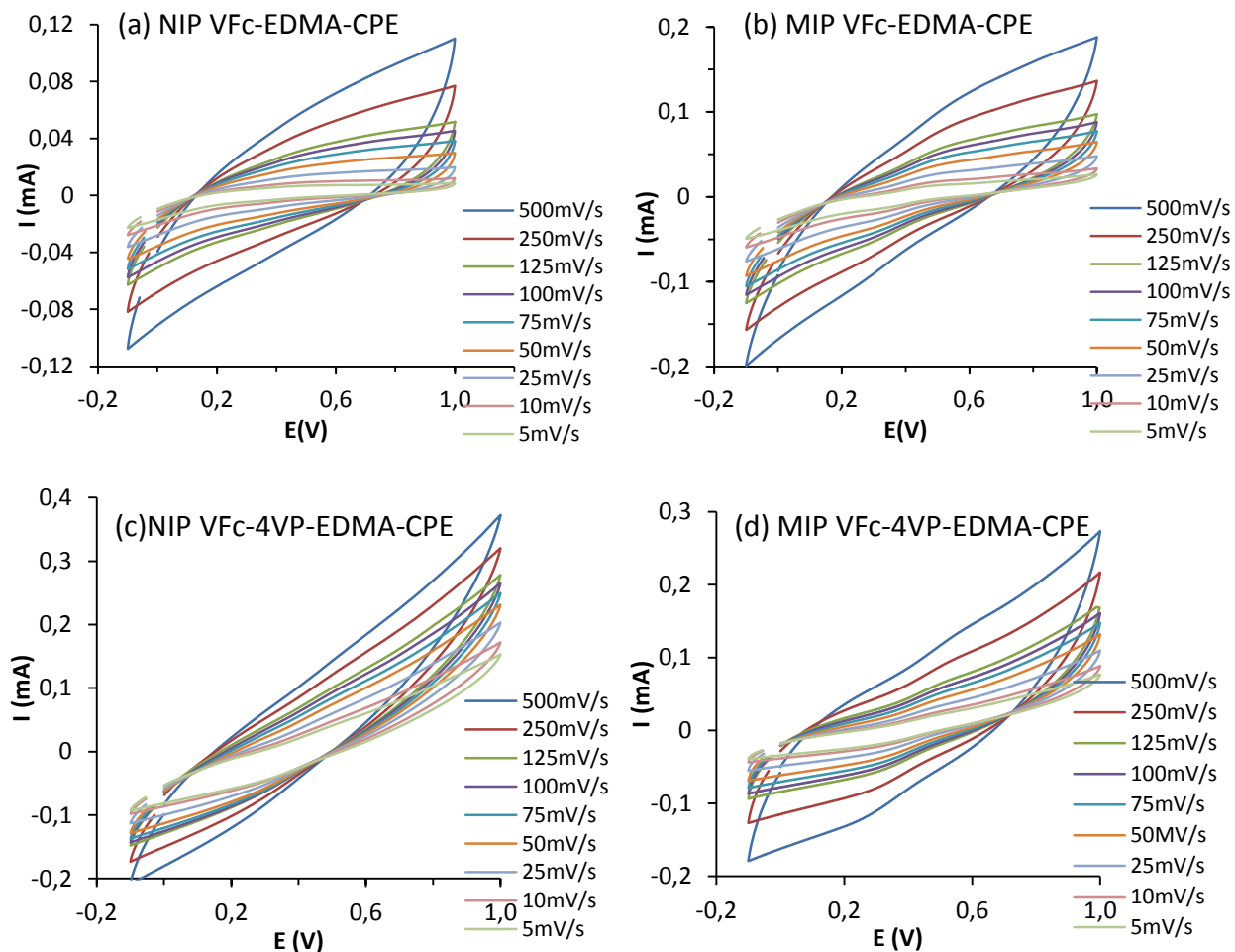


Figure 11. Voltampérogrammes cycliques du (a) NIP VFc-EDMA-CPE, et (b) MIP VFc-EDMA-CPE (c) NIP VFc-4VP-EDMA-CPE, et (d) MIP VFc-4VP-EDMA-CPE dans 0,1M TBAPF₆ dans l'acétonitrile à différentes vitesses de balayage (entre 5 et 500 mV/s, vs ECS).

Les figures 12 et 13 présentent l'évolution du courant anodique en fonction de la vitesse et de la racine carrée de la vitesse de balayage. L'intensité des pics anodiques varie linéairement avec la racine carrée de la vitesse de balayage (entre 5 et 500 mV/s), avec des coefficients de corrélation supérieurs à 0,97, ce qui indique que le système est contrôlé par la diffusion.

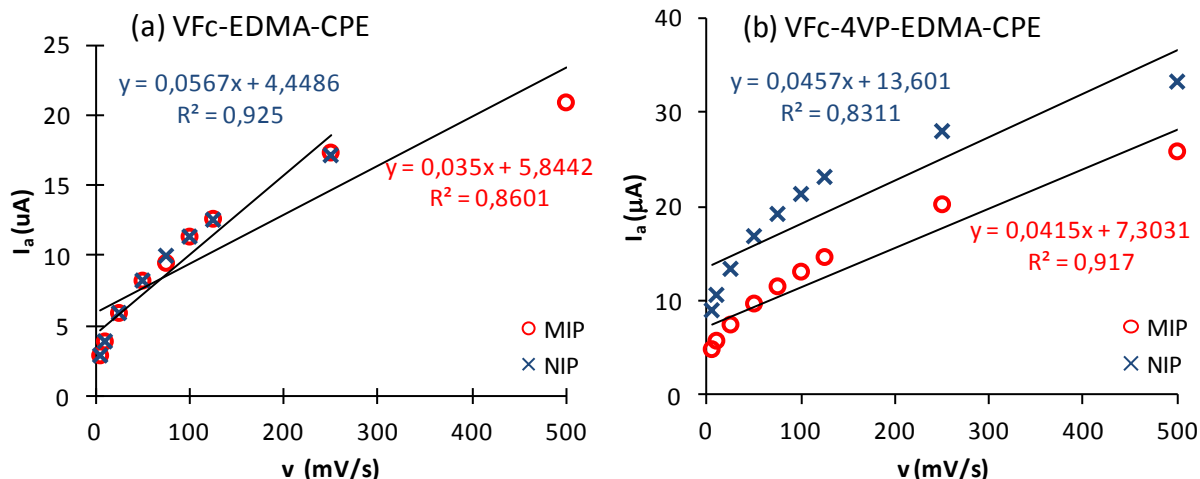


Figure 12. Courants anodiques en fonction de la vitesse de balayage, (a) MIP et NIP VFc-EDMA-CPE, et (b) MIP et NIP VFc-4VP-EDMA.

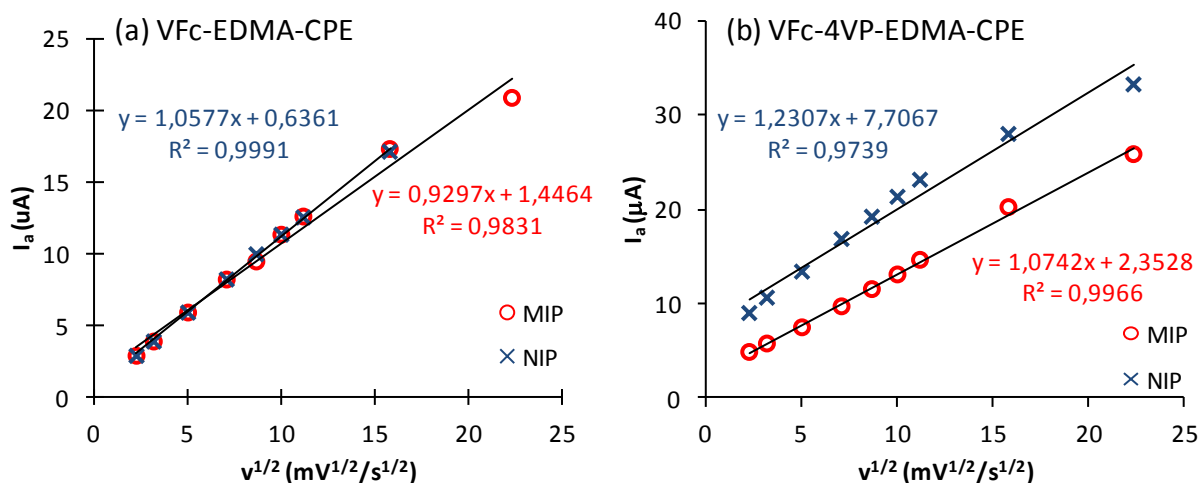


Figure 13. Courants anodiques en fonction de la racine carrée de la vitesse de balayage, (a) MIP et NIP VFc-EDMA-CPE, et (b) MIP et NIP VFc-4VP-EDMA.

6.2. Propriétés électrochimiques en présence du BaP

Dans cette étude, l'électrode de travail, MIP-CPE ou NIP-CPE, est immergée dans 5 mL de solution électrolytique en présence de concentration croissante en BaP de 0 à 4,5 mg/L (soit 18 μM /L) pendant 4 heures pour atteindre l'équilibre d'adsorption, puis la réponse de l'électrode est enregistrée. L'intensité du courant d'oxydation est comparée à celle obtenue en absence de BaP (Figure 14). Cette différence de courant est normalisée par rapport au courant obtenu en absence de BaP (Figure 15).

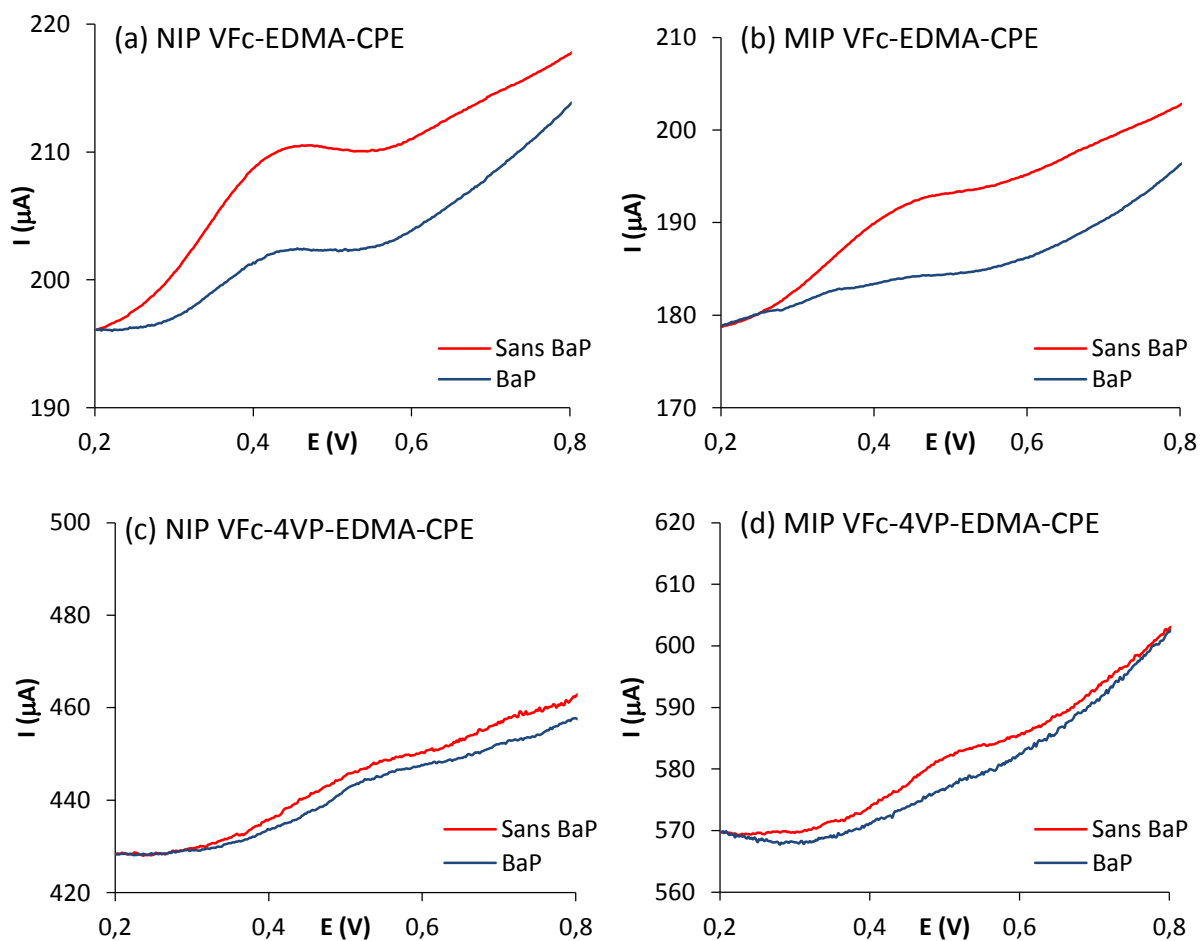


Figure 14. SWV de (a) NIP VFc-EDMA-CPE, (b) MIP VFc-EDMA-CPE, (c) NIP VFc-4VP-EDMA-CPE, et du (d) MIP VFc-4VP-EDMA-CPE avec et sans BaP à 1 mg/L après 4h. Conditions : 150 mV d'amplitude d'impulsion, 2 mV potentiel de saut.

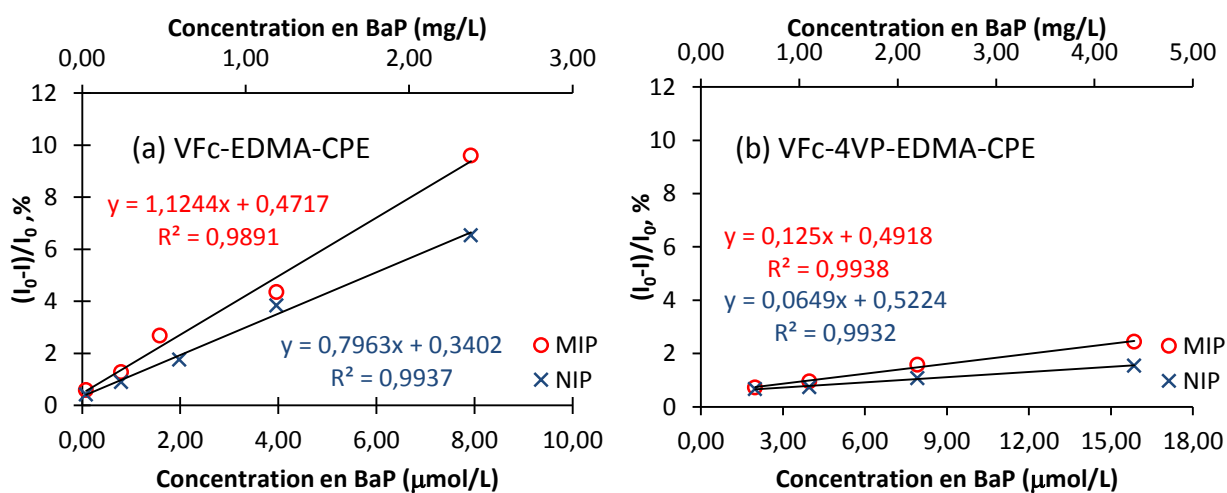


Figure 15. Courbes de courant normalisées exprimées en pourcentage où I est le courant obtenu en présence de BaP et I_0 le courant avant l'ajout de BaP de (a) VFc-EDMA-CPE et (b) VFc-4VP-EDMA.

L'augmentation de la valeur normalisée du courant d'oxydation est proportionnelle à la concentration en BaP présent dans le milieu ($R^2 > 0,989$). La pente de cette fonction linéaire est de $1,12 \mu\text{M}/\%$ pour le MIP VFc-EDMA-CPE et de $0,11 \mu\text{M}/\%$ pour le MIP VFc-4VP-EDMA-CPE ce qui indique que le MIP VFc-EDMA-CPE est plus sensible à la présence du BaP. Pour les deux couples, les MIPs présentent une sensibilité supérieure en présence de BaP par rapport à leur NIP. Le ratio entre la valeur de la pente du MIP par rapport au NIP est de 1,4 pour les VFc-EDMA-CPE et de 1,9 pour les VFc-4VP-EDMA-CPE, respectivement. Les limites de détection (LOD) et de quantification (LOQ) sont déterminées par la méthode des moindres carrés. Les LODs trouvées sont de $0,28$ et $0,29 \mu\text{M}$ pour les MIP et NIP VFc-EDMA-CPE et de $0,74$ et $0,78 \mu\text{M}$ pour les MIP et NIP VFc-4VP-EDMA-CPE, respectivement. Les LOQ trouvées sont de $0,93$ et $0,95 \mu\text{M}$ pour les MIP et NIP VFc-EDMA-CPE et de $2,47$ et $2,59 \mu\text{M}$ pour les MIP et NIP VFc-4VP-EDMA-CPE, respectivement. Même si les études d'adsorption ont donné une capacité d'adsorption maximale comparable pour les deux polymères MIP VFc-EDMA et MIP VFc-4VP-EDMA ($7,3$ et $8,5 \text{ mg/g}$, respectivement), dans cette étude électrochimique, le MIP VFc-EDMA ainsi que son NIP paraissent plus sensibles à la présence du BaP. Ces résultats peuvent être dus à la quantité de vinylferrocène intégré dans ces polymères. En effet, le vinylferrocène est présent à hauteur de 18 à 19% molaire dans les VFc-EDMA, contrairement aux VFc-4VP-EDMA dans lesquels il est présent à seulement 8% molaire. En d'autres termes, la quantité de vinylferrocène a un impact direct sur la valeur du courant oxydation du polymère, plus sa valeur est importante, plus le courant d'oxydation est important.

Pour le couple MIP VFc-4VP-EDMA-CPE / NIP VFc-4VP-EDMA-CPE, une diminution de l'intensité du courant d'oxydation des ferrocényles est observée et qui peut être corrélée à un phénomène d'adsorption comme déjà évoqué dans le chapitre 3. De plus, il ne semble pas y avoir de décalage positif ou négatif du potentiel du pic d'oxydation, ce qui pourrait être en accord avec le faible facteur d'empreinte de $1,1$ déterminé pour ce couple. Cependant, la faible quantité de ferrocène présent dans ces polymères conduit à des phénomènes de faible amplitude et à des conclusions difficiles à rendre.

Pour le couple MIP VFc-EDMA-CPE / NIP VFc-EDMA-CPE, une importante diminution de l'intensité du courant d'oxydation est observée dans les deux cas traduisant plus nettement le phénomène d'adsorption. Alors que le potentiel d'oxydation des ferrocényles est toujours visible pour le NIP VFc-EDMA-CPE et à la même valeur après addition de BaP, il a quasiment disparu pour le MIP VFc-EDMA-CPE ; seuls deux épaulements sont visibles. Bien qu'il n'y ait pas de décalage du pic d'oxydation aussi marqué que pour le MIP6 / NIP6, l'effet d'empreinte peut tout de même être avancé pour expliquer le comportement du MIP-VFc-EDMA-CPE. Cependant, comme pour le MIP6 / NIP6 des analyses complémentaires seront nécessaires pour confirmer ou infirmer cette hypothèse.

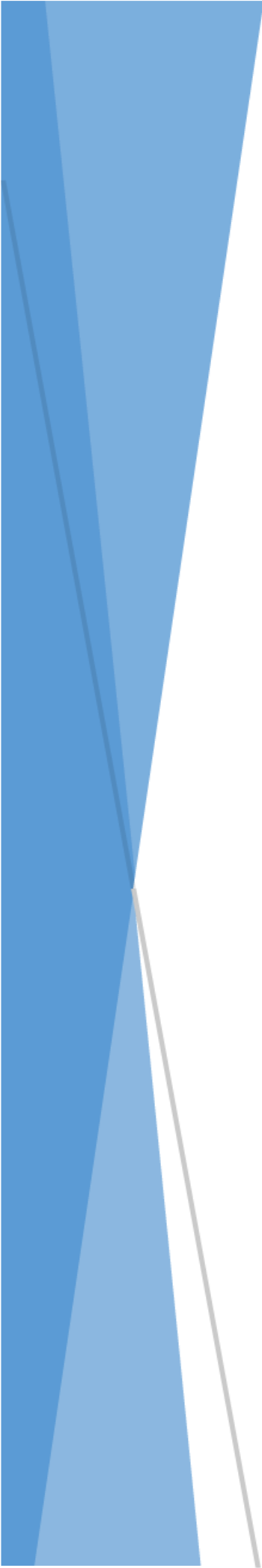
7. Conclusion

Dans ce chapitre, une amélioration dans la synthèse des polymères a été réalisée. L'utilisation d'un four d'hybridation a permis d'obtenir plusieurs polymères dans les mêmes conditions avec des quantités plus importantes comparées à la polymérisation par précipitation par distillation. De plus,

le 4-vinylpyridine ainsi que le divinylbenzène ont été introduits, respectivement, comme comonomère fonctionnel et agent réticulant dans le but d'améliorer les propriétés d'adsorption en raison de leur caractère aromatique. Les particules de polymère obtenues par cette nouvelle technique présentent des tailles inférieures et des surfaces spécifiques plus élevées que celles obtenues par la précipitation par précipitation. Les résultats des propriétés d'adsorption sont meilleurs que pour les polymères obtenus par la polymérisation par précipitation par distillation (décrits dans le chapitre 3) en termes de capacité d'adsorption. En revanche, seul le MIP VFc-EDMA présente un meilleur effet d'empreinte (7,3 vs 1,6 pour le MIP/NIP6). Les études de sélectivité montrent également une meilleure sélectivité du MIP VFc-EDMA en présence du phénanthrène par rapport à son NIP. Toutefois, ces polymères ne sont guère sélectifs vis-à-vis des HAPs mis en concurrence. Les propriétés d'adsorption sont conservées pour la plupart des polymères en présence de matière organique (sel d'acide humique) au moins jusqu'à 4 mg/L. Les MIP et NIP VFc-4VP-DVB présentent une diminution de la rétention en présence de cette matière organique à hauteur de 15% et le MIP VFc-EDMA de 10%. Pour déterminer les propriétés électrochimiques, la SWV a été employée pour suivre la diminution de courant d'oxydation des motifs ferrocène au sein des différents polymères en fonction de la concentration en BaP. La valeur du courant d'oxydation normalisée par rapport à celle en absence du BaP donne une relation linéaire avec la concentration du BaP introduite. La pente de cette droite est supérieure pour les VFc-EDMA par rapport aux VFc-4VP-EDMA. Les LOD sont égales à 0,28 $\mu\text{mol/L}$ pour le MIP VFc-EDMA et 0,74 $\mu\text{mol/L}$ pour le MIP VFc-4VP-EDMA alors qu'elle est de 0,09 $\mu\text{mol/L}$ pour le MIP6. Autrement dit, les polymères obtenus dans ce chapitre sont moins sensibles au BaP, en électrochimie, que ceux décrits dans le chapitre 3. Cependant, le MIP VFc-4VP-EDMA semble se comporter comme le MIP6.

8. Références

- [1] Lai, J.P.; Niessner, R.; Knopp, D. Benzo [a] Pyrene Imprinted Polymers: Synthesis, Characterization and SPE Application in Water and Coffee Samples. *Anal. Chim. Acta*, **2004**, *522*, 137–144.
- [2] Li, W.-H.; Stöver, H.D.H. Porous Monodisperse Poly(divinylbenzene) Microspheres by Precipitation Polymerization. *J. Polym. Sci. Part Polym. Chem.*, **1998**, *36*, 1543–1551.
- [3] Limé, F.; Irgum, K. Preparation of Divinylbenzene and Divinylbenzene-Co-Glycidyl Methacrylate Particles by Photoinitiated Precipitation Polymerization in Different Solvent Mixtures. *Macromolecules*, **2009**, *42*, 4436–4442.
- [4] Perrier-Cornet, R.; Héroguez, V.; Thienpont, A.; Babot, O.; Toupance, T. Functional Crosslinked Polymer Particles Synthesized by Precipitation Polymerization for Liquid Chromatography. *J. Chromatogr. A*, **2008**, *1179*, 2–8.
- [5] George, M.H.; Hayes, G.F. Free-Radical Polymerization of Vinylferrocene. I. Kinetics. *J. Polym. Sci. Polym. Chem. Ed.*, **1975**, *13*, 1049–1070.
- [6] Pittman, C.U. The Discovery of Metallocene- and Metallocene-Like Addition Polymers. *J. Inorg. Organomet. Polym. Mater.*, **2005**, *15*, 33–55.
- [7] Hinz, C. Description of Sorption Data with Isotherm Equations. *Geoderma*, **2001**, *99*, 225–243.
- [8] Limousin, G.; Gaudet, J.-P.; Charlet, L.; Szenknect, S.; Barthès, V.; Krimissa, M. Sorption Isotherms: A Review on Physical Bases, Modeling and Measurement. *Appl. Geochem.*, **2007**, *22*, 249–275.
- [9] Ho, W.L.; Lin, T.C.; Liu, Y.Y.; Chen, J.A. Analysis of Smoke PAHs from Selected Taiwanese Cigarettes by Using Molecular Imprinting Polymers. *J. Environ. Sci. Health Part A*, **2010**, *45*, 211–223.



Conclusion

générale

CONCLUSION GENERALE

La technologie des polymères à empreintes moléculaires (MIPs) offre un grand panel de possibilités pour développer des phases de reconnaissance pour capteur avec une grande affinité pour la molécule d'intérêt. D'après l'étude bibliographique, l'intégration de MIPs dans des capteurs électrochimiques reste complexe dans le cas où l'espèce ciblée ne présente pas de propriétés redox. Au cours de ce travail, une nouvelle approche a été développée consistant à intégrer une sonde électrochimique, en tant que monomère fonctionnel, au sein de particules de MIPs, ceci afin de favoriser l'interaction sonde-cible lors de la phase de reconnaissance.

Lors d'une première étape, les nouveaux MIPs électrochimiques ont été préparés à partir du vinylferrocène comme monomère fonctionnel ayant des propriétés rédox, de l'EDMA comme agent réticulant et du Benzo(a)pyrène (BaP) comme cible. Le ferrocène a été choisi en raison de ses deux cycles cyclopentadiényles susceptibles d'interagir via des interactions du type π - π avec les cycles aromatiques du BaP, l'hypothèse ayant été faite que de telles interactions pourraient modifier ses propriétés électrochimiques et permettre ainsi la détection du BaP.

Après une étude préliminaire, les MIPs électrochimiques ont été préparés par polymérisation par précipitation par distillation (DPP). Des particules de taille de l'ordre du micromètre ont été obtenues, et l'incorporation des différents monomères au sein de copolymères a été mise en évidence par analyse élémentaire. Les études d'adsorption ont permis de déterminer la capacité d'adsorption ainsi que le facteur d'empreinte des différents polymères synthétisés. Les meilleures performances ont été obtenues pour un MIP électrochimique préparé à partir d'un ratio 1/5/25 entre, respectivement, le BaP, le monomère fonctionnel et l'agent réticulant dans un mélange acétonitrile/toluène 70/30. Pour ce polymère, la capacité d'adsorption obtenue est de 3,7 mg de BaP/g de MIP avec un facteur d'empreinte de 1,6.

Dans un second temps, deux MIPs électrochimiques, ainsi que leurs analogues non imprimés, ont été caractérisés en électrochimie par des techniques voltampérométriques. Pour cela, ces différents polymères ont été mélangés à de la pâte de carbone, puis le mélange placé dans une électrode travail. Dans le cas des MIP électrochimiques, l'addition de la cible entraîne une diminution du courant d'oxydation mais qui est associée, contrairement aux NIPs, à un déplacement positif du potentiel d'oxydation. Ce phénomène peut-être relié à l'effet d'empreinte qui conduit à des interactions du type π - π . En effet, dans ce cas, ces interactions vont avoir un effet attracteur sur le centre rédox du ferrocène qui se traduit par un déplacement du potentiel d'oxydation. Ces déductions restent, dans le cadre de ce travail, des hypothèses car des analyses et expérimentations complémentaires sont nécessaires pour les confirmer ou les infirmer. Cependant, ces effets sont reproductibles. La limite de détection obtenue par la technique voltampérométrique est de 0,09 μ M en milieu organique (acétonitrile).

Sur la base des ces résultats, de nouveaux polymères ont été préparés par polymérisation par précipitation au moyen d'un four d'hybridation. Cette voie a été envisagée car elle permet une agitation douce et homogène, mais aussi un gain de temps qui est de l'ordre de trois. Plusieurs copolymères ont été élaborés par cette technique dans l'objectif d'étudier l'effet du co-monomère et de l'agent réticulant sur les capacités d'adsorption. L'ajout d'un co-monomère possédant un cycle aromatique, la 4-vinylpyridine, ainsi que l'utilisation d'un agent réticulant également aromatique, le divinylbenzène, a amélioré sensiblement la capacité d'adsorption mais au détriment de l'effet

CONCLUSION GENERALE

d'empreinte. Parmi tous les polymères préparés par cette voie, seul le polymère équivalent à celui préparé par polymérisation par précipitation par distillation a conduit à des résultats satisfaisants, avec une capacité d'adsorption augmentée d'un facteur deux, et un facteur d'empreinte multiplié par quatre. Les études électrochimiques vont également dans la même direction mais, toutefois, de façon moins nette et donc avec une limite de détection supérieure (0,28 μM).

En résumé, les résultats obtenus au cours de ce travail ont démontré que l'intégration d'un monomère fonctionnel ayant des propriétés rédox directement lors de la synthèse du polymère à empreinte moléculaire est une stratégie particulièrement intéressante et efficace pour coupler phénomène de reconnaissance et transduction électrochimique.

Il s'avère maintenant nécessaire de fabriquer des électrodes en grande série, toutes identiques, avec ces polymères afin d'une part de valider définitivement les résultats obtenus dans ce travail et d'autre part pour définir le type de détection le plus approprié avant d'effectuer des tests sur des échantillons réels.

Un autre aspect à améliorer est la sensibilité. Pour ce faire, une voie possible est de préparer des MIPs sous forme de nanoparticules de façon à favoriser les échanges électroniques entre le MIP électrochimique et l'électrode. Dans ce cadre, une collaboration a débuté avec S. Piletsky et son équipe de l'Université de Leicester. Cette équipe a, en effet, développé une méthode de production automatisée de nanoparticules de MIPs¹. Pour ce faire, la cible est immobilisée sur un support solide tel que des billes de verre fonctionnalisées. Ces billes sont introduites dans une colonne et la polymérisation est réalisée par passage d'une solution contenant le monomère fonctionnel, l'agent réticulant et l'amorceur, avec une initiation par irradiation UV à basse température. Le contrôle de l'élution après polymérisation permet de récupérer des nanoparticules de MIPs ne présentant qu'un seul site empreinte. Des premiers essais ont été réalisés sur place au cours du mois de février 2014 mais ils se sont révélés infructueux. En effet, il s'est avéré que le greffage du BaP (sous la forme du dérivé 7,8,9,10-tétrahydrobenzo(a)pyrén-7-ol) sur les billes de verre n'était pas effectif. Ce travail n'a malheureusement pas pu être repris dans le temps restant pour la thèse mais mériterait d'être exploré de nouveau.

L'objectif de la thèse a été rempli dans le cadre fixé par le partenaire industriel, la Société du Canal de Provence, c'est-à-dire pour la détection du Benzo(a)Pyrène. Toutefois, afin de valider entièrement le concept de MIP électrochimique, il sera nécessaire de le tester avec d'autres molécules cibles. Il s'agira d'établir que les effets observés peuvent être reproduits et que la stratégie peut être généralisée.

¹ Poma, A.; Guerreiro, A.; Whitcombe, M.J.; Piletska, E.V.; Turner, A.P.F.; Piletsky, S.A. Solid-Phase Synthesis of Molecularly Imprinted Polymer Nanoparticles with a Reusable Template—"Plastic Antibodies." *Adv. Funct. Mater.*, **2013**, *23*, 2821–2827.



Partie

expérimentale

Table des matières

1. Produits chimiques.....	132
1.1 Solvants.....	132
1.2 Autres produits.....	132
2. Synthèse du vinylferrocène.....	132
3. Méthodes d'analyse.....	134
3.1 Spectroscopie Infrarouge à Transformée de Fourier (IRTF).....	134
3.2 Analyse Thermogravimétrique (ATG).....	135
3.3 Mesures d'adsorption/désorption de gaz.....	135
3.4 Microscopie électronique à Balayage (MEB).....	135
4. Synthèse de polymères à empreintes moléculaires.....	135
4.1 Synthèse de polymères par polymérisation précipitation.....	135
4.2 Synthèse de polymères par polymérisation par précipitation par distillation (DPP).....	136
4.3 Synthèse de polymères par polymérisation par précipitation avec un four d'hybridation	
137	
4.4 Procédure de lavage.....	138
5. Détermination des propriétés d'adsorption.....	138
6. Sélectivité.....	140
7. Influence de la matière organique.....	140
8. Régénération des polymères.....	141
9. Etude électrochimique.....	141

1. Produits chimiques

1.1 Solvants

Les solvants utilisés sont commerciaux et ont été utilisés sans purification préalable : toluène (Fischer scientific, analytical grade), acétonitrile (Fischer scientific, HPLC grade, 99%), éthanol (Sodipro, 95%). L'eau ultrapure est obtenue par un système de purification Milli-Q (Millipore, résistivité > 18 mΩ.cm).

1.2 Autres produits

Mis à part le vinylferrocène qui a été synthétisé au laboratoire, les produits utilisés sont commerciaux : acétylferrocène (Acros, 98,9%), tétrahydruroborate de sodium (NaBH₄, Acros, 98,9%) 4-vinylpyridine (4-VP)(Sigma-Aldrich, 98%), diméthacrylate d'éthylène glycol (EDMA) (Acros, 98,9%), divinylbenzène (DVB) (Sigma-Aldrich, 80%), anthracène (ANT) (Acros, 99,5%), benzo(a)pyrène (BaP) (Sigma-Aldrich, 98%), chrysène (CHR) (Sigma-Aldrich, 98%), dibenzo(a,h)anthracène (DaA) (Fluka, 98,3%), fluoranthène (FA) (Sigma-Aldrich, 99,3%), fluorène (FL) (Acros, 98,5%), phénanthrène (PHE) (Acros, 98,7%), pyrène (Sigma-Aldrich, 99,2%), α,α'-azobutyronitrile (AIBN) (Sigma-Aldrich, 99%), pâte de carbone (Gwent Group, C10903P14) et sel de sodium d'acide humique (Sigma-Aldrich, 99%). Ils sont utilisés sans purification préalable sauf le divinylbenzène et la 4-vinylpyridine qui sont lavés avec une solution de soude à 10% puis séchés sur du sulfate de magnésium.

2. Synthèse du vinylferrocène

La synthèse du vinylferrocène est réalisée selon une procédure décrite dans la littérature et consiste en 2 étapes [1] :

(i) Réduction de l'acétylferrocène (15 mmol, soit 3,4 g) en ferrocényléthanol en présence de tétrahydruroborate de sodium (NaBH₄, 60 mmol, soit 2,3 g) dans de l'éthanol (200 mL). Le récipient de réaction est un tricol de 500 mL équipé d'un réfrigérant, et d'une entrée d'azote. Le milieu réactionnel est chauffé à reflux (90°C, bain d'huile), sous azote. La conversion du produit est suivie par chromatographie en couche mince (CCM) avec comme éluant un mélange éther diéthylique/cyclohexane (30/70, v/v). La réaction est terminée lorsque tout le produit de départ est entièrement converti (environ 1 heure 30). Le milieu réactionnel est laissé à refroidir avant d'y ajouter 80 mL d'une solution aqueuse de soude à 6 M par petites portions. L'ensemble est porté à reflux pendant une demi-heure. Le milieu réactionnel est concentré par évaporation sous vide jusqu'à environ 50 mL. Après extraction à l'éther diéthylique (60 mL), lavage à l'eau distillée (3 fois 60 mL), séchage sur sulfate de magnésium anhydre, et évaporation du solvant sous vide, le dérivé obtenu est sous forme de cristaux oranges (3,2 g), utilisés tels quels dans l'étape suivante. Le rendement molaire est de 92%. Ce produit est utilisé sans purification dans la seconde étape.

PARTIE EXPERIMENTALE

RMN ^1H ferrocényléthanol, 400 MHz, DMSO- d_6 , δ , ppm : 1,40 (d,3H,CH $_3$, $^3\text{J}=6,4\text{Hz}$) ; 2,82 (d,1H,OH) ; 4,18 (s,9H,H $_{fc}$) ; 4,54(d,1H,CH, $^3\text{J}=6,4\text{Hz}$)

(ii) Déshydratation du ferrocényléthanol en alcène en présence du sulfate de cuivre (CuSO $_4$) et de l'hydroquinone dans le toluène. Le récipient de réaction est un tricol d'un litre équipé d'un réfrigérant, et d'une entrée d'azote. Le milieu réactionnel, constitué de ferrocényléthanol brut (15 mmol, soit 3,45 g), CuSO $_4$ (120 mmol, soit 19,2 g), hydroquinone (0,3 mmol, soit 33 mg) dans 300 mL de toluène, est chauffé à reflux (110°C, bain d'huile), sous azote. La conversion du produit est suivie par chromatographie en couche mince (CCM) avec le cyclohexane comme éluant. Le chauffage dure 1 heure 30. Le milieu réactionnel, une fois refroidi, est filtré sur papier filtre pour éliminer tout résidu solide. Il est ensuite concentré par évaporation sous vide jusqu'à 50 mL, environ. Après extraction à l'éther diéthylique (60 mL), lavage à l'eau distillée (3 fois 60mL), séchage sur sulfate de magnésium anhydre, et évaporation du solvant sous vide, le produit brut obtenu est sous forme de cristaux rouges. Il est purifié sur colonne de silice avec un mélange d'éther diéthylique et de cyclohexane (20/80, v/v) comme éluant. Après évaporation et séchage sous vide, le vinylferrocène est obtenu sous forme de cristaux rouges (1,3 g) avec un rendement de 43% (température de fusion = 52-55 °C).

RMN ^1H VFc, 400 MHz, DMSO- d_6 , δ , ppm : 4,24 (m,9H,H $_{fc}$) ; 5,02 (d-d, 1H, $^3\text{J}=12\text{Hz}$, $^2\text{J}=2\text{Hz}$, H $_{cis}$) ; 5,33 (d-d,1H, $^3\text{J}=16\text{ Hz}$, $^2\text{J}=2\text{Hz}$, H $_{trans}$) ; 6,45 (d-d,1H, $^3\text{J}_1=16\text{Hz}$, $^3\text{J}_2=12\text{ Hz}$, H $_{vinyl}$)

RMN ^{13}C VFc, 100 MHz, DMSO- d_6 , δ , ppm : 66,5, 68,5, 68,9 (-CH=, cycle cyclopentadiényle) ; 111,2 (=CH $_2$) ; 134,7 (=CH-)

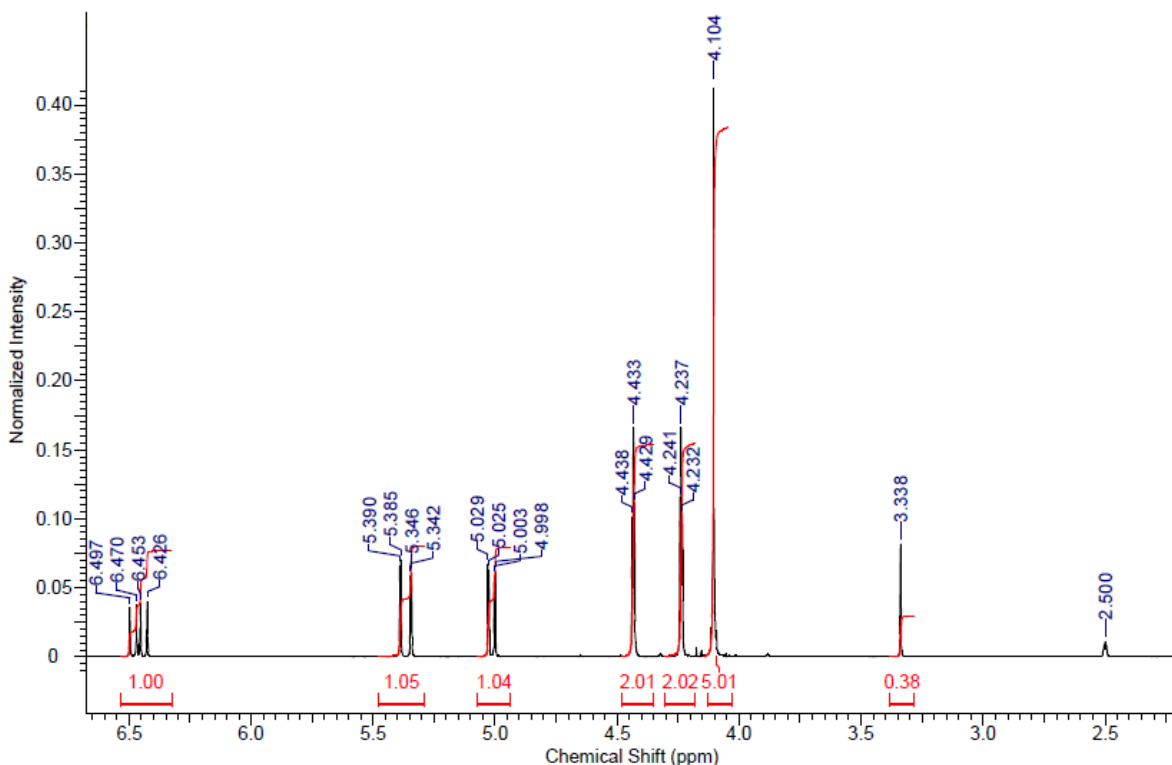


Figure 1. Spectre RMN ^1H du vinylferrocène (400 MHz, DMSO- d_6).

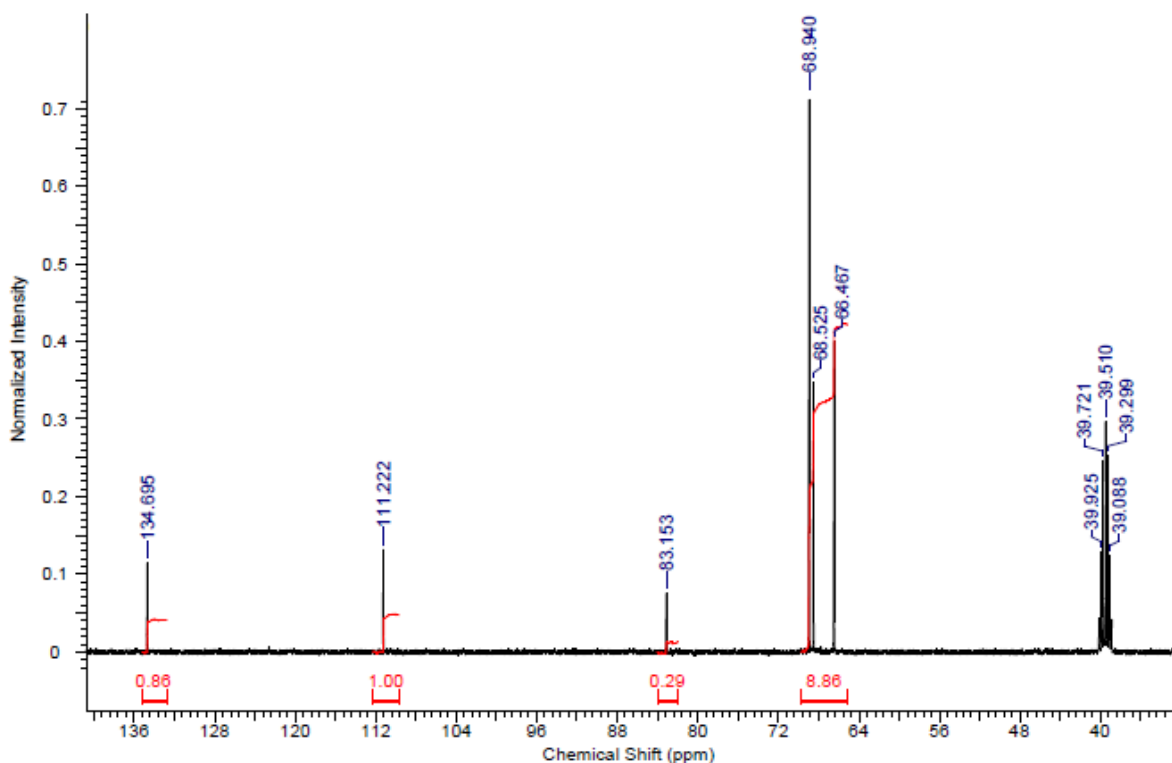


Figure 2. Spectre RMN ^{13}C du vinylferrocène (100 MHz, $\text{DMSO-}d_6$).

3. Méthodes d'analyse

3.1 Spectroscopie Infrarouge à Transformée de Fourier (IRTF)

Les spectres IRTF ont été réalisés à l'aide d'un spectrophotomètre IRTF Thermo Nicolet Nexus. Le traitement des spectres IRTF est effectué à partir du logiciel Omnic 8. Les solides ont été analysés en mode transmission. Pour cela, ils sont intimement mélangés avec du KBr (2% en masse de produit et 98% de KBr) avant d'être pastillés sous presse hydraulique (200 bars). Pour chaque analyse, les paramètres imposés sont : une résolution de 4 cm^{-1} et 64 scans. En spectroscopie IRTF, un certain nombre de notations conventionnelles peuvent être employées.

Notations selon la nature de la vibration :

- ν : vibrations de valence symétrique ou asymétrique ;
- δ : vibrations de cisaillement ou de rotation ayant lieu dans le plan ;
- γ : vibrations de balancement ou de torsion ayant lieu hors du plan ;
- *as* : pour les vibrations de type asymétrique ;
- *s* : pour les vibrations de type symétrique.

3.2 Analyse Thermogravimétrique (ATG)

Les analyses thermiques sont réalisées sur une SDT Q600 (NO32) de TA Instruments, les thermogrammes étant traités à partir du logiciel Universal Analysis (TA Instruments). L'ATG a été utilisée pour déterminer la stabilité thermique des polymères. Le programme thermique effectué est constitué de deux étapes :

- Isotherme de 10 minutes à 25°C afin de stabiliser la cellule de mesure.
- Rampe de 25°C à 900°C à une vitesse de 20°C/min, sous azote.

3.3 Mesures d'adsorption/désorption de diazote

Les mesures d'adsorption/désorption de diazote ont été réalisées sur un appareillage Gemini 2380 de Micrometrics au Laboratoire des Technologies de Séparation de l'Université de Lappeenranta (Finlande).

3.4 Microscopie électronique à Balayage (MEB)

Les clichés ont été pris à l'aide d'un microscope à balayage électronique Gemini® Supra 40VP avec la détection d'électrons secondaires (SE2). Avant chaque mesure, les polymères sont métallisés à l'or afin d'augmenter la conductivité de l'échantillon. Le logiciel SmarTiff est utilisé pour mesurer la taille des particules.

4. Synthèse de polymères à empreintes moléculaires

4.1 Synthèse de polymères par polymérisation précipitation

Dans un ballon monocol de 50 mL équipé d'un réfrigérant, le vinylferrocène (0,4 mmol), l'agent réticulant (2 mmol) et le solvant sont introduits avec le ratio monomères/solvant de 3 % en masse. L'ensemble est dégazé avec un gaz inerte (azote) pendant 15 minutes dans un bain d'eau glacée pour éviter toute évaporation. Puis l'amorceur radicalaire (AIBN) est ajouté, le rapport AIBN/monomère est de 2% en masse. L'ensemble est dégazé pendant encore 5 minutes. Sous agitation de 100 rpm (petit barreau aimanté), le milieu réactionnel est chauffé dans un bain d'huile à 80°C entre 22 et 48 heures selon les polymères. Après polymérisation, le polymère est récupéré par centrifugation à 10 000 rpm. Il est ensuite séché sous vide à 30°C pendant au moins 12 heures.

Tableau 1. Quantités de monomère, d'agent réticulant et de solvant utilisées.

VFc (mmol)	EDMA (mmol)	Solvant, %v/v		Solvant, mL	Durée	Rendement, %
		ACN	TOL			
0,4	2	100	0	20	22h	39
0,4	2	95	5	20	48h	0
0,4	2	90	10	20	48h	0

4.2 Synthèse de polymères par polymérisation par précipitation par distillation (DPP)

Dans un ballon monocol de 50 mL équipé d'un réfrigérant et d'un Dean-Stark (Figure 3), le(s) monomères, l'agent réticulant et le BaP (dans le cas des MIPs) sont introduits. Le ballon est placé sous atmosphère inerte (azote), fermé et mis au réfrigérateur à 4°C pendant 30 minutes pour favoriser la formation du complexe monomère(s)-BaP. Ensuite, le solvant est ajouté (ratio monomères/solvant de 3 % en masse) et l'ensemble est dégazé par bullage d'azote pendant 15 minutes dans un bain d'eau glacée, l'initiateur radicalaire (AIBN) est alors ajouté (rapport AIBN/monomère de 2% en masse.). L'ensemble est dégazé pendant encore 5 minutes. Sous agitation de 100 rpm (petit barreau aimanté), le milieu réactionnel est chauffé dans un bain d'huile à 80°C pendant 30 minutes. Puis la température du bain est élevée jusqu'à 110-115°C selon le mélange de solvant pour permettre la distillation. Lorsque la moitié du solvant est condensée dans le Dean-Stark (il faut environ 30 minutes), la réaction est arrêtée. Le ballon est retiré du bain d'huile. Le polymère est récupéré par centrifugation à 10 000 rpm puis lavé selon la procédure décrite en section 4.4. Les conditions de polymérisation sont résumées dans le tableau 2.

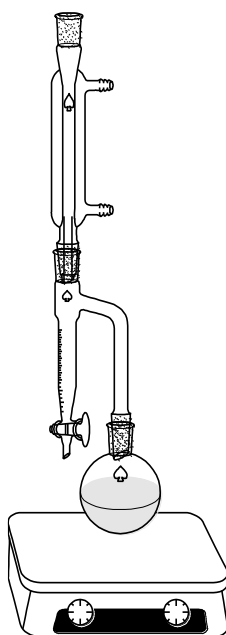


Figure 3. Montage de polymérisation par précipitation-distillation.

PARTIE EXPERIMENTALE

Tableau 2. Quantités de monomère, d'agent réticulant et de solvant utilisées.

Polymère	Quantité (mmol)			Solvant (%v/v)		Solvant (mL)	Rendement (%)
	BaP	VFc	EDMA	acétonitrile	toluène		
MIP1	0,8	4	20	100	0	40	26
NIP1	0	4	20	100	0	40	29
MIP2	0,8	4	20	95	5	40	18
NIP2	0	4	20	95	5	40	68
MIP3	0,8	4	20	90	10	40	24
NIP3	0	4	20	90	10	40	60
MIP4	0,8	4	20	85	25	40	19
NIP4	0	4	20	80	20	40	53
MIP5	0,8	4	20	80	20	200	47
NIP5	0	4	20	80	20	200	39
MIP6	0,8	4	20	70	30	200	33
NIP6	0	4	20	70	30	200	37

4.3 Synthèse de polymères par polymérisation par précipitation avec un four d'hybridation

Dans un tube cylindrique de pyrex de 35 mm de diamètre (120 mL de volume), le(s) monomère(s) fonctionnel(s), l'agent réticulant et le BaP (dans le cas des MIPs) sont introduits. Le tube est fermé sous gaz inerte (azote) et gardé au réfrigérateur à 4°C pendant 30 minutes pour favoriser la formation de complexe monomère(s)-BaP. Ensuite, le solvant est ajouté (ratio monomères/solvant de 3 % en masse) et l'ensemble dégazé par bullage d'azote pendant 15 minutes dans un bain d'eau glacée. Puis, l'initiateur radicalaire (AIBN) est ajouté (le rapport AIBN/monomère est de 2% en masse.). L'ensemble est dégazé pendant encore 5 minutes. Le milieu réactionnel est ensuite chauffé dans un four d'hybridation UVP HB-100 Hybridizer avec une rotation de 8 tours par minute suivant l'axe du tube. La température du four est augmentée de 5°C toutes les 15 minutes de 30°C à 80°C puis elle est maintenue constante à cette température jusqu'à la fin de la réaction (au moins 20 heures, la durée variant selon les polymères). Une fois la réaction terminée, le tube est retiré. Le polymère est récupéré par centrifugation à 10 000 rpm et lavé selon la procédure décrite en section 4.4. Un mélange d'acétonitrile et de toluène sert de solvant pour tous les polymères sauf pour les polymères VFc-4VP-EDMA pour lesquels un mélange d'heptane et de toluène est utilisé car il est impossible d'avoir des particules précipitées avec un rendement convenable (plus de 10%) en utilisant le mélange acétonitrile-toluène. Les conditions de polymérisation sont résumées dans le tableau 3.

PARTIE EXPERIMENTALE

Tableau 3. Quantités de monomères, d'agent réticulant et de solvant utilisées.

Polymère	Quantité (mmol)				Solvant (%v/v)		Solvant (mL)	Temps de réaction (heures)	Rendement (%)
	BaP	VFc	4-VP	(EDMA ou DVB)	acétonitrile	toluène			
MIP VFc-EDMA	0,32	1,6	0	8	70	30	100	48	59
NIP VFc-EDMA	0	1,6	0	8	70	30	100	48	80
MIP VFc-4VP-EDMA	0,24	0,6	0,6	6	95 (heptane)	5 (toluène)	60	24	40
NIP VFc-4VP-EDMA	0	0,6	0,6	6	95 (heptane)	5 (toluène)	60	24	40
MIP VFc-DVB	0,35	1,75	0	8,75	95	5	70	22	30
NIP VFc-DVB	0	1,75	0	8,75	95	5	70	22	40
MIP VFc-4VP-DVB	0,4	1	1	10	95	5	70	20	26
NIP VFc-4VP-DVB	0	1	1	10	95	5	70	20	28

4.4 Procédure de lavage

La procédure de lavage est identique pour tous les polymères. Elle est effectuée de la façon suivante : le polymère est lavé plusieurs fois avec de l'acétonitrile pour éliminer tout le monomère n'ayant pas réagi. La quantification du VFc restant est contrôlée par UV-vis à la longueur d'onde de 445 nm ($\epsilon = 232 \text{ L}\cdot\text{mol}^{-1}\cdot\text{cm}^{-1}$ obtenu par une courbe d'étalonnage dans la gamme de concentration allant de 3 à 500 mg/L). Le polymère est ensuite lavé plusieurs fois avec un mélange 50/50 v/v acétonitrile/toluène pour éliminer tout le BaP (contrôle par HPLC-UV selon la procédure décrite dans la section 5). Chaque cycle de lavage comprend : entre 20 et 30 mL de solvant (pour environ 500 mg de polymère), puis agitation pendant 1 heure avec un agitateur orbitalaire à 200 rpm, et centrifugation à 10 000 rpm. Le surnageant est ensuite retiré et analysé par HPLC-UV. L'opération est répétée jusqu'à ce qu'il n'y ait plus de BaP présent dans le surnageant. Le polymère est séché sous vide à 30°C pendant au moins 12 heures.

5. Détermination des propriétés d'adsorption

La verrerie utilisée est constituée de bouteilles en verre de 30 mL préalablement lavées, rincées à l'acétone et séchées à 70°C. 10 mg de polymère sont introduits puis 100 μL d'acétonitrile sont ajoutés dans le but de mouiller la surface des particules. Après 30 minutes, 10 mL de solution de BaP sont ajoutés (dans un mélange eau/acétonitrile 99/1). Les bouteilles sont agitées à l'aide

PARTIE EXPERIMENTALE

d'un agitateur orbitalaire à une vitesse de 250 rpm, à l'abri de la lumière et à température ambiante. Lorsque l'équilibre est atteint, les solutions sont laissées au repos entre 10 et 15 minutes pour que le polymère décante. Le prélèvement du surnageant est effectué à l'aide d'une pipette en verre lavée dans les mêmes conditions que les bouteilles. En cas de décantation difficile, le surnageant est récupéré par centrifugation à 10 000 rpm pendant 10 minutes, à 20°C. La détermination de la concentration en BaP est réalisée par HPLC-UV avec l'acétonitrile comme éluant et à une longueur d'onde de 296 nm dans les conditions suivantes :

- Colonne : LichroCART® 250-3 Lichrospher®PAH de Merck Millipore (phase stationnaire : gel de silice RP-18 modifié, 5µm), longueur 250 mm, diamètre interne 3 mm.
- Pompe : VWR Hitachi L-2130
- Détecteur : VWR Hitachi L-2455 DAD
- Four : VWR Hitachi L-2300
- Injecteur (autosampler): VWR Hitachi L-220
- Solvant : VWR Hipersolv Chromanorm (grade HPLC)
- Température du four : 30°C
- Volume d'injection : 50 µL
- Débit : 0,5 mL/min
- Logiciel d'exploitation : Hystar3.2 (Bruker)
- Logiciel de traitement : Hystar Post Processing (Bruker)

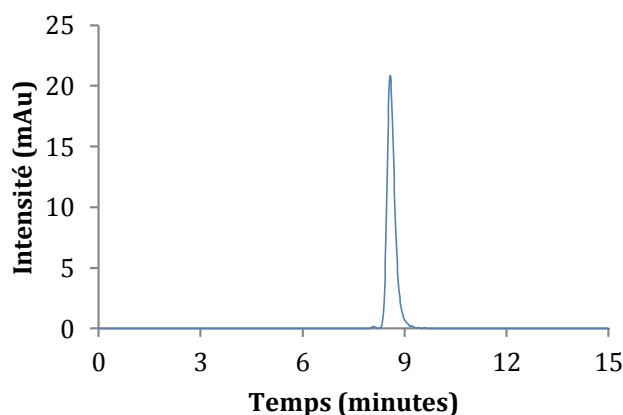


Figure 4. Exemple de chromatogramme du BaP en mode isocratique (100% acétonitrile), détection à 296 nm.

6. Sélectivité

L'étude de sélectivité est réalisée de la même façon que les autres études d'adsorption à la différence près que les solutions contiennent 5 mL de BaP et 5 mL d'un autre HAP (avec des concentrations indiquées dans les chapitres 3 et 4) et que la quantification par HPLC-UV se fait avec un gradient d'élution (acétonitrile/eau) :

Temps (min)	Eau (%)	Acétonitrile (%)
0-10	45	55
10-35	0	100
35-50	0	100
50-60	45	55

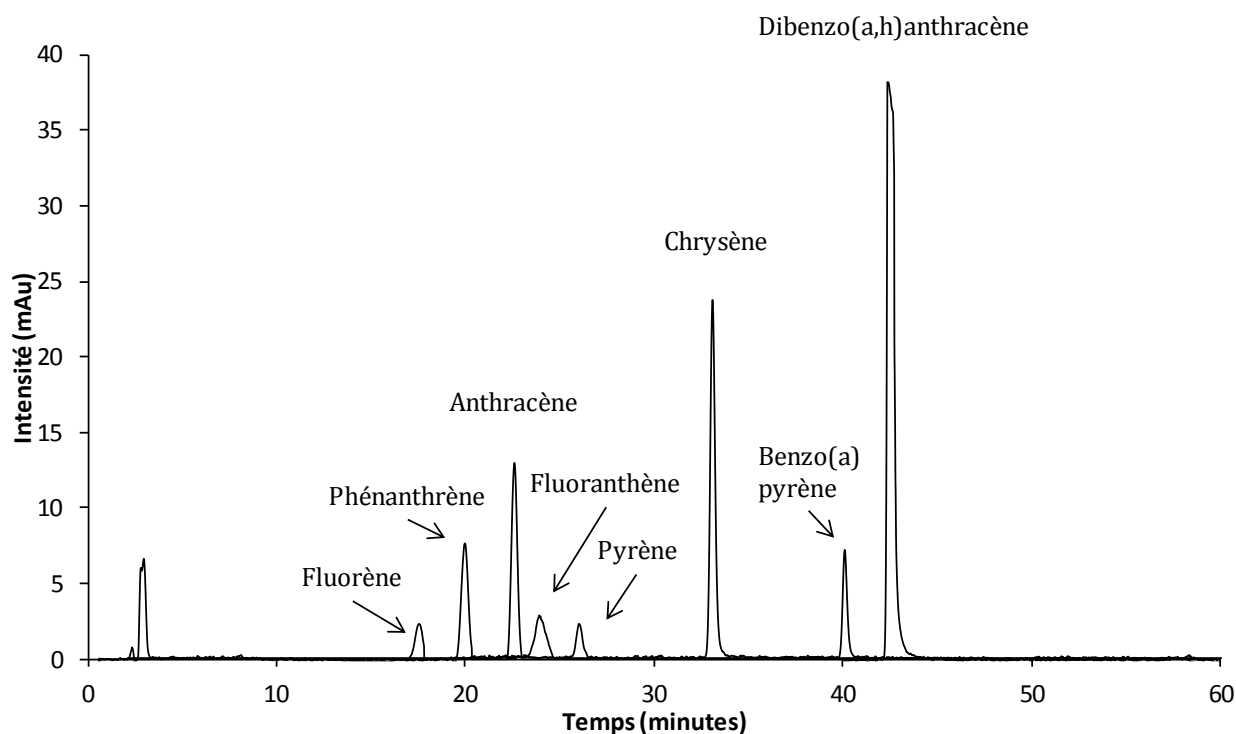


Figure 5. Exemple de chromatogramme d'un mélange de 8 HAPs utilisés dans les études de sélectivité obtenu par le gradient d'élution, détection à 296 nm.

7. Influence de la matière organique

Dans cette étude, l'adsorption se fait également en mode batch. La procédure est identique aux études d'adsorption. 10 mg de polymère sont mis en contact avec une solution de BaP à 0,5 mg/L (dans un mélange eau/acétonitrile 99/1) et une solution de concentration croissante de 0 à 4 mg/L, de matière organique (dans un mélange eau/acétonitrile 99/1). La matière organique utilisée est le sel de sodium d'acide humique. Le contact se fait pendant 24 heures. La concentration en BaP est déterminée par HPLC-UV en mode isocratique (conditions de la section 5). Celle de l'acide humique n'est pas déterminée.

8. Régénération des polymères

Les polymères peuvent être régénérés par des lavages-centrifugations successifs avec un mélange d'acétonitrile-toluène (50/50 en volume) pour éliminer tout le BaP (contrôle par HPLC-UV). Chaque cycle de lavage comprend : 20-30 mL de solvant pour environ 500 mg de polymère, agitation pendant 1 heure par un agitateur orbitalaire, centrifugation à 10 000 rpm puis le surnageant est retiré. L'opération est répétée jusqu'à ce qu'il n'y ait plus de BaP présent dans le surnageant. Les polymères sont séchés à la température ambiante, sous vide.

9. Etude électrochimique

Les études électrochimiques ont été réalisées à l'aide d'une cellule d'électrolyse avec trois électrodes : une électrode de référence (ECS), une contre électrode en platine de diamètre 1 cm et une électrode de travail chargée de pâte de carbone seule ou avec des MIP/NIP de diamètre 5mm (Figure 6). L'électrode de travail est fixe et aucune agitation n'a lieu dans la cellule. L'apport des espèces, en l'occurrence le BaP, vers l'électrode de travail ne se fait que par diffusion. Avant chaque utilisation l'électrode de travail est polie. La contre-électrode est nettoyée afin d'éliminer toute trace résiduelle de BaP. Le volume total de la solution électrolyte utilisée est de 5 mL. Lorsque l'électrode de travail est introduite dans la cellule, il faut attendre 4 heures pour la stabiliser (sans agitation) pour permettre de faire la mesure. Ce temps d'équilibre est également appliqué pour l'ajout du BaP. Une fois la solution de BaP ajoutée, la mesure est effectuée 4 après et sans agitation.

Les mesures en électrochimie sont effectuées avec un potentiostat de Biologic Science Instruments, modèle VSP-300. Le logiciel de traitement est EC-lab.

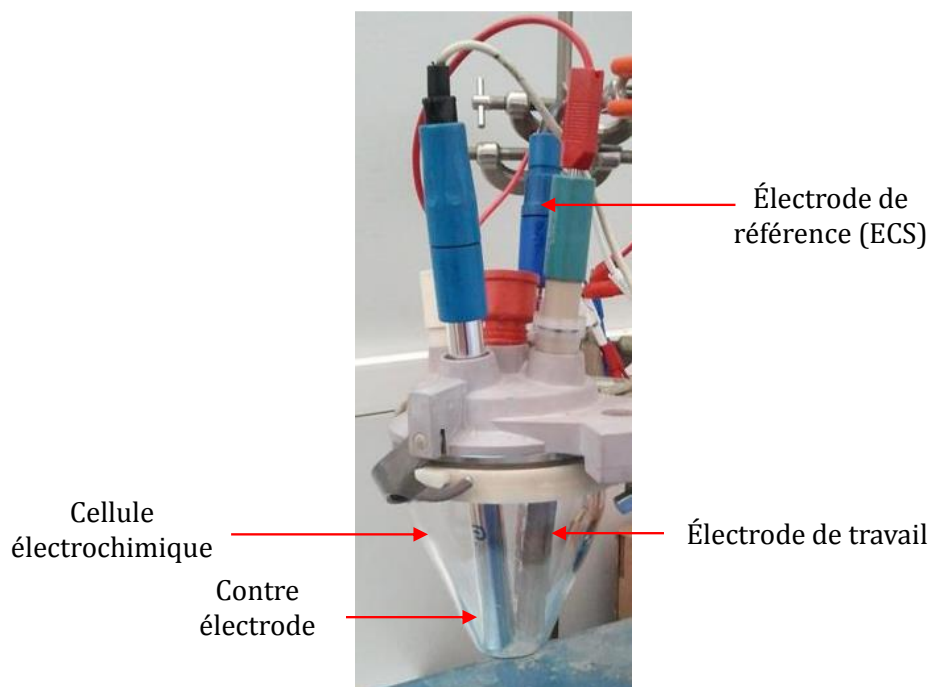


Figure 6. Cellule électrochimique comprenant un système à trois électrodes.

PARTIE EXPERIMENTALE

a) Préparation de l'électrode de travail

Le polymère est mélangé avec de la pâte de carbone (Gwent Group, C10903P14) avec une proportion massique de 20% polymère dans 80% de pâte de carbone. Le mélange est homogénéisé avec de l'acétonitrile (1 mL pour 1 g de solide) puis soniqué pendant 5 minutes ou jusqu'à l'obtention d'une pâte homogène. Le mélange est ensuite introduit dans une électrode creuse de 5 mm de diamètre (Metrohm). L'électrode est polie avec un papier abrasif de type SiC (P2400) pour enlever le surplus puis séchée sous vide à 30°C pendant 1 nuit. La quantité du mélange de polymère-pâte de carbone introduite est contrôlée entre 18-20 mg (soit 3,6-4 mg de polymère), masse sèche.

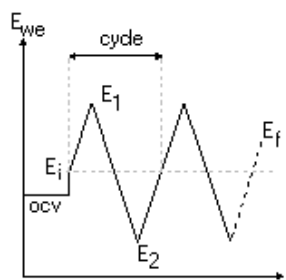


Figure 7. Electrode creuse et le porteur utilisés comme électrode de travail (source : www.metrohm.fr).

b) Etude par voltampérométrie cyclique (CV)

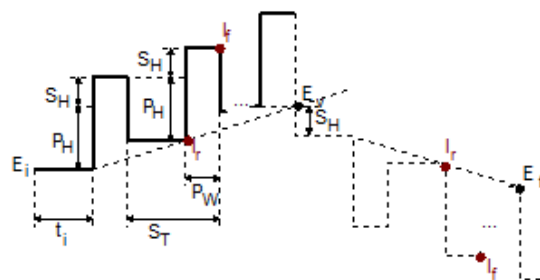
Paramètres expérimentaux :

- E_i : 0 V
- t_i : 30 sec
- E_1 : 1 V
- E_2 : -0,1 V
- E_f : 0 V
- Nombre de cycles : 2



c) Etude par voltampérométrie différentielle pulsée (DPV) : rampe de potentiel

- E_i (potentiel de départ) : 0 V
- t_i (durée d'impulsion ou Δt) : 60 sec
- E_v (potentiel de fin) : 1 V
- P_H (hauteur d'impulsion ou $|\Delta E|$) : 50 mV
- P_W (largeur d'impulsion) : 50 ms
- S_H (hauteur de saut) : 5 mV
- S_T (période d'impulsion)

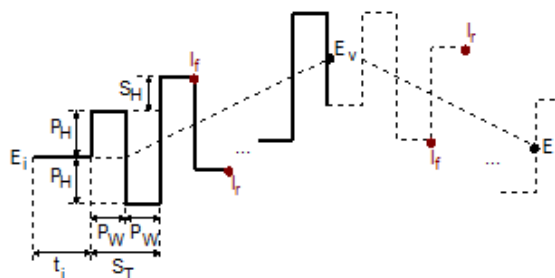


PARTIE EXPERIMENTALE

d) Etude par voltampérométrie différentielle à onde carrée (SWV) : rampe de potentiel

Paramètres expérimentaux :

- E_i (potentiel de départ) : 0 V
- t_i (durée d'impulsion ou Δt) : 60 sec
- E_v (potentiel de fin) : 1 V
- P_H (hauteur d'impulsion ou ΔE_p) : 150 mV
- P_W (largeur d'impulsion) : 50 ms
- S_H (hauteur de saut) : 2 mV
- S_T (période d'impulsion)





Annexes

Table des matières

Annexe 1 : Classification des isothermes d'adsorption/désorption de gaz (IUPAC)	146
Annexe 2 : Classification des isothermes d'adsorption sur un solide	147
Annexe 3 : Calcul de la proportion molaire des monomères et agents réticulants dans les polymères de type PolyVFc-EDMA	149
Annexe 4 : Calcul de la proportion molaire des monomères et agents réticulants dans les polymères de type PolyVFc-4VP-EDMA.....	150
Annexe 5 : Calcul de la proportion molaire des monomères et agents réticulants dans les polymères de type PolyVFc-DVB	151
Annexe 6 : Calcul de la proportion molaire des monomères et agents réticulants dans les polymères de type PolyVFc-4VP-DVB	152
Annexe 7 : Modélisation de l'étude l'adsorption	153
Références.....	155

Annexe 1 : Classification des isothermes d'adsorption/désorption de gaz (IUPAC)

Les isothermes d'adsorption/désorption sont classés en six types dont la définition est donnée par l'IUPAC [1] (Figure 1) :

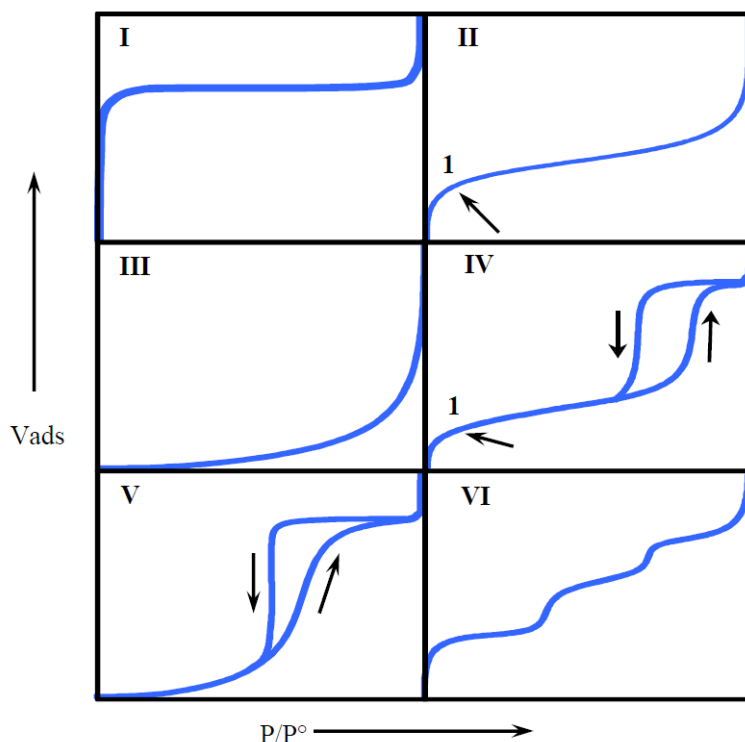


Figure 1. Classification des isothermes d'adsorption donnée par l'IUPAC.

A chaque type d'isotherme va correspondre une distribution poreuse :

- Isotherme de type I : cas d'un solide microporeux ayant une faible surface spécifique (isotherme de Langmuir) ;
- Isotherme de type II : obtenu pour des adsorbants non poreux ou macroporeux. Le point « 1 » indique la pression relative pour laquelle la monocouche de gaz adsorbé est complète ;
- Isotherme de type III : cas rare d'interactions très faibles entre le gaz et le solide ;
- Isotherme de type IV : associé à des solides mésoporeux dans lesquels se produit une condensation capillaire ;
- Isotherme de type V : comparable aux isothermes de type III avec présence de mésopores ;
- Isotherme de type VI : cas d'adsorption par des surfaces énergétiquement homogènes (les couches de gaz adsorbées se forment les unes après les autres).

Annexe 2 : Classification des isothermes d'adsorption sur un solide

C.H. Giles et *al.* ont proposé de classer les isothermes d'adsorption d'une espèce en solution sur un solide en 4 types en raison des allures d'isothermes (l'adsorption en fonction de la concentration restante en solution) généralement observées [2].

1. Isotherme de type « C »

La courbe est une fonction linéaire passant par l'origine. Cela signifie que le rapport entre la quantité d'espèces adsorbées par gramme de solide et la concentration restante en solution est constant à toute concentration. Ce rapport est généralement appelé « coefficient de distribution » ou « coefficient de partition » : K_d ou K_p . L'isotherme de type C est souvent utilisé comme une approximation rapide (pour un intervalle étroit de concentrations ou pour de très faibles concentrations généralement observées pour les polluants à l'état de traces) plutôt qu'une description précise.

Cet isotherme simple ne doit pas être utilisé sans vérification, autrement cela peut conduire à des conclusions erronées. Par exemple, si le solide a une quantité limitée de sites d'adsorption, l'isotherme ne peut être linéaire en raison de la présence d'un plateau de saturation.

2. Isotherme de type « L »

Le rapport entre la quantité d'espèces adsorbées par gramme de solide et la concentration restant en solution diminue lorsque la concentration augmente résultant en une courbe concave. Cela montre une saturation progressive du solide. Deux sous-types peuvent être distingués : (i) la courbe atteint un plateau asymptotique bien défini (le solide présente une capacité d'adsorption limite) ; (ii) la courbe n'atteint pas de plateau (le solide ne montre pas clairement de capacité d'adsorption limite). Toutefois, il est difficile en pratique de dire à quel sous-type un isotherme appartient.

3. Isotherme de type « H »

C'est un cas particulier de l'isotherme de type L avec une pente initiale très importante. Ce cas est distingué des autres car le composé présente une affinité très importante pour le solide adsorbant. Cette affinité est traduite par la pente initiale qui tend vers l'infini, même si elle n'a pas de sens d'un point de vue thermodynamique [3].

4. Isotherme de type « S »

La courbe est sigmoïdale avec un point d'inflexion. Ce type d'isotherme est le résultat d'au moins deux mécanismes et il est souvent observé pour des composés organiques non polaires ayant une faible affinité pour le solide adsorbant. Un tel isotherme traduit le fait que dès que la surface du solide adsorbant est recouverte d'une couche de soluté, d'autres molécules sont adsorbées plus facilement. Ce phénomène est appelé « adsorption coopérative » et est généralement observé pour

les surfactants. La présence d'un ligand soluble peut également donner lieu à un isotherme sigmoïdal pour des espèces métalliques. A faibles concentrations de métal, l'adsorption est limitée par la quantité du ligand. Lorsque la concentration de l'espèce métallique augmente, le ligand est saturé et l'adsorption a lieu normalement. Le point d'inflexion correspond à la concentration pour laquelle l'adsorption devient supérieure à la complexation.

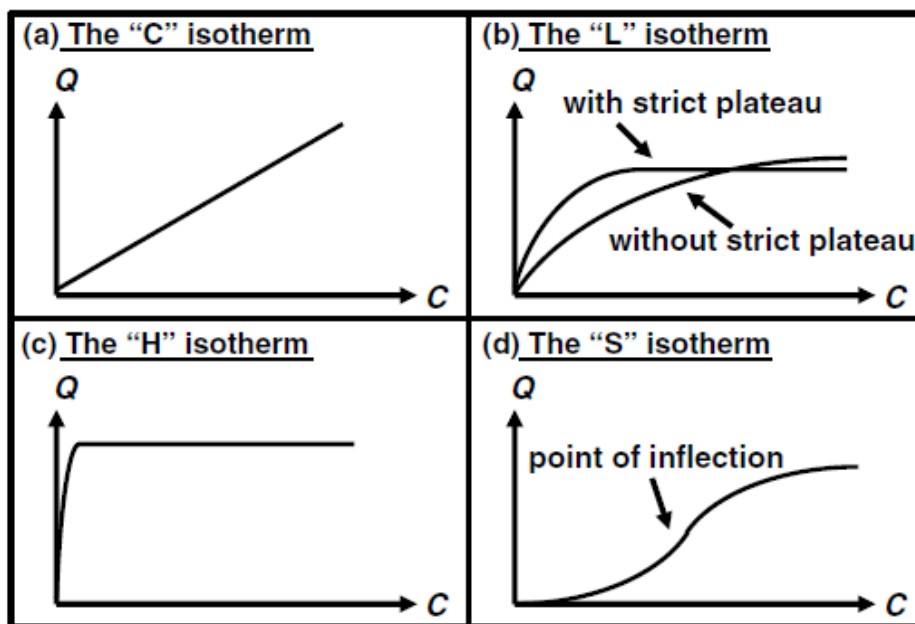
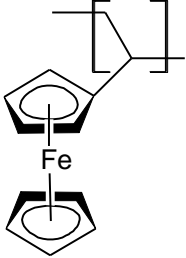
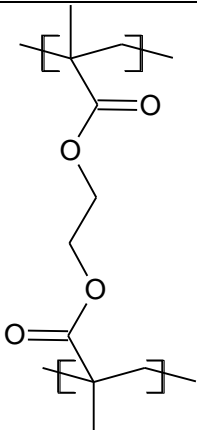


Figure 2. Les 4 types d'isothermes selon C.H. Giles (figure tirée de G. Limousin et *al.* [4]), Q représente la quantité adsorbée par gramme de solide et C la concentration restante en solution (concentration à l'équilibre).

Annexe 3 : Calcul de la proportion molaire des monomères et agents réticulants dans les polymères de type PolyVFc-EDMA

Deux unités sont considérées :

	VFc	EDMA
Unités		
Proportion molaire	α	$1-\alpha$

Il est alors possible d'exprimer le pourcentage de fer et de carbone dans la résine, sachant que α est la proportion molaire de VFc :

$$\%Fe = \frac{\alpha \times M_{Fe}}{\alpha \times M_{VFc} + (1-\alpha)M_{EDMA}} \cdot 100$$

$$\%C = \frac{(12 \cdot \alpha + 10 \cdot (1-\alpha)) \cdot M_C}{\alpha \times M_{VFc} + (1-\alpha)M_{EDMA}} \cdot 100 = \frac{(10+2\alpha)M_C}{\alpha \times M_{VFc} + (1-\alpha)M_{EDMA}} \cdot 100$$

Avec

M_{Fe} : masse molaire du fer (55,85 g/mol)

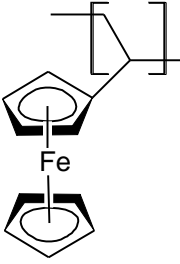
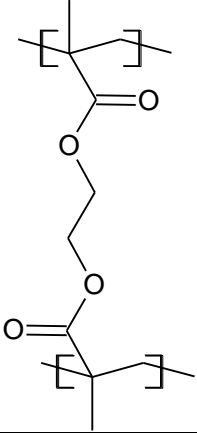
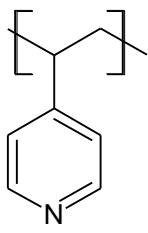
M_C : masse molaire du carbone (12,01 g/mol)

M_{VFc} : masse molaire du VFc (212,07 g/mol)

M_{EDMA} : masse molaire de l'EDMA (198,24 g/mol)

Annexe 4 : Calcul de la proportion molaire des monomères et agents réticulants dans les polymères de type PolyVFc-4VP-EDMA

Trois unités sont considérées :

	VFc	EDMA	4-VP
unités			
Proportion molaire	α	$1-\alpha-\beta$	β

Il est alors possible d'exprimer le pourcentage de fer et de carbone dans la résine, sachant que α est la proportion molaire de VFc :

$$\%Fe = \frac{\alpha \cdot M_{Fe}}{\alpha \times M_{VFc} + (1-\alpha-\beta)M_{EDMA} + \beta M_{4VP}} \cdot 100$$

$$\%N = \frac{\beta \cdot M_N}{\alpha \times M_{VFc} + (1-\alpha-\beta)M_{EDMA} + \beta M_{4VP}} \cdot 100$$

$$\%C = \frac{(12 \cdot \alpha + 10 \cdot (1-\alpha-\beta) + 7 \cdot \beta) \cdot M_C}{\alpha \times M_{VFc} + (1-\alpha-\beta)M_{EDMA} + \beta M_{4VP}} \cdot 100 = \frac{(10 + 2\alpha - 3\beta) \cdot M_C}{\alpha \times M_{VFc} + (1-\alpha-\beta)M_{EDMA} + \beta M_{4VP}} \cdot 100$$

Avec

M_{Fe} : masse molaire du fer (55,85 g/mol)

M_C : masse molaire du carbone (12,01 g/mol)

M_N : masse molaire de l'azote (14,01 g/mol)

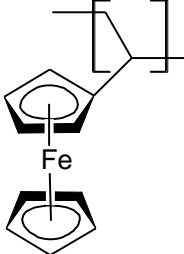
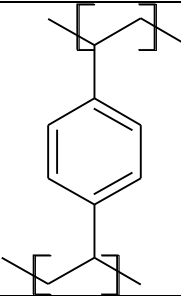
M_{VFc} : masse molaire du VFc (212,07 g/mol)

M_{EDMA} : masse molaire de l'EDMA (198,24 g/mol)

M_{4VP} : masse molaire de la 4-VP (105,14 g/mol)

Annexe 5 : Calcul de la proportion molaire des monomères et agents réticulants dans les polymères de type PolyVFc-DVB

Deux unités sont considérées :

	VFc	DVB
unités		
Proportion molaire	α	$1-\alpha$

Il est alors possible d'exprimer le pourcentage de fer et de carbone dans la résine, sachant que α est la proportion molaire de VFc :

$$\%Fe = \frac{\alpha \times M_{Fe}}{\alpha \times M_{VFc} + (1-\alpha)M_{EDMA}} \cdot 100$$

$$\%C = \frac{(12.\alpha + 10.(1-\alpha)).M_c}{\alpha \times M_{VFc} + (1-\alpha)M_{EDMA}} \cdot 100 = \frac{(10+2\alpha)M_c}{\alpha \times M_{VFc} + (1-\alpha)M_{EDMA}} \cdot 100$$

Avec

M_{Fe} : masse molaire du fer (55,85 g/mol)

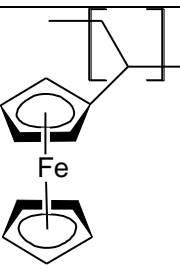
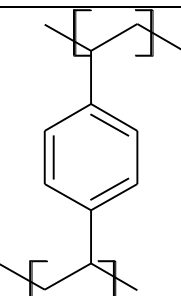
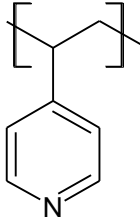
M_c : masse molaire du carbone (12,01 g/mol)

M_{VFc} : masse molaire du VFc (212,07 g/mol)

M_{DVB} : masse molaire du DVB (130,19 g/mol)

Annexe 6 : Calcul de la proportion molaire des monomères et agents réticulants dans les polymères de type PolyVFc-4VP-DVB

Trois unités sont considérées :

	VFc	DVB	4-VP
unités			
Proportion molaire	α	$1-\alpha-\beta$	β

Il est alors possible d'exprimer le pourcentage de fer et de carbone dans la résine, sachant que α est la proportion molaire de VFc :

$$\%Fe = \frac{\alpha \cdot M_{Fe}}{\alpha \times M_{VFc} + (1-\alpha-\beta)M_{EDMA} + \beta \times M_{4VP}} \cdot 100$$

$$\%N = \frac{\beta \cdot M_N}{\alpha \times M_{VFc} + (1-\alpha-\beta)M_{EDMA} + \beta \times M_{4VP}} \cdot 100$$

$$\%C = \frac{(12 \cdot \alpha + 10 \cdot (1-\alpha-\beta) + 7 \cdot \beta) \cdot M_C}{\alpha \times M_{VFc} + (1-\alpha-\beta)M_{EDMA} + \beta \times M_{4VP}} \cdot 100 = \frac{(10 + 2\alpha - 3\beta) \cdot M_C}{\alpha \times M_{VFc} + (1-\alpha-\beta)M_{EDMA} + \beta \times M_{4VP}} \cdot 100$$

Avec

M_{Fe} : masse molaire du fer (55,85 g/mol)

M_C : masse molaire du carbone (12,01 g/mol)

M_N : masse molaire de l'azote (14,01 g/mol)

M_{VFc} : masse molaire du VFc (212,07 g/mol)

M_{DVB} : masse molaire du DVB (130,19 g/mol)

M_{4VP} : masse molaire de la 4-VP (105,14 g/mol)

Annexe 7 : Modélisation de l'étude l'adsorption

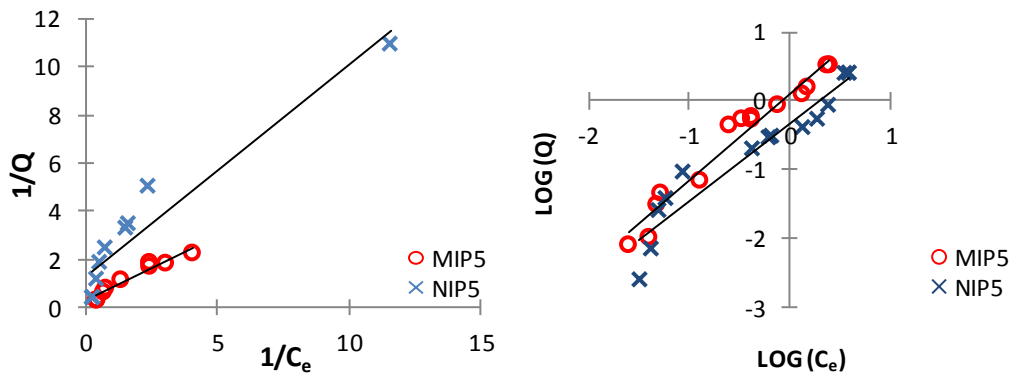


Figure 3. Tracés des isothermes selon le modèle de Langmuir (gauche) et de Freundlich (droite) du MIP5 et du NIP5.

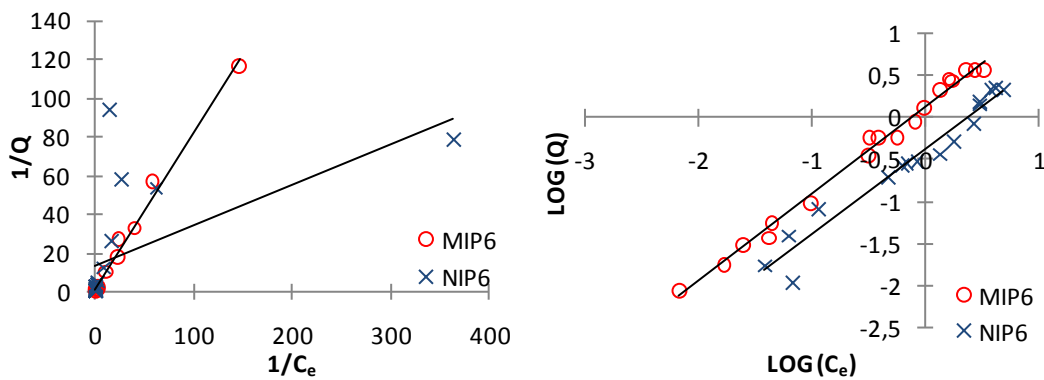


Figure 4. Tracés des isothermes selon le modèle de Langmuir (gauche) et de Freundlich (droite) du MIP6 et du NIP6.

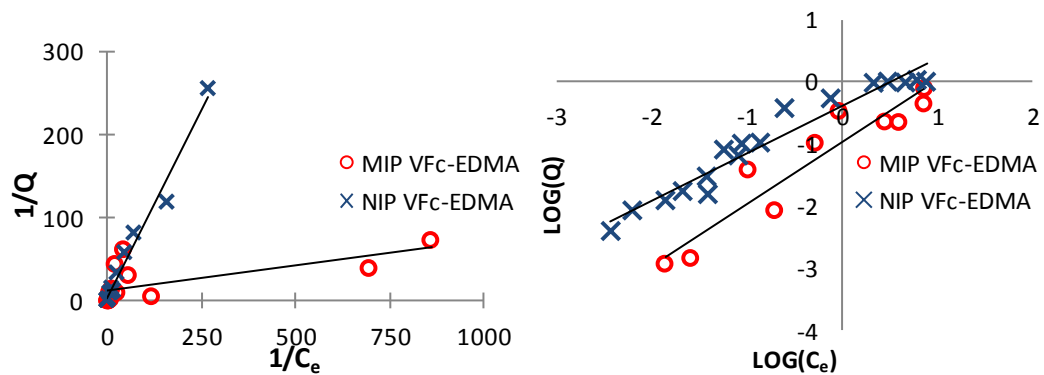


Figure 5. Tracés des isothermes selon le modèle de Langmuir (gauche) et de Freundlich (droite) du MIP VFc-EDMA et du NIP VFc-EDMA.

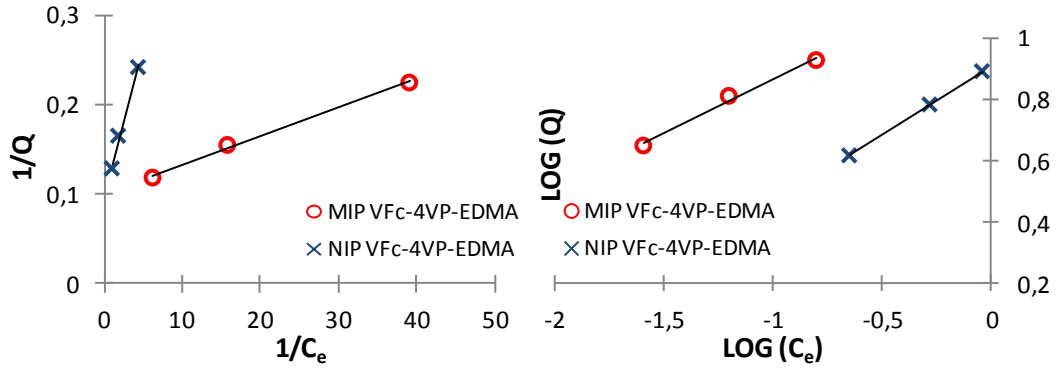


Figure 6. Tracés des isothermes selon le modèle de Langmuir (gauche) et de Freundlich (droite) du MIP VFc-4VP-EDMA et du NIP VFc-4VP-EDMA.

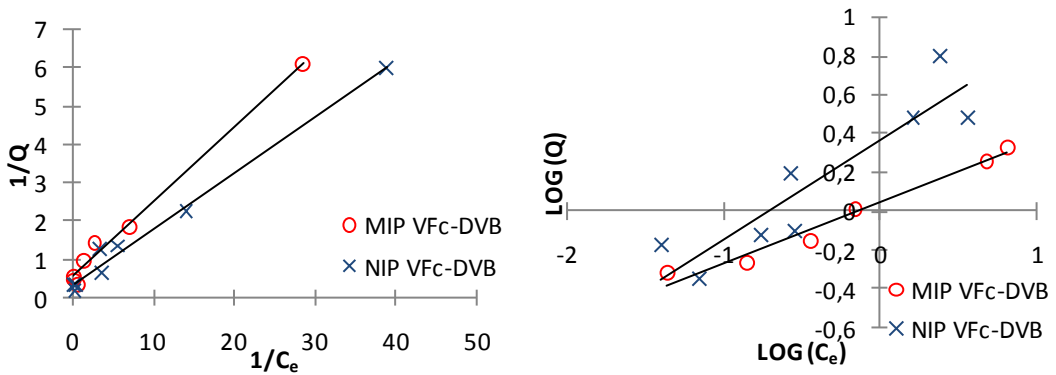


Figure 7. Tracés des isothermes selon le modèle de Langmuir (gauche) et de Freundlich (droite) du MIP VFc-DVB et du NIP VFc-DVB.

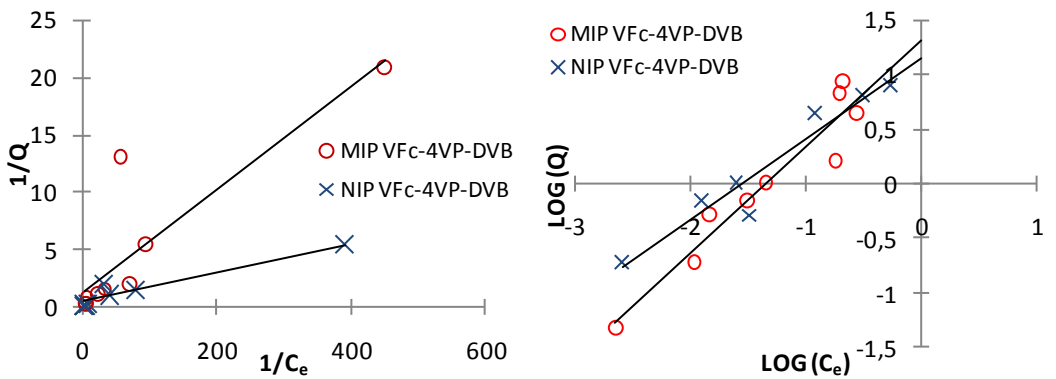


Figure 8. Tracés des isothermes selon le modèle de Langmuir (gauche) et de Freundlich (droite) du MIP VFc-4VP-DVB et du NIP VFc-4VP-DVB.

Références

- [1] J. Rouquerol, F. Rouquerol, P. Llewellyn, G. Maurin, and K. S. W. Sing, *Adsorption by Powders and Porous Solids: Principles, Methodology and Applications*. Academic Press, 2013.
- [2] C. H. Giles, D. Smith, and A. Huitson, "A general treatment and classification of the solute adsorption isotherm. I. Theoretical," *J. Colloid Interface Sci.*, vol. 47, no. 3, pp. 755–765, Jun. 1974.
- [3] J. Tóth, "Thermodynamical Correctness of Gas/Solid Adsorption Isotherm Equations," *J. Colloid Interface Sci.*, vol. 163, no. 2, pp. 299–302, Mar. 1994.
- [4] G. Limousin, J.-P. Gaudet, L. Charlet, S. Szenknect, V. Barthès, and M. Krimissa, "Sorption isotherms: A review on physical bases, modeling and measurement," *Appl. Geochem.*, vol. 22, no. 2, pp. 249–275, Feb. 2007.



Publication

A versatile electrochemical sensing receptor based on a molecularly imprinted polymer†

Cite this: *Chem. Commun.*, 2014, 50, 7488

Received 10th April 2014,
Accepted 19th May 2014

DOI: 10.1039/c4cc02658f

www.rsc.org/chemcomm

Dutduan Udomsap,^a Catherine Branger,^{*a} Gérald Culioli,^a Pascal Dollet^b and Hugues Brisset^{*a}

Electrochemical molecularly imprinted polymers (e-MIPs) are reported for the first time. Their elaboration is based on the introduction of a redox tracer (vinylferrocene) inside the binding cavities of a cross-linked MIP. Determination of the analyte (benzo[a]pyrene) can be simply performed by measuring the redox tracer signal.

Molecularly imprinted polymers (MIPs) can advantageously replace natural receptors in biosensor devices thanks to their high selective recognition properties, their easy synthesis and high stability.^{1–3} MIPs are commonly prepared by formation of a three-dimensional polymer network around a template (such as a molecule or an ion) *via* a cross-linking step. The removal of this template creates binding cavities responsible for the recognition process. Such polymers are frequently described as “plastic antibodies” due to their high selectivity.⁴ Combined with various transduction mechanisms, MIPs are the key stones of a large panel of optical, electrochemical, acoustic, piezoelectric and calorimetric sensors.^{5–10} The main challenge remains the incorporation of MIPs as sensing elements in such devices.¹¹ The MIP-based electrochemical sensors can be schematically divided into two categories depending on the nature of the template, electroactive or non-electroactive.^{12–15} In the first case, the template itself can generate the signal and classical MIP materials can be used in the form of nanoparticles mixed with a conductive matrix or as thin layer membranes, for instance. When non-electroactive targets are involved, the signal should be produced either by an external probe^{16,17} or by the transducer upon template rebinding. Electro-synthesized MIPs based on conducting polymers are then commonly used and their implementation in the form of thin layer films of controlled thickness is quite easy. Nevertheless, the crosslinking of such a phase is hard to process.

Herein, we report a new generation of the electrochemical sensing receptor based on the introduction of a redox tracer inside the binding cavities of a cross-linked MIP. Such an electrochemical MIP (e-MIP) can serve both as the recognition and the measuring element for the electrochemical determination of a non-electroactive target. e-MIPs can be prepared in an easy and conventional way by copolymerization of a functional monomer presenting electroactive properties with a crosslinker (Fig. 1). To the best of our knowledge, such an approach has never been reported so far.

To validate our concept of e-MIPs, benzo[a]pyrene (BaP), a polycyclic aromatic hydrocarbon (PAH) known for its high toxicity and carcinogenic effects,¹⁸ was chosen as a model system. Its high oxidation potential ($E_{1/2Ox} = 0.94$ V vs. Saturated Calomel Electrode (SCE)¹⁹) prevents its direct detection in aqueous media by an electrochemical method. The absence of any functional group in the chemical structure of BaP limits its possible interaction with functional monomers *via* H-bonding, ionic or dipolar interactions,²⁰ thus restraining those interactions with hydrophobic and π - π ones.²¹ For this reason, we decided to take advantage of its aromatic structure by using ferrocene as a redox tracer. The two cyclopentadienyl rings in its structure could generate aromatic stacking interactions with BaP.²² Such interactions might promote the recognition of BaP by e-MIPs and cause detectable modifications of the ferrocene redox properties. Ferrocene constitutes an appropriate redox tracer since it can be easily oxidized in a stable ferricenium ion. Ferrocene and its derivatives have been widely used to develop electrochemical sensors due to their reversible oxidation process that is sensitive to the environment.²³ In order to covalently bind this tracer to the polymer network, it was functionalized by a vinyl group to prepare vinylferrocene (VFc, Fig. 1) according to a previously described procedure.²⁴ In this work, ethylene glycol dimethacrylate (EDMA) was chosen as a crosslinker because its chemical structure prevents the generation of π - π interactions with BaP and avoids interferences with the action of the ferrocene moiety.

Small MIP particles were required to introduce the electrochemical MIPs inside a working electrode or a sensing device.

^a Université de Toulon, MAPIEM, EA 4323, 83957 La Garde, France.
E-mail: branger@univ-tln.fr, brisset@univ-tln.fr; Tel: +33 494146729,
+33 494146724

^b Société du Canal de Provence, Le Tholonet CS70064,
13182 Aix-en-Provence Cedex 5, France

† Electronic supplementary information (ESI) available. See DOI: 10.1039/c4cc02658f

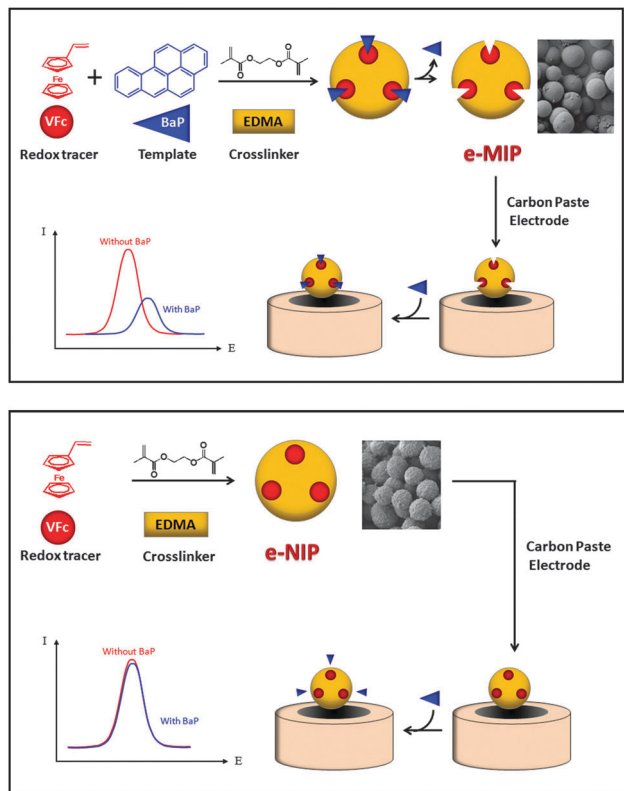


Fig. 1 Schematic representations of e-MIPs and e-NIPs syntheses, their integration in the carbon paste electrode and the resulting electrochemical responses.

Performing bulk polymerization followed by grinding and sieving was avoided because of the inherent drawbacks of this method (a tedious procedure with low yields leading to particles of irregular sizes and shapes). Nano- or microsized MIP beads can be easily obtained through precipitation polymerization without addition of any surfactant in a diluted medium using a near- θ solvent.²⁵ First attempts to prepare e-MIP particles by this synthetic pathway were unsuccessful. For this reason, distillation-precipitation polymerization was then performed.²⁶ The basic principle remained unchanged (near- θ solvent, diluted conditions) but after a short period of polymerization, a partial distillation of the solvent was achieved using a Dean-Stark apparatus. This procedure led to microsized polymer beads in a quite short reaction time (3 h compared to an average of 24 to 48 h for a classical precipitation polymerization).

Various solvent conditions were studied based on the use of the classical solvents, such as acetonitrile and toluene. Pure acetonitrile led to well-formed non-imprinted polymer (NIP) beads but coalescence of the particles was observed for the corresponding MIP (Fig. S1, ESI[†]). Toluene, a good solvent for BaP, was then introduced in increasing proportions. Spherical independent particles of e-MIPs could only be obtained from a volumetric proportion of 20% of toluene in acetonitrile (e-MIP20), since for lower ratios, the coalescence phenomenon was still observed. Whereas a 30% ratio gave also beads (e-MIP30), no precipitation was observed when 40% of toluene was introduced.

The polymerization yields did not exceed 50% as a result of the quenching of the macroradical due to the transfer between the polymer chains and the vinylferrocene monomer. Indeed, the intramolecular electron transfer from the iron center may generate an anionic chain end resulting in a termination reaction.²⁷ E-MIPs and e-NIPs were analyzed by scanning electron microscopy (SEM) (Fig. S2 and S3, ESI[†]). Microsized beads (from 1.5 to 2.4 μm) were observed and a better homogeneity, in terms of sizes and shapes, was found for e-MIP particles compared to those of e-NIPs (Table S2, ESI[†]). Contrary to e-MIPs, e-NIP particles were also better defined when the toluene percentage was low. These observations showed the impact of the presence of BaP on the polymerization of the vinylferrocene monomer with EDMA. Elemental analysis was performed to assess the correct introduction of the vinylferrocene monomer inside the polymer matrix and the effective leaching of the BaP outside e-MIP particles (Table S3, ESI[†]).

The binding properties were investigated in an aqueous rich medium (water/acetonitrile (99:1, v/v)) in batch mode. Both imprinted polymers exhibited much higher affinity for BaP than the corresponding non-imprinted materials (Fig. 2) leading to imprinting factors of 1.3 and 1.7 for e-MIP20 and e-MIP30, respectively. Binding capacity values of 3.3 and 3.7 mg g^{-1} were measured under those conditions. These relatively high values could be the result of the occurrence of specific π - π interactions between BaP and the ferrocene moiety. The enhanced values of the imprinting factor and the binding capacity of e-MIP30 compared to e-MIP20 are in agreement with a beneficial impact of toluene on the imprinting effect.

Cross-selectivity of e-MIPs towards other PAHs was studied by putting the imprinted and non-imprinted polymers in contact with solutions of BaP with one interfering PAH (chosen between fluorene, phenanthrene, anthracene, fluoranthene, pyrene, chrysene or dibenzo(*a,h*)anthracene). The selectivity coefficients (k) ranged from 0.40 to 2.86 (Table S5, ESI[†]). This highest value corresponded to the ratio of the distribution coefficient of BaP vs. phenanthrene for e-MIP20. The low range of k values was in agreement with the very similar aromatic structures of BaP and other PAHs, and the lack of specific chemical functionalities for

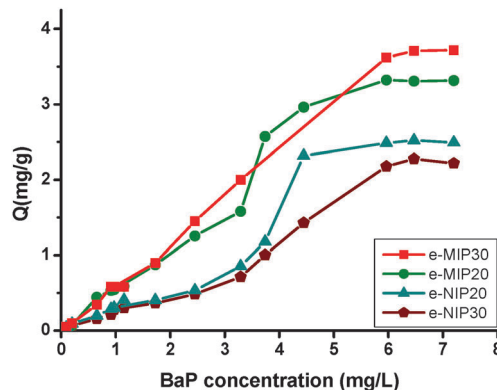


Fig. 2 Equilibrium binding isotherms of different polymers (Q = binding capacity in mg of BaP per g of e-MIP/e-NIP particles) in water/acetonitrile (99:1, v/v).

such compounds. Except in the case of fluorene for e-MIP20, and pyrene and chrysene for e-MIP30, the relative selectivity coefficients k' , defined as the ratio of $k(\text{MIP})/k(\text{NIP})$, were in favor of the imprinted polymers. This still showed the imprinting effect and spoke in favor of specific interactions between BaP and the vinylferrocene monomer.

Carbon paste was chosen to immobilize e-NIPs and e-MIPs for electrochemical characterization. Carbon paste electrodes (CPEs) are very simple and easy to fabricate and present other advantages such as stability in various solvents, relatively low-background characteristics and a low residual current.²⁸ For each e-MIP or e-NIP, a mixture of carbon paste/e-MIP or e-NIP (4:1, w/w) was prepared and put in a 5 mm diameter empty working electrode (Fig. S4, ESI†). After drying under vacuum, the carbon paste custom working electrode was polished and used in a classical three electrode cell equipped with platinum as a counter electrode and the Saturated Calomel Electrode (SCE) as a reference electrode.

Cyclic voltammograms (CVs) of e-MIP20CPE and e-MIP30CPE and their corresponding e-NIPCPE were recorded in acetonitrile with $n\text{-Bu}_4\text{NPF}_6$ (0.1 M) as a supporting electrolyte. All CVs exhibited anodic and cathodic shoulders related to the oxidation and the reduction of the redox system ferrocene/ferricenium whereas the CV of the bare CPE in the same solution did not show any redox system (Fig. S5 and S6, ESI†). In all cases, anodic (E_{pa}) and cathodic (E_{pc}) potential values were constant with the scan rate. Anodic (I_a) and cathodic (I_c) current values were linearly dependent on the square root of the scan rate (5 to 500 mV s^{-1}) with correlation coefficients higher than 0.95. These

data were in good agreement with a system under diffusion control which could be due to electron hopping between neighbouring redox sites and through counter-ion motion. This might explain the peak separation potential ($E_{\text{pa}} - E_{\text{pc}}$) greater than (59/ n) mV indicating that ferrocene did not act as a reversible system.

Determination of the amount of ferrocene oxidized during the anodic potential sweep was carried out by evaluation of the electrical charge (Q) associated with the process. Q was determined from the area of the oxidation peak and was related to the number of moles by the equation: $Q = nFN$, where F is the Faraday constant, n is the number of electrons involved in the oxidation process ($n = 1$ for the ferricenium/ferrocene couple) and N is the number of moles of the transformed electroactive species. In all cases the charge Q decreased with the scan rate and this might be attributed to the carbon paste used to prepare custom electrodes.²⁹

To evaluate the BaP effect on the redox signal of ferrocene, electrochemical behaviors of e-NIP20CPE and e-MIP20CPE, on one hand, and of e-NIP30CPE and e-MIP30CPE on the other hand, were investigated by Differential Pulse Voltammetry (DPV) and Square Wave Voltammetry (SWV), respectively (Fig. 3). As expected anodic DPV scans for e-NIP20CPE and e-MIP20CPE showed one electron oxidation peaks of ferrocene at $E_{1/2} = 0.42$ and 0.43 V vs. SCE, respectively (Fig. 3(a) and (b)). After addition of 100 μL of a 10 mg L^{-1} BaP solution in acetonitrile directly into the electrolyte solution (final concentration of BaP = 0.2 mg L^{-1}), a very small variation of the current intensity with an amplitude of 1–2 μA was observed for e-NIP20CPE with an oxidation peak

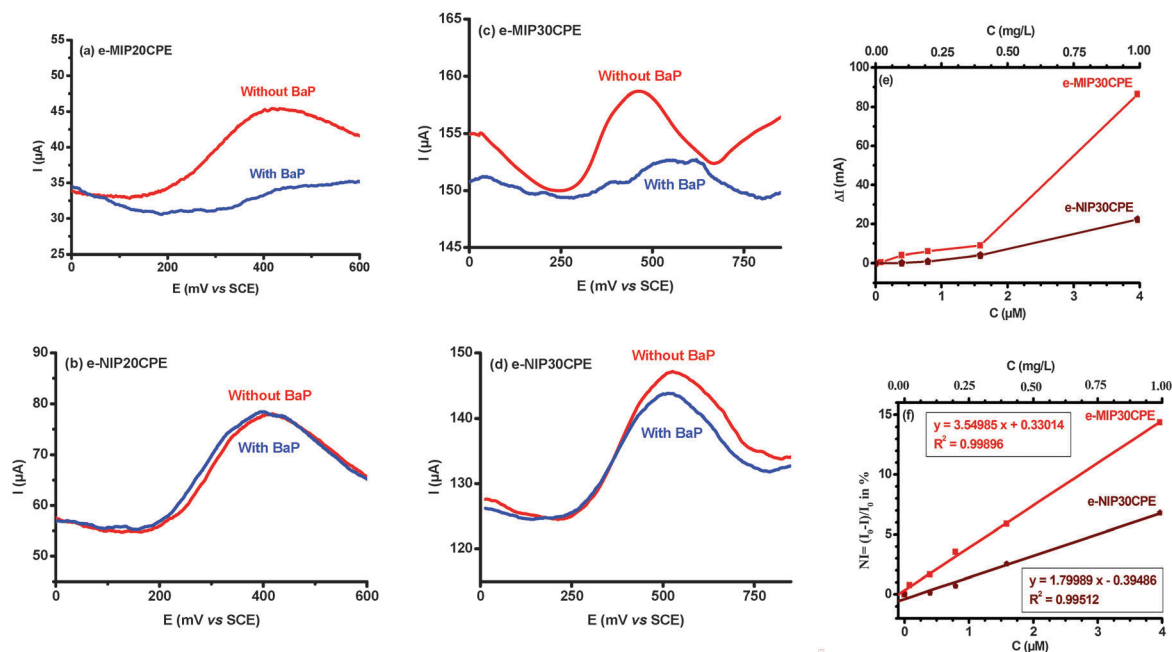


Fig. 3 DPV of e-MIP20CPE (a) and e-NIP20CPE (b) with and without BaP after 4 h. SWV of e-MIP30CPE (c) and e-NIP30CPE (d) with and without BaP after 4 h. Voltammetric conditions for DPV: 50 mV pulse amplitude, 5 mV step potential; for SWV: 150 mV pulse amplitude, 2 mV step potential. (e) Change in the current intensity of e-MIP30CPE and e-NIP30CPE using SWV and as a function of BaP concentration in electrolyte solution. (f) Normalized current curves where I is the current obtained in the presence of BaP and I_0 the current before BaP addition (formulated in percentage as a function of added BaP).

value rather constant (Fig. S7, ESI†). In contrast, for e-MIP20CPE significant modifications of current intensity and oxidation peak values were rapidly observed. The oxidation peak of ferrocene shifted positively and decreased under the initial value before addition of BaP. On the other hand, the oxidation peak value of ferrocene with BaP was unstable (Fig. S7, ESI†). SWV of e-NIP30CPE and e-MIP30CPE revealed the anodic peak of ferrocene at $E_{1/2} = 0.53$ and 0.47 V vs. SCE, respectively (Fig. 3(c) and (d)).

After addition of $100 \mu\text{L}$ of BaP at 10 mg L^{-1} in acetonitrile (final concentration of BaP = 0.2 mg L^{-1}), only a decrease of the current intensity by $4\text{--}5 \mu\text{A}$ was observed with a constant oxidation peak value for e-NIP30CPE. Nevertheless, e-MIP30CPE showed a different behavior compared to e-MIP20CPE. After addition of BaP, an increase of the current intensity was observed first with a constant value of oxidation peak (Fig. S7, ESI†). After 4 h, an important decrease of the current intensity was observed with a positive shift of the oxidation peak from 0.47 to 0.55 V and then the signal stayed relatively constant.

Because SWV showed a much higher current sensitivity, it was used to estimate the limit of detection of BaP (Fig. 3(e) and (f)). The plot of percentage of current intensity variation of e-MIP30CPE and e-NIP30CPE at 0.46 V vs. concentration of BaP consisted of two linear segments with slopes of 3.55 and $1.80\%/ \mu\text{M}$, respectively, in the concentration ranges of 0 to 1 mg L^{-1} (0.08 to $3.97 \mu\text{M}$; $R^2 > 0.995$ in both cases). The limits of detection calculated for e-MIP30CPE and e-NIP30CPE were found to be 0.09 and $0.24 \mu\text{M}$ of BaP, respectively. Limits of quantification obtained for e-MIP30CPE and e-NIP30CPE were 0.32 and $0.82 \mu\text{M}$ of BaP respectively.

In conclusion, original MIPs were synthesized integrating a redox tracer during the polymerization process. This tracer was used as an electrochemical sensing element to recognize a target compound without redox properties (BaP in this study). Therefore, intrinsic electrochemical MIPs were reported for the first time and are called e-MIPs. Electrochemical measurements revealed drastically different behaviors of e-MIPs and their corresponding e-NIPs. This property is very promising for future applications in the field of sensors. A versatile kind of MIP-based receptor for electrochemical sensors has thus been designed and can be applied to a wide range of analytes, with or without redox properties, by only changing the template, with a compatible redox tracer, during the MIP synthesis.

As far as BaP detection is involved, next challenges will be: (i) to increase selectivity and sensitivity by choosing a more aromatic redox probe in order to enhance π -stacking interactions with BaP during polymerization, and (ii) to prepare a screen printed carbon electrode with two working electrodes

designed for e-MIPs and e-NIPs, respectively, in order to conduct relative electrochemical measurements.

The authors acknowledge financial support from the “Société du Canal de Provence” and from the Regional Council of Provence Alpes Côte d’Azur (France) and Bernard Fache from MAPIEM Laboratory for SEM images.

Notes and references

- 1 K. Haupt and K. Mosbach, *Chem. Rev.*, 2000, **100**, 2495–2504.
- 2 L. Ye and K. Haupt, *Anal. Bioanal. Chem.*, 2004, **378**, 1887–1897.
- 3 A. A. Volkert and A. J. Haes, *Analyst*, 2014, **139**, 21–31.
- 4 G. Vlatakis, L. I. Andersson, R. Müller and K. Mosbach, *Nature*, 1993, **361**, 645–647.
- 5 M. J. Whitcombe, N. Kirsch and I. A. Nicholls, *J. Mol. Recognit.*, 2014, **27**, 297–401.
- 6 C. Alexander, H. S. Andersson, L. I. Andersson, R. J. Ansell, N. Kirsch, I. A. Nicholls, J. O’Mahony and M. J. Whitcombe, *J. Mol. Recognit.*, 2006, **19**, 106–180.
- 7 Y. Fuchs, O. Soppera and K. Haupt, *Anal. Chim. Acta*, 2012, **717**, 7–20.
- 8 M. J. Whitcombe, I. Chianella, L. Larcombe, S. A. Piletsky, J. Noble, R. Porter and A. Horgan, *Chem. Soc. Rev.*, 2011, **40**, 1547–1571.
- 9 M. C. Moreno-Bondi, F. Navarro-Villoslada, E. Benito-Pena and J. L. Urraca, *Curr. Anal. Chem.*, 2008, **4**, 316–340.
- 10 F. L. Dickert, O. Hayden, R. Bindeus, K. J. Mann, D. Blaas and E. Waigmann, *Anal. Bioanal. Chem.*, 2004, **378**, 1929–1934.
- 11 Y. Zhang and K. D. Shimizu, in *Chemosensors: Principles, Strategies*, ed. B. Wang and E. V. Anslyn, John Wiley & Sons, 2011, pp. 107–120.
- 12 S. A. Piletsky and A. P. F. Turner, *Electroanalysis*, 2002, **14**, 317–323.
- 13 V. Suryanarayanan, C.-T. Wu and K.-C. Ho, *Electroanalysis*, 2010, **22**, 1795–1811.
- 14 C. Malitesta, E. Mazzotta, R. A. Picca, A. Poma, I. Chianella and S. A. Piletsky, *Anal. Bioanal. Chem.*, 2011, **402**, 1827–1846.
- 15 M. C. Blanco-López, M. J. Lobo-Castañón, A. J. Miranda-Ordieres and P. Tuñón-Blanco, *TrAC, Trends Anal. Chem.*, 2004, **23**, 36–48.
- 16 R.-N. Liang, D.-A. Song, R.-M. Zhang and W. Qin, *Angew. Chem., Int. Ed.*, 2010, **49**, 2556–2559.
- 17 N. Luo, D. W. Hatchett and K. R. Rogers, *Electroanalysis*, 2006, **18**, 2180–2187.
- 18 G. Mastrangelo, E. Fadda and V. Marzia, *Environ. Health Perspect.*, 1996, **104**, 1166–1170.
- 19 R. Dabestani and I. N. Ivanov, *Photochem. Photobiol.*, 1999, **70**, 10–34.
- 20 J.-P. Lai, R. Niessner and D. Knopp, *Anal. Chim. Acta*, 2004, **522**, 137–144.
- 21 X. Song, J. Li, S. Xu, R. Ying, J. Ma, C. Liao, D. Liu, J. Yu and L. Chen, *Talanta*, 2012, **99**, 75–82.
- 22 J. Burdeniuc, R. H. Crabtree, A. L. Rheingold and G. P. A. Yap, *Bull. Soc. Chim. Fr.*, 1997, **134**, 955–958.
- 23 P. Molina, A. Tárraga and A. Caballero, *Eur. J. Inorg. Chem.*, 2008, 3401–3417.
- 24 K. M. Joly, R. M. Gleixner, S. M. E. Simpkins, D. M. Coe and L. R. Cox, *Tetrahedron*, 2007, **63**, 761–767.
- 25 J. Wang, P. A. G. Cormack, D. C. Sherrington and E. Khoshdel, *Pure Appl. Chem.*, 2007, **79**, 1505–1519.
- 26 F. Bai, X. Yang and W. Huang, *Macromolecules*, 2004, **37**, 9746–9752.
- 27 C. U. Pittman, *J. Inorg. Organomet. Polym. Mater.*, 2005, **15**, 33–55.
- 28 I. Švancara, K. Vytrás, K. Kalcher, A. Walcarus and J. Wang, *Electroanalysis*, 2009, **21**, 7–28.
- 29 R. Martínez, M. T. Ramírez and I. González, *Electroanalysis*, 1998, **10**, 336–342.

Développement de polymères à empreintes moléculaires électrochimiques pour la surveillance en micropolluants organiques des eaux dans les ouvrages du Canal de Provence

La technique de l'impression moléculaire permettant d'obtenir des polymères hautement sélectifs est utilisée dans de nombreuses applications. Dans le cadre de cette thèse, cette technique est employée pour préparer des polymères spécifiques du benzo(a)pyrène (BaP) en vue d'une application capteur. L'introduction d'une sonde rédox au sein même du réseau de polymère offre la possibilité d'une détection directe de la cible, par une technique électrochimique. Dans le domaine des MIPs, ce travail est le premier à décrire l'utilisation d'un monomère participant à la formation du réseau tridimensionnel tout en apportant une propriété rédox. Les polymères synthétisés par polymérisation par précipitation ont été caractérisés en termes de composition, de stabilité thermique et de propriétés texturales. Les propriétés de rétention ont été évaluées en mode batch par HPLC-UV en présence de BaP et d'interférents de type hydrocarbures aromatiques polycycliques. Ces MIPs présentent de bonnes propriétés d'adsorption vis-à-vis du BaP avec des facteurs d'empreinte supérieurs à 1 montrant l'efficacité de l'impression. Ces propriétés sont conservées en présence d'une matière organique (sel d'acide humique), mais également après plusieurs cycles d'utilisation. Les analyses électrochimiques ont démontré que les propriétés électrochimiques de ces MIPs diffèrent selon la présence ou pas de la cible avec une limite de détection de 0,09 μM en BaP, ouvrant la porte à la réalisation de capteurs.

Mots clés : Polymère à empreintes moléculaires, capteur électrochimique, benzo(a)pyrène, polymérisation par précipitation, SWV, DPV.

Development of an electrochemical molecularly imprinted polymer for the surveillance of organic micro pollutants in the water of Canal de Provence

Molecularly Imprinted Polymers show highly selective affinity towards the target molecule and are used in many applications. In this context, the technology is used for preparing selective polymers for benzo(a)pyrene (BaP) with the aim of sensor fabrication. The addition of a redox tracer inside the polymer allows the possibility of direct target detection by an electrochemical technique. In the MIP field, this work is the first reporting the use of a functional monomer that not only participates in the creation of the polymer network but also provides a redox property. The polymers synthesized using precipitation polymerization technique were characterized in terms of composition, thermal stability and textural properties. The adsorption properties were evaluated in batch mode by HPLC-UV in the presence of BaP and interfering polycyclic aromatic hydrocarbons. These MIPs show good adsorption behavior towards BaP with imprinting factors superior to 1 showing the efficiency of the molecular imprinting. These properties were also preserved even in presence of an organic matter (humic acid salt), and also after several uses. Finally, electrochemical analysis showed that these MIPs had a different electrochemical behavior depending on the presence or the absence of the target with a detection limit of 0.09 μM for BaP. The use of such electrochemical MIPs can thus be interestingly considered in sensor devices.

Keywords: Molecularly imprinted polymer, electrochemical sensor, benzo(a)pyrene, precipitation polymerization, SWV, DPV.