



HAL
open science

Élaboration de particules de polymère magnétiques multifonctionnelles pour la préparation d'échantillons biologiques

Céline Chong

► **To cite this version:**

Céline Chong. Élaboration de particules de polymère magnétiques multifonctionnelles pour la préparation d'échantillons biologiques. Polymères. Université Claude Bernard - Lyon I, 2013. Français. NNT : 2013LYO10333 . tel-01153578

HAL Id: tel-01153578

<https://theses.hal.science/tel-01153578>

Submitted on 20 May 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.

N° d'ordre : 333-2013

Année 2013

**Thèse de l'université de Lyon délivrée par
L'UNIVERSITE CLAUDE BERNARD LYON 1**

Ecole doctorale de Chimie – ED206

DIPLOME DE DOCTORAT

Discipline : Chimie
(arrêté du 7 août 2006)

**Elaboration de particules de polymère magnétiques
multifonctionnelles pour la préparation d'échantillons biologiques**

soutenue le 17 décembre 2013

par Mme CHONG Céline

Composition du jury

Mme DELAITE Christelle	Professeur, Université de Haute Alsace	Rapporteur
Mme HEROGUEZ Valérie	Directeur de Recherche, CNRS	Rapporteur
M. DELAIR Thierry	Professeur, Université Claude Bernard Lyon 1	Président du jury
Mme BOURGEAT-LAMI Elodie	Directeur de Recherche, CNRS	Directrice de thèse
Mme LANSALOT Muriel	Chargé de Recherche, CNRS	Co-encadrante
Mme JARY Dorothée	Ingénieur Chercheur, CEA	Encadrante CEA
Mme CHARLEUX Bernadette	Professeur, Université Claude Bernard Lyon 1	Membre invité

UNIVERSITE CLAUDE BERNARD - LYON 1

Président de l'Université

Vice-président du Conseil d'Administration

Vice-président du Conseil des Etudes et de la Vie Universitaire

Vice-président du Conseil Scientifique

Directeur Général des Services

M. François-Noël GILLY

M. le Professeur Hamda BEN HADID

M. le Professeur Philippe LALLE

M. le Professeur Germain GILLET

M. Alain HELLEU

COMPOSANTES SANTE

Faculté de Médecine Lyon Est – Claude Bernard

Faculté de Médecine et de Maïeutique Lyon Sud – Charles Mérieux

Faculté d'Odontologie

Institut des Sciences Pharmaceutiques et Biologiques

Institut des Sciences et Techniques de la Réadaptation

Département de formation et Centre de Recherche en Biologie Humaine

Directeur : M. le Professeur J. ETIENNE

Directeur : Mme la Professeure C. BURILLON

Directeur : M. le Professeur D. BOURGEOIS

Directeur : Mme la Professeure C. VINCIGUERRA

Directeur : M. le Professeur Y. MATILLON

Directeur : M. le Professeur P. FARGE

COMPOSANTES ET DEPARTEMENTS DE SCIENCES ET TECHNOLOGIE

Faculté des Sciences et Technologies

Département Biologie

Département Chimie Biochimie

Département GEP

Département Informatique

Département Mathématiques

Département Mécanique

Département Physique

Département Sciences de la Terre

UFR Sciences et Techniques des Activités Physiques et Sportives

Observatoire des Sciences de l'Univers de Lyon

Polytech Lyon

Ecole Supérieure de Chimie Physique Electronique

Institut Universitaire de Technologie de Lyon 1

Institut Universitaire de Formation des Maîtres

Institut de Science Financière et d'Assurances

Directeur : M. le Professeur F. DE MARCHI

Directeur : M. le Professeur F. FLEURY

Directeur : Mme le Professeur H. PARROT

Directeur : M. N. SIAUVE

Directeur : M. le Professeur S. AKKOUCHE

Directeur : M. le Professeur A. GOLDMAN

Directeur : M. le Professeur H. BEN HADID

Directeur : Mme S. FLECK

Directeur : Mme la Professeure I. DANIEL

Directeur : M. C. COLLIGNON

Directeur : M. B. GUIDERDONI

Directeur : M. P. FOURNIER

Directeur : M. G. PIGNAULT

Directeur : M. C. VITON

Directeur : M. A. MOUGNIOTTE

Administrateur provisoire : M. N. LEBOISNE

Résumé

Ce travail de thèse porte sur l'élaboration de particules de polymère magnétiques capables de capter et relarguer différents microorganismes par des interactions électrostatiques non spécifiques. Des nanoparticules d'oxyde de fer cationiques stabilisées par des contre-ions nitrate ont été synthétisées par co-précipitation de sels de fer. La surface de la maghémite obtenue a été modifiée par voie sol-gel avec un organosilane présentant une fonction méthacrylate pour permettre son incorporation covalente dans des particules de latex par des réactions de copolymérisation. Ces particules ont été obtenues par polymérisation radicalaire en dispersion, en émulsion ou en miniémulsion du méthacrylate de méthyle ou du styrène, conduite en présence de maghémite. Les interactions entre celle-ci et le stabilisant rendent difficile la formation de latex magnétiques par polymérisation en dispersion. En revanche, la polymérisation en (mini-)émulsion permet, selon la technique de dispersion des oxydes de fer utilisée avant polymérisation, l'obtention de particules de latex de 140 à 650 nm, dont la fraction magnétique varie entre 2 et 37 % et contient jusqu'à 91 % de maghémite. La distribution de taille est toutefois large. Les particules magnétiques ainsi obtenues ont été ensuite fonctionnalisées directement au cours de la polymérisation en émulsion par l'introduction de co-monomères chargés, de polyélectrolytes ou de polyamphotères réamorçables. Ces deux derniers types de polymère sont obtenus par polymérisation RAFT. Leur capacité de capture/relargage a été évaluée sur des systèmes modèles à base de silice. Les polyamphotères donnent de bons résultats sur de nombreux microorganismes.

Mots clés :

Nanoparticules, Oxyde de fer, Magnétisme, Modification de surface, Sol-Gel, Silane, Encapsulation, Polymérisation en Dispersion, Emulsion, Miniémulsion, RAFT, Microorganismes

Abstract

This thesis describes the synthesis of magnetic latexes which are able to capture and release various microorganisms via non-specific and electrostatic interactions. Cationic iron oxide nanoparticles stabilized by nitrate counterions were synthesized by the co-precipitation of iron salts in water. The surface of the as-obtained maghemite was then modified by a sol-gel process using a methacrylate-functionalized organosilane, in order to incorporate the iron oxide nanoparticles into latex particles by copolymerization reactions. Magnetic particles were obtained by dispersion, emulsion or miniemulsion polymerization of styrene or methyl methacrylate, performed in the presence of iron oxide. Due to the interaction between the stabilizers and iron oxides, dispersion polymerization was not a suitable approach. On the other hand, (mini-)emulsion polymerization led to a large range of particle diameters (140 – 650 nm), according to the process used to disperse iron oxides prior to the polymerization. These latexes contained between 2 and 37 % of magnetic particles, incorporating up to 91% of iron oxide. But the size distribution remained quite broad in all cases. The functionalization of the as-prepared magnetic particles was then undertaken by the introduction of either a charged co-monomer or polyelectrolytes or polyampholytes reactivable during the polymerization process. These kinds of polymers were synthesized by RAFT polymerization. Their ability to capture and release microorganisms was tested on silica-based model systems. Polyampholytes displayed good results on several microorganisms.

Keywords:

Nanoparticles, Iron oxide, Magnetism, Surface modification, Sol-Gel, Silane, Encapsulation, Dispersion polymerization, Emulsion, Miniemulsion, RAFT, Microorganisms

Remerciements

Je tiens tout d'abord à adresser mes remerciements à Mme Valérie Heroguez et Mme Christelle Delaite pour avoir accepté de rapporter cette thèse, ainsi qu'à M. Thierry Delair d'avoir bien voulu la présider.

Je remercie également mes encadrantes : Elodie Bourgeat-Lami, Muriel Lansalot et Dorothée Jary pour m'avoir donné la chance de travailler sur ce sujet, alors que le monde des polymères et des milieux dispersés m'était jusqu'alors totalement inconnu. Merci également pour la grande autonomie que vous m'avez accordée, j'ai conscience que ça n'a pas toujours été facile pour vous.

J'aimerais exprimer ma reconnaissance au CEA Grenoble pour avoir financé cette thèse et à Guillaume Delapierre pour avoir suivi de près son déroulement.

Un grand merci également à Bernadette Charleux, qui était directrice du laboratoire lorsque je suis arrivée. Merci de m'avoir accueillie dans ton laboratoire et surtout merci d'avoir pris le temps d'assister à mes réunions et d'avoir suivi ma thèse, malgré toutes les responsabilités que tu avais déjà. J'ai réellement apprécié ta disponibilité.

J'aimerais remercier tous ceux avec qui j'ai pu échanger pour les différentes analyses : Ruben Checa et Dominique Luneau pour la magnétométrie, Xavier Jaurand et Christelle Boulé pour la MET, Ruben Vera et Erwan Jeanneau pour la DRX, Christine Stern et Michel Picquet pour le RAMAN.

Et je n'oublie pas tous ceux du laboratoire, merci Christine pour les conseils en RMN, merci Pierre-Yves pour la DDL, la MEB, la cryo-TEM, les bugs informatiques et les bugs en tout genre et surtout les fous rires. Merci à toi Olivier pour l'ATG, l'IR, les SEC, tu tombais toujours à pic (sans mauvais jeux de mots) quand j'étais désespérée de me battre avec les pastilles ou les nouveaux logiciels. Merci aussi pour tout le reste : le soutien, les conseils et les petits « délires » ☺.

Merci à Seb et à Jean-Pierre pour votre aide, car même si j'appartenais « au côté obscur », j'ai toujours pu compter sur vous quand j'avais des questions de bricolage. Merci aussi pour ta grande générosité Jean-Pierre, tu partages toujours tout, ta bonne humeur, ta culture, ton savoir, merci pour tout.

Je souhaite également exprimer ma gratitude à tous les autres permanents du laboratoire : Tim, notre nouveau directeur, Franck, Christophe, Jean, Fabrice et particulièrement Vincent, toujours prêt à discuter de tout et de rien, à partager ton goût pour les Louboutin, tes coups de gueule (justifiés), tes petites crises d'hypocondriaque ☺ et surtout ta bonne humeur et ton enthousiasme pour les sciences et la vie en général. Et non, je ne t'ai pas oublié Nathalie, mais tu es plus une môman qu'un permanent ;) Merci pour ton incroyable efficacité, merci pour toutes ces discussions et ces fous rires du midi, merci pour toutes tes astuces de cuisine et pour tous les bons gâteaux que tu nous as apportés.

J'ai eu la chance d'avoir effectué cette thèse au LCPP, mais aussi à la plateforme CEA/LCOMS et au CEA à Grenoble. J'ai donc eu l'occasion de rencontrer de nombreuses personnes, que je tiens à remercier pour leur accueil et leur aide. Je souhaite plus particulièrement exprimer ma reconnaissance à Laurent Veyre, Iuliia, David « le gitan », Laurent « le mage noir » et Pierre pour m'avoir accueillie dans cette partie VIP du C2P2 et m'avoir aidé à courir après mon matériel à de nombreuses reprises...

Je tiens à remercier toutes les personnes du CEA qui m'ont accueillie très chaleureusement les quelques fois où j'y étais, merci Claire t'Kint de Roodenbeke (j'adore ton nom, même si j'ai déjà

oublié la signification...), Véronique, Daphné, Hélène et Emilie. Je remercie également tous ceux qui ont apporté leur contribution à cette thèse, Mathilde, Christophe Le Goaller et merci à tous les autres que je n'ai pas forcément croisés.

Enfin je tiens à remercier l'âme du laboratoire, c'est-à-dire les stagiaires, les post-docs, les gens en échange universitaire, les autres thésards, merci à vous tous pour votre bonne humeur et l'ambiance que vous apportez à ce laboratoire.

Un merci particulier aux RAFTeuses et surtout Isa, Ana et Wenjing que je n'ai cessé de déranger avec mes questions de RAFT et d'émulsion. Merci à mon Monsieur Dispersion, JuJu ou Parlove, sans qui je n'aurais jamais su utiliser un réacteur, ni comment lancer une polymérisation... Merci à Cédric, surtout pour m'avoir offert ce magnifique tigrounet (même si j'ai l'impression qu'il a essayé quelques tentatives de meurtre...). Merci à vous également pour votre soutien et les excellents moments (gourmands en général, il faut l'admettre) en dehors du labo. A ce propos, merci à Guilhem et Benoît, grands organisateurs d'événements afterworks et paintball ☺. Merci aussi pour toutes ces discussions Benoît, on a beau venir du même pays, on ne vient pas du même monde et j'adore discuter avec toi pour ta vision des choses et ton ouverture d'esprit, j'espère qu'on aura encore de longues discussions philosophiques !

Merci à mes co-bureaux terriblement attachants, merci Edgar (ça a été un choc pour moi de ne plus t'entendre ouvrir des cannettes de bon matin). Merci Anouchka avec qui n'importe qui devenait bavard ☺. Merci Sandra d'avoir partagé ton énergie inépuisable (je me demande d'ailleurs toujours comment tu fais) et ta passion inconditionnelle pour la danse, la bonne nourriture et les voyages. C'était vraiment un plaisir de partager le bureau avec vous, car même quand rien ne marchait vous gardiez toujours le sourire.

Merci à toi Amélie, même si tu n'es pas depuis très longtemps dans le labo (je veux dire « pas qu'une demi-journée dans le mois » ;) mais c'est comme si tu avais toujours été là. Merci pour ton aide, ton sourire et surtout merci de me faire me sentir moins geek :p

Je te remercie Leyla pour ta générosité, tes conseils, ta bonne humeur et pour m'avoir fait découvrir le houla hoop !

Enfin merci Emilie pour ta franchise, tes passions tarabiscotées (nan mais, les lapins quoi :p), ton amitié et ton soutien infailible quand j'en ai besoin. Merci sincèrement.

Je remercie également tous les autres, Aurélie, Emilie's, Geoffroy, Adriana, Thiago, Hugo, Catheline, Linn, Thomas, Laura, Xuewei, Claude, Giovanna, Pierre, Nancy... et je dois en oublier malheureusement, mais merci à vous tous.

Enfin j'aimerais remercier tous mes amis et surtout ceux avec qui on a partagé cette expérience de doctorants, Amélie, Joseph, Caroline, Antoine et Tibo. Et un merci tout particulier à Milie, car même si 510 km nous séparaient, j'ai un peu l'impression d'avoir fait cette thèse avec toi.

Pilou, Merci d'être toujours là pour moi. Merci de m'avoir soutenue, sans toi je n'aurais pas pu y arriver...

Hung, c'est aussi grâce à toi que j'ai pu faire cette thèse, j'aurais aimé que tu sois encore là pour le voir...

Sommaire

Liste des abréviations	13
Introduction générale.....	15
Chapitre 1 : Contexte et généralités sur l'application des particules de latex magnétiques à la séparation magnétique	19
I. Stabilité de (nano)particules en milieux dispersés	21
I.1. Forces d'interaction entre particules	21
I.2. Stabilisation des nanoparticules d'oxyde de fer	24
I.3. Conclusions	26
II. Application à la séparation magnétique de molécules biologiques	27
II.1. Vitesse de séparation magnétique.....	27
II.2. Les différents types de séparation de molécules biologiques	28
II.3. Particules commerciales.....	31
II.4. Méthodes d'analyse après séparation	34
II.5. Application à l'utilisation des laboratoires sur puce	36
II.6. Conclusions	37
III. Méthodes de synthèse de particules de latex magnétiques.....	38
III.1. Auto-assemblage de particules d'oxydes de fer et de polymères préalablement formés.....	39
III.2. Formation d'oxydes de fer en présence de particules de polymère préformées	41
III.3. Polymérisation de monomères en présence d'oxydes de fer	45
III.4. Conclusions	58
IV. Conclusions du chapitre 1.....	59
Références du chapitre 1	60
Chapitre 2 : Synthèse et modification de surface de nanoparticules d'oxydes de fer	65
I. Notions générales sur la synthèse et la modification de surface de nanoparticules d'oxyde de fer ...	67
I.1. Synthèse des oxydes de fer	67
I.2. Caractérisations des oxydes de fer.....	71
I.3. Modification de surface des oxydes de fer	75
II. Synthèse et caractérisations des nanoparticules de maghémite	80
II.1. Protocole de synthèse du ferrofluide.....	80
II.2. Nature des nanoparticules d'oxyde de fer par spectroscopie RAMAN	82
II.3. Caractérisation des cristallites par diffraction des rayons X (DRX)	84
II.4. Taille et dispersion de taille.....	85
II.5. Etude de la stabilité du ferrofluide.....	86
II.6. Mesures magnétiques	89
II.7. Mesure de la surface spécifique.....	89
III. Modification de surface des nanoparticules de maghémite par le MPS.....	90
III.1. Protocoles de modification de surface.....	90
III.2. Caractérisations de la modification de surface des nanoparticules de maghémite	91

IV. Conclusions du chapitre 2.....	96
Références du chapitre 2	98
Chapitre 3 : Synthèse de particules de latex magnétiques.....	101
I. Polymérisation radicalaire en milieu dispersé.....	103
I.1. Généralités sur la polymérisation radicalaire.....	103
I.2. La polymérisation en dispersion	104
I.3. La polymérisation en émulsion et miniémulsion	106
II. Définition des critères de caractérisation des particules magnétiques	110
II.1. Taux de particules magnétiques	110
II.2. Taille et dispersion de taille des particules magnétiques.....	111
II.3. Taux d'oxyde de fer dans les particules magnétiques et non magnétiques	112
II.4. Magnétisation à saturation	112
III. Encapsulation par polymérisation en dispersion	113
III.1. Polymérisation en dispersion du styrène en milieu hydro-alcoolique	113
III.2. Tests de stabilité des oxydes de fer en milieu hydro-alcoolique	117
III.3. Polymérisation en dispersion en milieu hydro-alcoolique en présence d'oxydes de fer.....	121
III.4. Conclusion	130
IV. Encapsulation par polymérisation en émulsion	131
IV.1. Nécessité d'une modification de surface	132
IV.2. Polymérisation en émulsion du styrène en présence d'oxydes de fer modifiés MPS.....	133
IV.3. Polymérisation en émulsion du MMA.....	141
V. Encapsulation par polymérisation en miniémulsion	153
V.1. Influence de la diminution de la concentration en CTAB	155
V.2. Augmentation de la concentration en oxyde de fer modifié	158
V.3. Augmentation de la taille des gouttelettes en utilisant un autre procédé de dispersion des oxydes de fer	160
V.4. Conclusion sur l'encapsulation par polymérisation en miniémulsion	161
VI. Résumé des différentes polymérisations du MMA	163
VII. Conclusions du chapitre 3.....	164
Références du chapitre 3	166
Chapitre 4 : Fonctionnalisation de la surface des particules de latex magnétique et tests biologiques	169
I. Synthèse de polymères fonctionnels	171
I.1. Cahier des charges et choix des polymères fonctionnels.....	171
I.2. Polymérisation radicalaire contrôlée et choix de la voie de synthèse	174
I.3. Choix des conditions de synthèse	176
I.4. Synthèse des polymères fonctionnels.....	176
I.5. Résumé des synthèses de polymères fonctionnels.....	184
II. Fonctionnalisation des particules de latex magnétiques	184
II.1. Fonctionnalisation par des charges de surface	185

II.2.	Fonctionnalisation par des macro-RAFTs	188
II.3.	Conclusion sur la fonctionnalisation	191
III.	Etude de la capacité de capture/relargage des polymères fonctionnels	192
III.1.	Principe et protocole des tests de capture/relargage par des particules magnétiques	192
III.2.	Résultats obtenus sur des particules de silice magnétiques commerciales.....	194
III.3.	Résultats sur les polymères adsorbés sur différents supports de silice	194
III.4.	Résultats sur les particules magnétiques fonctionnelles	197
IV.	Conclusions du chapitre 4.....	198
	Références du chapitre 4	200
	Conclusion générale.....	203
	Annexes.....	207

Liste des abréviations

Produits chimiques

ACPA	4,4'-Azobis(4-acide cyanovalérique)
AIBA	2,2'-Azobis(2-méthylpropionamide)
AIBN	2,2'-Azobisisobutyronitrile
APS	Persulfate d'ammonium
APTES	Aminopropyl triéthoxysilane
BPO	Peroxyde de dibenzoyl
CAB	Acétate butyrate de cellulose
CDCl ₃	Chloroforme deutéré
CTAB	Bromure de cetyl triméthylammonium
CTPPA	Acide 4-cyano-4-thiothiopropylsulfanyl pentanoïque
D ₂ O	Eau deutérée
DMAEMA	Méthacrylate de N,N-diméthyl-2-aminoéthyle
DMF	Diméthylformamide
DVB	Divinylbenzène
Fe ₂ O ₃	Maghémique
Fe ₃ O ₄	Magnétite
HClO	Acide hypochlorique
HNO ₃	Acide nitrique
M	Monomère
MAA	Acide MéthAcrylique
MBA	N,N-Méthylène BisAcrylamide
MMA	MéthAcrylate de Méthyle
MPS	3-Méthacryloxypropyle triméthoxysilane
ODA	Octadécylacrylate
OF	Oxyde(s) de fer
(P)EDMA	(Poly)acétate de 2-(méthacryloyl)-oxyéthyle
(P)GMA	(Poly)méthacrylate de glycidyle
(P)HEMA	(Poly)méthacrylate de 2-hydroxyéthyle
(P)NiPAM	(Poly)N-isopropylacrylamide
PAA	Poly(acide acrylique)
PEG	Poly(éthylène glycol)
PEGMA	Méthyl éther méthacrylate de polyéthylène glycol
PEI	Polyéthylène imine
PS	Polystyrène
PVA	Alcool poly(vinyle)
PVP	Poly(vinylpyrrolidone)
THF	Tétrahydrofurane
TMAH	Tétraméthylammonium

Techniques d'analyse

ATG	Analyse thermogravimétrique
BET	Calcul de la surface spécifique par la méthode de Brunauer Emmett et Teller
▶	$S_{spé}$ Surface spécifique ($m^2 g^{-1}$)
DDL	Diffusion Dynamique de la Lumière
▶	D_h Diamètre hydrodynamique (nm)
	PDI PolyDispersity Index ou indice de polydispersité, donné par l'analyse DDL
DRX	Diffusion des Rayons X
MEB	Microscopie Électronique à Balayage
MET	Microscopie Électronique à Transmission
▶	D_n Diamètre en nombre (nm)
	D_w Diamètre en masse (nm)
	\mathcal{D}_d Dispersité de taille
	σ Ecart type (nm)
RMN	Résonance magnétique nucléaire
▶	δ Déplacement chimique (ppm)
	I_0, I_t Intégrale au temps 0 ou au temps t
	x Conversion (%)
	T_h Taux d'hydrolyse (%)
SEC	Chromatographie d'exclusion stérique
▶	DP_n Degré de Polymérisation
	\mathcal{D} Dispersité des masses molaires
	M_n Masse molaire en nombre ($g mol^{-1}$)
	M_w Masse molaire en masse ($g mol^{-1}$)

Autres

%OF	Taux d'oxyde de fer
%PM	Taux de particules magnétiques
ADN	Acide déoxyribonucléique
ARN	Acide ribonucléique
ATRP	Polymérisation Radicalaire contrôlé par Transfert d'Atome
CMC	Concentration micellaire critique
ES	Extrait sec
LCST	Lower critical solution temperature ou température critique inférieur de solubilité
M_s	Magnétisation à Saturation
NMP	Polymérisation radicalaire contrôlée par les Nitroxydes
ODN	Olionucléotides
PCR	Polymerase Chain Reaction ou réaction/amplification en chaîne par polymérase
PM	Particules magnétiques
PRC	Polymérisation Radicalaire Contrôlée
RAFT	Polymérisation radicalaire contrôlée par Transfert Réversible par Addition-Fragmentation

Introduction générale

Les particules magnétiques connaissent un formidable essor depuis les années 50, notamment grâce à la découverte par Louis Néel des étonnantes propriétés magnétiques des nanoparticules d'oxyde de fer¹. Celles-ci sont superparamagnétiques, c'est-à-dire qu'elles possèdent une magnétisation en présence d'un champ magnétique, qui disparaît instantanément lorsque le champ magnétique est coupé. Cette capacité à pouvoir « allumer et éteindre » à l'infini les propriétés magnétiques rend ces particules superparamagnétiques faciles d'utilisation. Les nanoparticules de type magnétite ou maghémite sont les plus couramment utilisées. Dans la suite de ce manuscrit, ces objets seront désignés sous le terme de particules magnétiques ou matériel magnétique.

Les particules magnétiques sont rarement utilisées dans leur état brut. Elles sont habituellement incorporées dans une matrice organique (de polymère) ou inorganique de silice² et sont généralement utilisées dans un milieu liquide pour éviter leur agrégation. Elles sont alors nommées colloïdes (dans le cas général) ou latex magnétiques (pour les particules de polymère). De nombreuses morphologies sont possibles : elles peuvent par exemple être simplement fonctionnalisées par une chevelure de polymère, ou être regroupées et encapsulées dans des particules ou encore être déposées à la surface de particules. Le choix de la morphologie dépend de l'application visée. En effet selon les applications, les nanoparticules doivent être présentes en surface ou encore enterrées, selon que l'on souhaite ou non tirer parti de la réactivité chimique des oxydes de fer.

Grâce à leur simplicité d'utilisation, ces particules magnétiques possèdent de nombreux domaines d'application. Elles sont par exemple utilisées en physique dans le domaine de la mémoire magnétique (Magnetic Random Access Memory ou MRAM).³ Elles sont aussi utilisées dans le domaine médical et notamment dans des applications *in vivo*. Par leur nature, les oxydes de fer font d'excellents outils théranostiques, c'est à dire à la fois outils de diagnostic et outils de traitement.^{4, 5} En effet leurs propriétés magnétiques permettent leur détection en imagerie médicale par résonance magnétique (IRM)⁶ et également la destruction de cellules cancéreuses par hyperthermie^a (testée à partir des années 50). Le traitement peut également s'effectuer par la vectorisation et le relargage de molécules actives.⁵ Dans ce cas, les oxydes de fer doivent être modifiés afin de les rendre furtifs dans le corps et de leur permettre de s'accrocher spécifiquement sur les cellules cancéreuses. Les particules magnétiques sont également utilisées dans le domaine de la chimie et des biotechnologies, pour pouvoir séparer respectivement des catalyseurs⁷ d'un milieu réactionnel ou des molécules biologiques cibles⁸ d'un mélange complexe de type aliment ou sang.

Cette dernière application, la séparation de molécules biologiques, connaît un fort développement depuis quelques années. En effet, la détection de pathogènes dans l'organisme représente un enjeu

^a Le principe de cette technique est de « fixer » les particules magnétiques sur les cellules cancéreuses, puis d'utiliser un champ magnétique alternatif pour chauffer ces cellules à une température comprise entre 41 et 56°C provoquant ainsi leur mort.

important pour poser un diagnostic rapide. Les particules magnétiques ont par exemple permis le développement de plaques à puits^b pour l'analyse de protéines.⁹ Cette technique permet d'analyser rapidement et en parallèle plusieurs échantillons. D'autre part, les enjeux sanitaires liés à l'alimentation sont de plus en plus importants, en raison notamment d'une production alimentaire en forte croissance. Par exemple la production mondiale de viande et d'œuf a quadruplé en 40 ans. Elle était respectivement de 71 et 15 millions de tonnes en 1961 et est passée respectivement à 280 et 66 millions de tonnes en 2008.¹⁰ Les outils d'analyses microbiologiques doivent devenir plus rapides pour pouvoir répondre à cette évolution. Ceci est rendu possible par l'utilisation des particules magnétiques, qui selon leur fonctionnalisation sont capables de séparer spécifiquement des protéines, de l'ADN¹¹ ou encore de capter des antigènes. Ces particules permettent d'éviter l'utilisation d'une centrifugeuse et donc de gagner un temps précieux lors des étapes de purification.

La surveillance de l'environnement et de la qualité de l'eau sont d'autres problématiques sanitaires majeures. L'analyse microbiologique des eaux doit être rapide et si possible effectuée directement sur le terrain. La miniaturisation de l'appareillage devient alors cruciale pour pouvoir le transporter. Celle-ci est possible par l'élaboration de laboratoires miniatures, aussi appelés « laboratoires sur puce ».¹² Pour pouvoir utiliser des appareils, il faut également développer un moyen de concentration des échantillons pour qu'ils soient adaptés à la taille de l'appareil. L'utilisation de particules magnétiques est un excellent moyen de concentration puisqu'en présence d'un aimant, les particules magnétiques peuvent être concentrées en quelques minutes. Cependant, pour pouvoir concentrer divers microorganismes, il faut concevoir des particules magnétiques capables de capter un large panel de microorganismes (bactéries, virus, parasites...). C'est dans ce cadre que s'inscrit ce travail de thèse.

L'objectif de cette thèse est d'élaborer des particules de latex magnétiques capables d'interagir avec le plus grand nombre de microorganismes pouvant se trouver dans un échantillon aqueux. Pour arriver à l'élaboration de telles particules, il est d'abord nécessaire d'en déterminer les caractéristiques principales et d'établir un cahier des charges, qui sera décrit dans le premier chapitre. Puis nous décrirons chacune des étapes de la synthèse des particules de latex magnétiques, qui sont :

1. la synthèse et la modification de surface du matériel magnétique
2. l'encapsulation du matériel magnétique dans des particules de polymère
3. la synthèse des polymères fonctionnels et la fonctionnalisation de surface des particules de latex magnétiques

Chacune de ces étapes fera l'objet d'un chapitre distinct.

Ce manuscrit est donc divisé en quatre chapitres. Dans le premier chapitre, nous présenterons les principales notions permettant de comprendre les caractéristiques que doivent posséder les particules

^b Les plaques à puits sont des plaques en plastique de tailles calibrées. Elles contiennent généralement 96 puits de volume variable. Elles sont couramment utilisées pour des applications de type analyses microbiologiques ou synthèses à haut débit.

magnétiques pour une utilisation en séparation magnétique. Ceci nous permettra de définir un cahier des charges.

Le deuxième chapitre détaillera les différentes méthodes d'obtention des nanoparticules magnétiques ainsi que leurs caractéristiques. Il développera également leurs modifications de surface en vue de leur incorporation dans des particules de polymère.

Dans le troisième chapitre, nous traiterons de l'encapsulation du matériel magnétique par polymérisation en milieu dispersé. Pour cela, il rappellera tout d'abord les mécanismes de polymérisation en milieu dispersé. Puis il détaillera l'influence de différents paramètres sur les propriétés magnétiques des particules de latex magnétiques.

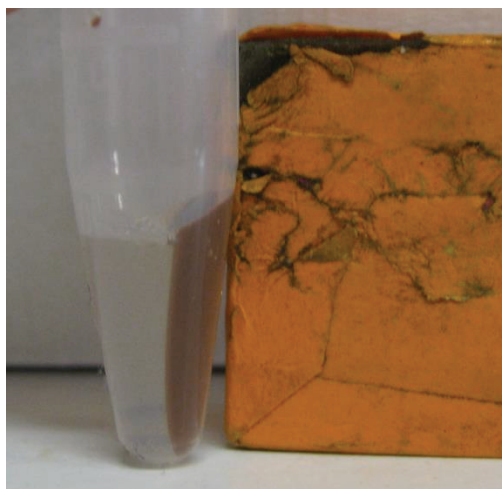
Enfin le quatrième et dernier chapitre portera sur la synthèse de polymères fonctionnels pH-sensibles et décrira leur incorporation à la surface des particules de latex magnétiques. Cette partie contiendra également les résultats des tests microbiologiques effectués à l'aide de ces polymères, ainsi qu'à partir des latex magnétiques fonctionnalisés.

Références

1. Prévot, M.; Dunlop, D. *Phys. Earth Planet. Inter.* **2001**, *126*, 7-10.
2. Mornet, S.; Grasset, F.; Portier, J.; Duguet, E. *Eur. Cell. Mater.* **2002**, *3*, 110-113.
3. Kang, Y. S.; Risbud, S.; Rabolt, J. F.; Stroeve, P. *Chem. Mater.* **1996**, *8*, 2209-2211.
4. Pankhurst, Q. A.; Connolly, J.; Jones, S. K.; Dobson, J. *J. Phys. D: Appl. Phys.* **2003**, *36*, R167.
5. Kim, E.; Lee, K.; Huh, Y.-M.; Haam, S. *J. Mater. Chem. B* **2013**, *1*, 729-739.
6. Olariu, C. I.; Yiu, H. H. P.; Bouffier, L.; Nedjadi, T.; Costello, E.; Williams, S. R.; Halloran, C. M.; Rosseinsky, M. J. *J. Mater. Chem.* **2011**, *21*, 12650-12659.
7. Ge, J.; Huynh, T.; Hu, Y.; Yin, Y. *Nano Lett.* **2008**, *8*, 931-934.
8. Shao, D.; Xu, K.; Song, X.; Hu, J.; Yang, W.; Wang, C. *J. Colloid Interface Sci.* **2009**, *336*, 526-532.
9. Zou, Z.; Ibisate, M.; Zhou, Y.; Aebersold, R.; Xia, Y.; Zhang, H. *Anal. Chem.* **2008**, *80*, 1228-1234.
10. <http://www.viande.info/viande-lait-oeuf> - Production et consommation de viande, lait et oeufs. (site consulté en juin 2013),
11. Shao, D.; Xia, A.; Hu, J.; Wang, C.; Yu, W. *Colloids Surf., A* **2008**, *322*, 61-65.
12. Ramadan, Q.; Gijs, M. M. *Microfluid Nanofluid* **2012**, *13*, 529-542.

Chapitre 1

Contexte et généralités sur l'application
des particules de latex magnétiques à la
séparation magnétique



Sommaire du chapitre 1

I. Stabilité de (nano)particules en milieux dispersés	21
I.1. Forces d'interaction entre particules	21
I.2. Stabilisation des nanoparticules d'oxyde de fer	24
I.3. Conclusions	26
II. Application à la séparation magnétique de molécules biologiques	27
II.1. Vitesse de séparation magnétique.....	27
II.2. Les différents types de séparation de molécules biologiques	28
II.3. Particules commerciales.....	31
II.4. Méthodes d'analyse après séparation	34
II.5. Application à l'utilisation des laboratoires sur puce	36
II.6. Conclusions	37
III. Méthodes de synthèse de particules de latex magnétiques.....	38
III.1. Auto-assemblage de particules d'oxydes de fer et de polymères préalablement formés.....	39
III.2. Formation d'oxydes de fer en présence de particules de polymère préformées	41
III.3. Polymérisation de monomères en présence d'oxydes de fer	45
III.4. Conclusions	58
IV. Conclusions du chapitre 1	59
<i>Références du chapitre 1.....</i>	<i>60</i>

Ce chapitre bibliographique est divisé en trois parties. La première partie portera sur les critères permettant d'assurer la stabilité de particules colloïdales, car la stabilité est un paramètre primordial quel que soit le domaine d'application envisagée. Puis une deuxième partie sera axée sur l'application à la séparation magnétique de biomolécules. Elle détaillera les techniques de séparation de biomolécules, avec des exemples de particules commerciales et se poursuivra par une ouverture sur les analyses après leur séparation. Enfin la dernière partie détaillera différentes méthodes d'obtention de particules de latex magnétiques pour pouvoir déterminer quelle voie de synthèse est la plus adaptée pour l'application visée dans ce travail de thèse.

I. Stabilité de (nano)particules en milieux dispersés

La stabilité des particules dans un milieu dispersé, quelle que soit leur nature, fait intervenir de nombreux phénomènes. Elle est le résultat de différentes interactions (attractives et répulsives) entre les particules, interactions qui seront détaillées dans la première partie de ce paragraphe. Une deuxième partie sera consacrée aux différentes méthodes de stabilisation – aussi appelées peptisation – envisagées pour stabiliser les nanoparticules d'oxyde de fer.

I.1. Forces d'interaction entre particules

I.1.1. *Interactions de London - van der Waals*

Les forces de London – van der Waals sont dues aux différences de moments dipolaires entre deux molécules. Lorsqu'il s'agit de particules, la force d'interaction résultante est la somme de toutes ces énergies d'interaction. Hamaker et al.¹ ont exprimé cette énergie d'interaction V_A en fonction du rayon des particules R , de la distance r entre les particules et de la constante A d'Hamaker dans l'équation suivante (éq. 1-1) :

$$V_A(r) = \frac{A}{6} \cdot \left[\frac{2R^2}{r^2 - 4R^2} + \frac{2R^2}{r^2} + \ln\left(\frac{r^2 - 4R^2}{r^2}\right) \right] \quad (\text{éq. 1-1})$$

A , la constante d'Hamaker dépend à la fois du milieu et du matériau. Elle est généralement comprise entre 10^{-21} et 10^{-19} J. Cette expression montre que l'énergie d'interaction de London – van der Waals est toujours attractive et que l'interaction décroît rapidement lorsque la distance entre les particules augmente. Ce qui signifie que ces interactions n'entrent en jeu que lorsque les particules sont suffisamment proches.

I.1.2. *Interactions électrostatiques ou pression osmotique des contre-ions²*

Lorsque des particules possèdent des charges de surface, elles possèdent à proximité de leur surface une concentration élevée de contre-ions. Ces ions présentent une interaction forte avec la surface et sont considérés comme immobiles. Dans le modèle de Stern, cette couche dite compacte est appelée la

couche de Stern. En s'éloignant de la particule, il y a une couche légèrement enrichie en ions mobiles par rapport au reste de la solution, appelée la couche diffuse de Gouy-Chapman. Ces deux couches forment la double couche ionique (voir Figure 1) dont l'épaisseur, appelée longueur de Debye-Hückel, est noté κ^{-1} . Celle-ci dépend de la force ionique du milieu et diminue lorsque la force ionique augmente.

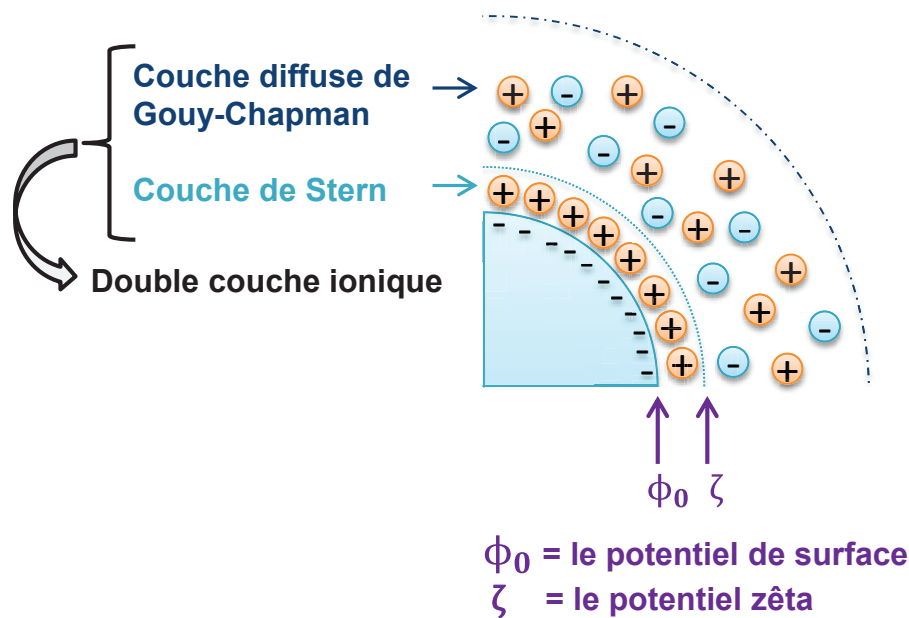


Figure 1 : Particule chargée négativement, d'après le modèle de la double couche ionique

Lorsque deux particules de même charge se rapprochent, la concentration en ions augmente au niveau de la superposition des deux doubles couches ioniques. Le mouvement brownien de ces contre-ions localement concentrés produit une pression qui permet aux particules de se repousser. Cette énergie d'interaction est couramment désignée sous le nom d'énergie de répulsion électrostatique, $V_R(r)$. Pour deux particules de rayon R espacées d'une distance r , elle peut s'écrire sous la forme (éq. 1-2) :

$$V_R(r) = 2\pi \cdot \epsilon \cdot R \cdot \phi_0^2 \cdot e^{-\kappa r} \quad (\text{éq. 1-2})$$

ϵ étant la constante diélectrique du milieu et ϕ_0 le potentiel électrique de surface des particules. Cette équation montre que pour obtenir des particules stabilisées, il faut que leurs surfaces possèdent un potentiel électrique important. Ceci est d'autant plus vrai que le milieu possède une constante diélectrique élevée, comme c'est par exemple le cas de l'eau ($\epsilon = 80$). Le potentiel électrique de surface est souvent assimilé au potentiel zêta ζ de la particule, qui est facilement accessible expérimentalement. En effet, le potentiel zêta se situe au plan de cisaillement qui délimite les deux couches ioniques et est mesurable par la mobilité électrophorétique de la particule.

Notons également que l'équation 1-2 montre que plus une particule est de faible diamètre, plus elle est difficile à stabiliser.

I.1.3. Théorie de Derjaguin, Landau, Verwey et Overbeek (DLVO)

La théorie DLVO considère que l'énergie potentielle totale d'interaction entre deux particules (V_T) est la somme des deux énergies précédemment explicitées (éq. 1-3) :

$$V_T(r) = V_A(r) + V_R(r) \quad (\text{éq. 1-3})$$

Elle est représentée graphiquement dans la figure ci-dessous (Figure 2) :

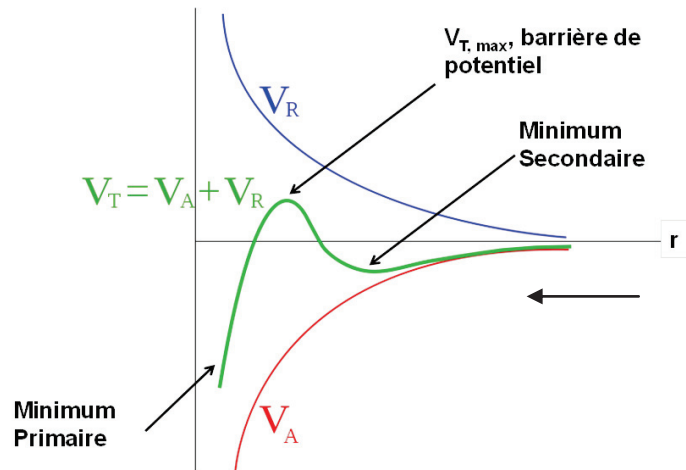


Figure 2 : Energie potentielle totale en fonction de la distance r entre deux particules : théorie DLVO

Lorsque deux particules se rapprochent, il existe une distance pour laquelle il y a un minimum d'énergie dit « secondaire ». Si les particules se trouvent dans ce puits de potentiel, elles auront tendance à s'agréger de manière réversible. Il s'agit dans ce cas du phénomène de floculation. Une agitation vigoureuse de type bain à ultrasons peut permettre de défaire cette agrégation.

Lorsque les particules continuent à se rapprocher, elles sont alors face à une barrière de potentiel qui les empêche de se rapprocher davantage. Cette barrière est d'autant plus importante que l'énergie de répulsion électrostatique est importante, c'est-à-dire que le potentiel zêta des particules est important et/ou que la force ionique est faible.

Si cette barrière de potentiel est franchie, alors le potentiel décroît rapidement, à cause de l'énergie d'interaction de London – van der Waals qui devient de plus en plus importante. Les particules « tombent » dans un puits de potentiel (minimum primaire) dont elles ne peuvent plus ressortir et les particules s'agrégent alors de manière irréversible. Dans ce cas, il s'agit de coagulation.

En résumé pour obtenir des particules stables, il faut que le maximum de l'énergie totale d'interaction (V_{Tmax}) soit le plus élevé possible. Pour cela le seul paramètre modifiable est l'énergie de répulsion électrostatique. Il faut donc que les particules possèdent un potentiel zêta non nul et/ou une couche ionique la plus épaisse possible. Cela induit donc de se situer dans un milieu ayant si possible une constante diélectrique importante et une force ionique faible.

I.2. Stabilisation des nanoparticules d'oxyde de fer

Dans le cas de particules magnétiques, il faudrait prendre en compte dans le calcul de l'énergie totale une énergie supplémentaire due aux interactions magnétiques. Toutefois, dans le cas de particules superparamagnétiques, ces forces ne s'exercent qu'en présence d'un champ magnétique et n'interviennent donc pas dans le calcul de $V_T(r)$. Cela constitue un autre avantage des nanoparticules superparamagnétiques par rapport à leurs pendants massifs ferrimagnétiques.

I.2.1. Stabilisation électrostatique

Les nanoparticules de maghémite (Fe_2O_3) ou de magnétite (Fe_3O_4) possèdent des structures cristallines composées d'atomes de fer et d'oxygène. Leur synthèse et leur structure seront détaillées dans le chapitre 2. Certains des atomes d'oxygène en surface des particules peuvent être présents sous la forme de fonctions hydroxyle ($-OH$). Ces fonctions hydroxyle peuvent être chargées selon le milieu dans lequel elles se trouvent : en milieu acide elles seront protonées $-OH_2^+$ tandis qu'en milieu basique elles seront chargées négativement $-O^-$. Ainsi, il existe un pH pour lequel il n'y a plus de charge à la surface des particules et pour lequel les particules ne sont pas stabilisées. Ce pH est appelé le point de charge nulle et est égal à 7 pour les oxydes de fer. Expérimentalement il est plus facile de déterminer le point isoélectrique des particules, qui est souvent proche du point de charge nulle. Le point isoélectrique correspond au pH pour lequel le potentiel zêta s'annule. Dans le cas de l'oxyde de fer, il est d'environ 6,7. En dehors de la gamme de pH aux environs du point isoélectrique, les particules possèdent ces charges intrinsèques, qui constituent en soi une méthode de stabilisation par répulsion électrostatique.

Cependant, selon la théorie DLVO, c'est principalement la double couche ionique qui permet la stabilité des particules car elle agit à une plus grande distance que les charges intrinsèques. Les contre-ions ont donc un rôle important à jouer dans la stabilisation des particules magnétiques. Certains contre-ions sont connus pour être non-floculants car ils sont à la fois volumineux et peu polarisants,³ ce qui limite la force d'attraction de London – van der Waals. Les exemples les plus courants sont l'hydroxyde de tétraméthylammonium (ou TMAH), les ions nitrate et hypochlorite (Figure 3).

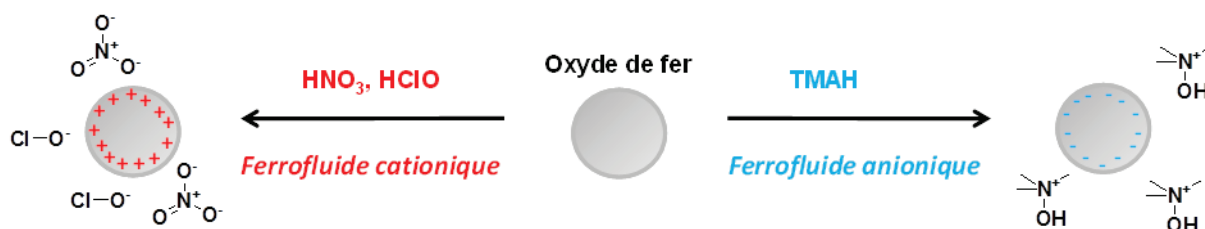


Figure 3 : Stabilisation électrostatique des oxydes de fer par des contre-ions non-floculants

Dans le cas des oxydes de fer, cette étape de peptisation permet une stabilisation si importante que les colloïdes obtenus sont alors appelés ferrofluides. En effet les oxydes de fer sont si bien dispersés en phase aqueuse que l'eau contenue dans la double couche ionique suit les mouvements des particules. Il devient alors impossible de séparer l'eau des nanoparticules d'oxyde de fer. Les ferrofluides sont

qualifiés d'anioniques, si les charges de surface sont négatives et de cationiques, si les charges de surface sont positives.

Une autre voie de stabilisation possible consiste à utiliser des molécules chargées pouvant complexer la surface de l'oxyde de fer. Les fonctions carboxylate des ions citrate en sont un exemple. Dans ce cas, le citrate possède trois fonctions qui peuvent soit se complexer à la surface, soit déployer leur charge dans le milieu pour assurer la stabilité des particules.⁴ Cette modification de surface permet d'obtenir une stabilité colloïdale à pH neutre et plus généralement une stabilité au-delà de pH 3, i.e. un ferrofluide anionique sur cette gamme de pH. Cela provient de la présence des trois fonctions carboxylate du citrate, qui induit un potentiel zêta négatif.

Enfin l'utilisation d'acides gras en double couche a également été étudiée⁵ tout comme le cas d'un mélange acide gras / tensioactif en double couche.⁶ L'oxyde de fer est alors stabilisé dans l'eau par interactions électrostatiques, mais peut aussi être aisément transféré dans un solvant organique, auquel cas la stabilisation est stérique (due à la partie hydrophobe des acides gras / tensioactifs).

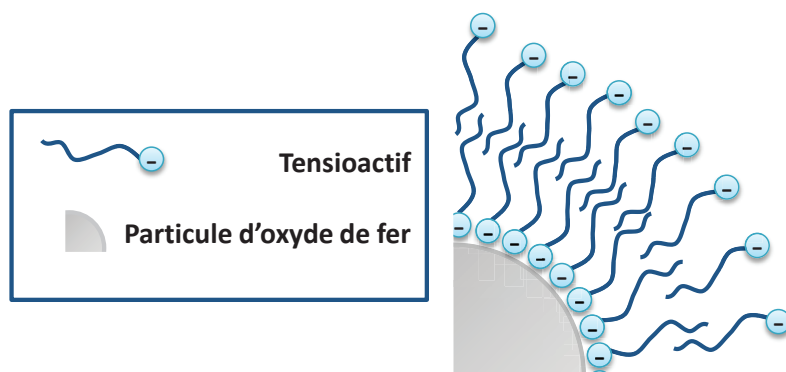


Figure 4 : Stabilisation de particules d'oxyde de fer par une double couche d'acides gras

I.2.2. Stabilisation stérique

La stabilisation stérique vise à limiter le rapprochement de deux particules par des molécules ayant un encombrement stérique important. Les molécules les plus utilisées pour ce type de stabilisation dans le cas de nanoparticules d'oxydes de fer sont les acides gras. En effet ces derniers possèdent de longues chaînes carbonées et une fonction acide carboxylique qui peut « s'ancrer » à la surface de l'oxyde de fer par complexation.⁷ Les alkylphosphonates peuvent également être utilisés car ils se complexent par les fonctions phosphonate.⁸ Bien que les deux types de molécules permettent une bonne complexation de la surface des oxydes de fer, l'utilisation d'acide oléique (Figure 5) est très souvent privilégiée. Les particules obtenues sont stables dans de nombreux solvants organiques dont des solvants apolaires contrairement aux particules stabilisées par des contre-ions. Ils sont alors qualifiés de ferrofluides organiques.

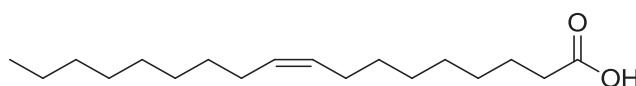


Figure 5 : Structure de l'acide oléique

I.2.3. Stabilisation (électro)stérique ou pression osmotique de macromolécules adsorbées

De la même façon que la double couche ionique peut stabiliser des particules, l'adsorption de macromolécules peut permettre la stabilisation des particules d'oxyde de fer. En effet lorsque des polymères sont adsorbés à la surface d'une particule, il existe une fraction de polymère qui est déployée autour de la particule. Si deux particules veulent se rapprocher, la couche contenant les polymères déployés doit être comprimée et le solvant contenu dans cette couche doit en être expulsé. C'est cette pression osmotique qui permet aux deux particules de se repousser.

La gamme de polymères permettant ce type de stabilisation est assez importante. Il s'agit soit de polymères non chargés, tels que la poly(*N*-Vinylpyrrolidone) (PVP),⁹⁻¹¹ soit des polymères chargés tels que le poly(acide acrylique) (PAA)¹² ou encore l'alginate,¹³ un polymère naturel. Dans le dernier cas, la stabilisation est dite électrostérique, car elle est obtenue à la fois par les charges et la gêne stérique des polymères. Ces différents polymères peuvent être introduits après^{10, 13} ou pendant la synthèse des oxydes de fer.^{9, 11, 12}



Figure 6 : Formules chimiques de la poly(*N*-vinylpyrrolidone) à gauche et du poly(acide acrylique) à droite

L'utilisation du PAA et de l'alginate permet de varier la charge en fonction du pH, ce qui apporte en plus une stabilisation électrostatique. Tandis que la PVP présente l'avantage de rendre l'oxyde de fer dispersable dans de nombreux solvants.⁹

I.3. Conclusions

La stabilisation des nanoparticules d'oxydes de fer dépend de nombreux paramètres dont les principaux sont le potentiel zêta, la nature des contre-ions et la présence de molécules adsorbées. De ce fait, il existe différentes manières de stabiliser des nanoparticules d'oxyde de fer : l'utilisation de contre-ions non flocculants, l'utilisation de stabilisants stériques tels que des acides gras, ou encore l'utilisation d'une stabilisation électro-stérique via la présence à la surface des particules de polymères chargés. Chacune de ces stabilisations possèdent des restrictions d'utilisation : par exemple l'utilisation d'une stabilisation électrostatique n'est pas efficace dans un solvant organique. Le choix

de la méthode de stabilisation dépendra donc essentiellement du milieu dans lequel l'oxyde de fer sera utilisé.

II. Application à la séparation magnétique de molécules biologiques

Nous décrivons dans cette partie le fonctionnement de particules magnétiques utilisées pour la séparation magnétique de molécules biologiques. Nous déterminerons dans un premier temps les paramètres influençant la vitesse de séparation. Puis nous présenterons les différents types de séparation de cibles biologiques et les particules magnétiques commerciales existantes. Enfin, dans la dernière partie, nous décrirons les différentes techniques permettant l'analyse de ces cibles, avant de conclure avec une ouverture sur l'utilisation de particules magnétiques dans les laboratoires sur puce.

II.1. Vitesse de séparation magnétique

L'un des principaux intérêts des particules magnétiques est de pouvoir simplifier et accélérer les procédés de séparation. La vitesse de séparation magnétique est donc un paramètre crucial et il est important d'identifier les paramètres pouvant influencer la séparation magnétique.

Considérons le cas d'une particule magnétique de rayon r et possédant un moment magnétique m , avec $m = 4/3 \cdot \pi \cdot r^3 \cdot M_s$, M_s étant la magnétisation à saturation de la particule. Celle-ci se trouve dans un milieu de viscosité η et ne se déplace que selon l'axe x . Lors de son déplacement elle est soumise à deux forces :

- une force magnétique : $F_m = m \cdot \nabla H$, avec ∇H le gradient du champ d'excitation magnétique¹⁴ et
- une force de friction visqueuse : $F_f = -6 \cdot \pi \cdot \eta \cdot r \cdot v_x$, avec v_x la vitesse de déplacement de la particule magnétique dans un champ magnétique

En régime stationnaire les forces se compensent et v_x s'écrit alors (éq. 1-4) :

$$v_x(x) = \frac{2 \cdot r^2 \cdot M_s \cdot \nabla H}{9\eta} \quad (\text{éq. 1-4})$$

La vitesse de séparation magnétique dépend donc de la taille et de la magnétisation à saturation de la particule magnétique, ainsi que de la viscosité du milieu. Ce dernier paramètre étant fixé par les conditions d'utilisation des particules magnétiques, seuls les deux premiers sont modulables pour augmenter la vitesse de séparation. La magnétisation à saturation de la particule dépendra essentiellement du taux d'oxyde de fer présent dans la particule. Ainsi, les particules doivent être riches en oxyde de fer et de taille importante pour permettre une séparation rapide.

II.2. Les différents types de séparation de molécules biologiques

Lorsqu'on parle de séparation magnétique de molécules biologiques, il s'agit en fait d'extraire ces molécules de leur milieu. La séparation se déroule en trois étapes (voir Figure 7) :

1. L'introduction des particules magnétiques capables de capter les cibles biologiques.
2. L'utilisation d'un aimant pour retirer le surnageant contenant les molécules non désirées.
3. L'utilisation d'un stimulus (changement de pH, de force ionique et/ou de température) pour relarguer les cibles biologiques. Les particules magnétiques sont alors retirées grâce à l'aimant, permettant ainsi l'analyse des cibles biologiques libérées dans le milieu.

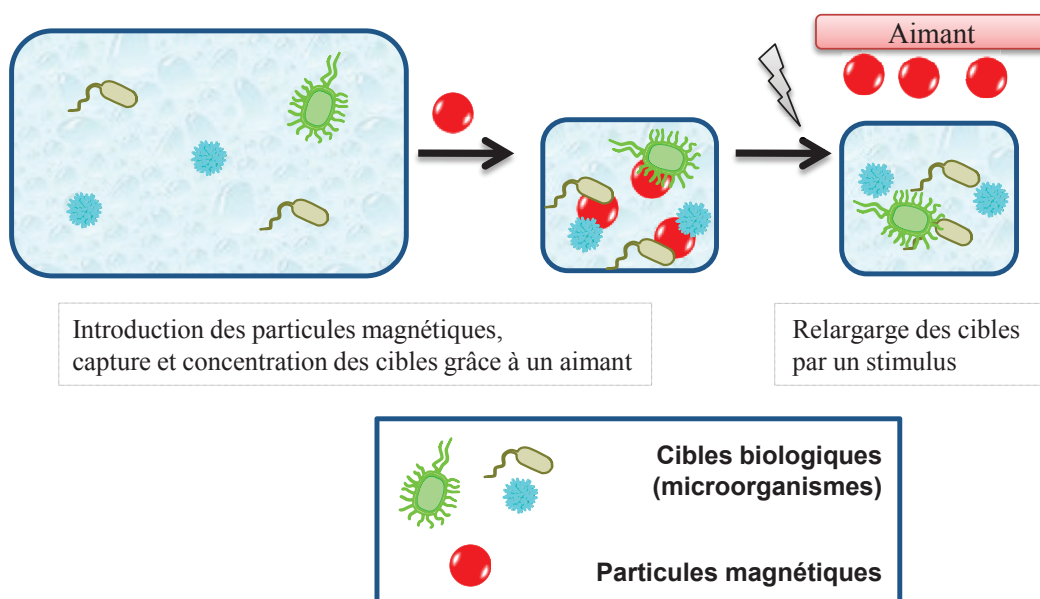


Figure 7 : Schéma représentant le processus de capture/relargage de cibles biologiques par des particules magnétiques

Ceci est le schéma général d'une séparation magnétique, mais il en existe différents types. Cette partie permettra de les définir. Elle détaillera d'abord les modes de tri (directs, indirects ou encore négatifs). Puis les notions de séparations « spécifiques » et « non spécifiques » de biomolécules seront expliquées aux travers de différents exemples.

II.2.1. Séparation directe, indirecte ou par tri négatif

La séparation magnétique peut se faire de différentes façons. La méthode la plus simple est la capture directe des cibles biologiques. Dans ce cas, des particules magnétiques ayant une affinité pour certaines cibles biologiques sont ajoutées dans un échantillon contenant un ensemble de molécules biologiques. L'application d'un aimant permet alors de séparer directement les cibles d'intérêt des autres biomolécules.

A l'inverse si les particules ne permettent pas de capter sélectivement la cible d'intérêt, il est possible d'effectuer un tri négatif, c'est-à-dire d'utiliser des particules permettant de retirer toutes les autres biomolécules du milieu.

Une autre possibilité est d'effectuer une capture indirecte. Dans ce cas, la capture se fait en deux étapes. Des ligands ayant une forte affinité à la fois avec la cible et les particules magnétiques sont d'abord introduits dans l'échantillon. Puis une fois que ceux-ci se sont liés aux molécules cibles, les particules magnétiques sont ajoutées pour capter le complexe cible-ligand.

Dans ce dernier cas, il est également possible d'effectuer un tri négatif en récupérant les biomolécules non captées par les particules magnétiques. Les différents types de séparation envisageables sont représentés de façon schématique sur la Figure 8.

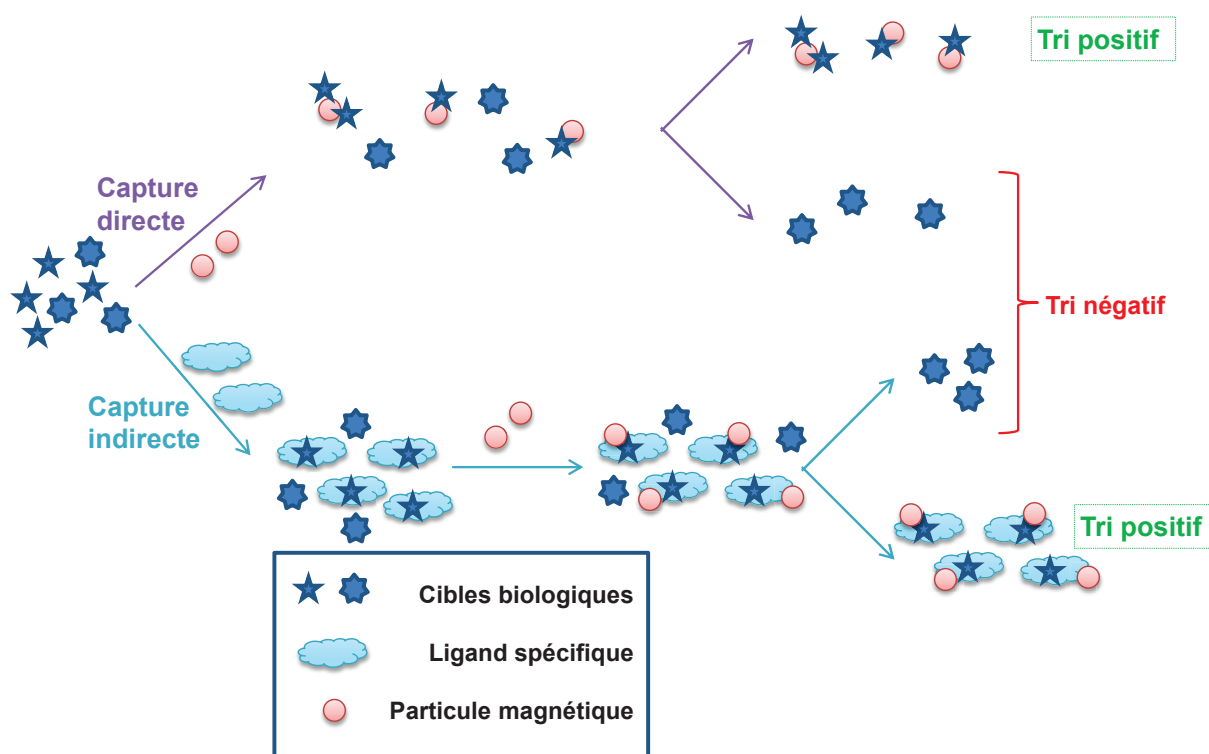


Figure 8 : Schéma représentant les différents types de séparation magnétique possibles

II.2.2. Séparation spécifique ou sélective

La séparation spécifique utilise des interactions du type « clés/serrures » pour pouvoir séparer précisément un seul type de biomolécule. Les interactions anticorps/antigènes, sur lesquelles se basent les immunoessais, sont les plus couramment utilisées. Elles permettent soit de purifier des anticorps,¹⁵ soit de détecter des antigènes. Ces derniers peuvent par exemple provenir de protéines^a de surfaces des

^a Une protéine est un assemblage tridimensionnel de peptides, qui sont eux-mêmes des polymères d'acides aminés. Les acides aminés sont liés entre eux par une liaison amide aussi appelée liaison peptidique.

bactéries ou des virus. Certaines protéines sont propres à un type de microorganisme, il est donc possible d'effectuer une séparation sélective de microorganismes. Cela permet notamment de tester rapidement la présence d'agents pathogènes tels que Salmonella ou Escherichia Coli dans le domaine de l'agroalimentaire ou dans l'eau.¹⁶

Il est également possible de trouver des reconnaissances spécifiques du matériel génétique (ARN¹⁷, ADN¹⁸ ou plasmide¹⁹). Une méthode consiste par exemple à fixer sur la particule magnétique un aptamère, c'est-à-dire un oligonucléotide complémentaire de l'ADN (Figure 9) ou ARN visé.^b En utilisant cette technique, il est par exemple possible de cibler spécifiquement des cellules cancéreuses, qui ont tendance à se lier à certains aptamères.²⁰

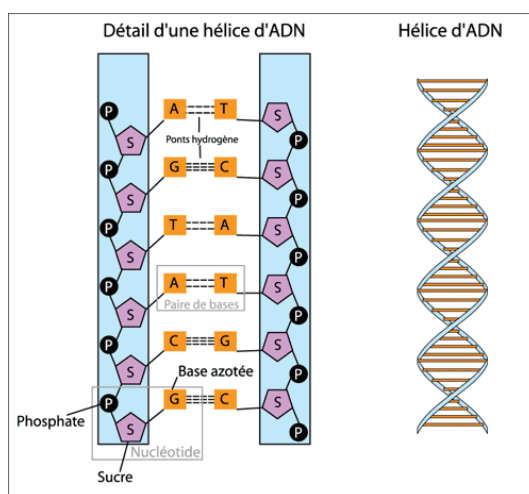


Figure 9 : Schéma décrivant l'ADN^c

Il existe des cas particuliers où des interactions spécifiques permettent de séparer plusieurs types de biomolécules. Par exemple la vancomycine, une molécule complexe utilisée comme antibiotique, est capable de se lier à une séquence spécifique d'acides aminés qui se trouve à l'extrémité de protéines membranaires des bactéries Gram positif.²¹ En fixant la vancomycine sur des particules magnétiques, il est alors possible de séparer de manière spécifique toutes les bactéries Gram positif d'un milieu donné.²²

Hormis le cas particulier de la vancomycine, il faut disposer d'autant de particules magnétiques fonctionnalisées avec des anticorps que de biomolécules cibles. Cela représente un coût important, car un grand nombre de particules magnétiques fonctionnalisées par des anticorps (onéreux) est nécessaire. Une approche générique de ces séparations pour des applications au domaine agroalimentaire ou environnemental est donc attractive pour diminuer les coûts d'analyse.

^b L'ADN, l'ARN et le plasmide sont constitués de polymères de nucléotides. L'ARN possède un brin unique, tandis que l'ADN et le plasmide possèdent deux brins. Le plasmide est en réalité un ADN surnuméraire, généralement cyclique, qui se trouve exclusivement dans les bactéries.

^c Ce schéma est tiré du site internet : <http://www.savoirs.essonne.fr/sections/ressources/dessins-schemas/photo/glossaire-adn/>

II.2.3. *Séparation non spécifique ou générique*

Contrairement à la séparation spécifique, la séparation non spécifique repose sur des interactions hydrophobes et surtout électrostatiques. En effet, les surfaces des microorganismes sont généralement chargées négativement en raison de la présence des fonctions phosphate et carboxylate des protéines.²³⁻²⁵ De même, l'ADN, composé de nucléotides reliés entre eux par des fonctions phosphate, peut présenter de nombreuses charges négatives.

Pour capter ces biomolécules, il est possible d'utiliser des attractions électrostatiques, soit par des cations métalliques qui complexent certaines protéines,²⁶ soit par l'utilisation de (macro)molécules chargées positivement. La littérature reporte notamment la séparation d'ADN/ARN,^{17-19, 27, 28} de protéines,^{29, 30} et plus rarement de virus³¹⁻³³ et de bactéries.^{34, 35} Cependant il est plus intéressant de purifier des microorganismes que de l'ADN. En effet, si un échantillon est lysé avant la séparation magnétique, l'ADN purifié proviendra à la fois des microorganismes vivants et morts. Il n'est donc pas possible de déterminer le nombre de microorganismes vivants dans le milieu. En revanche si les microorganismes sont prélevés d'un milieu puis lysés, l'ADN obtenu ne proviendra que des microorganismes vivants.

C'est pour cette raison que depuis les années 2000, des brevets décrivant la séparation non spécifique de quelques bactéries et de virus ont commencé à apparaître.^{36, 37} Ces brevets décrivent l'utilisation de polysaccharides tels que le chitosane ou la carragénine, ou l'utilisation d'un polymère d'acides aminés tel que la polylysine. Ces polymères sont fixés à la surface des particules magnétiques et possèdent de nombreuses fonctions amine. Les particules sont donc capables de se protoner à pH acide et de capter les microorganismes. Ces brevets ont donné lieu à des particules magnétiques commerciales, décrites dans la partie ci-dessous (II.3).

II.3. **Particules commerciales**

Il existe de nombreux fournisseurs de particules magnétiques commerciales^{38, 39} : Chemagen, Ademtech, Dynal®, Merck en sont quelques exemples. Ces particules magnétiques servent principalement à des séparations spécifiques : ADN, ARN, anticorps, protéines, cellules marquées, etc. Certaines d'entre elles sont vendues avec une surface fonctionnalisée avec des acides carboxyliques afin que le client puisse fonctionnaliser lui-même ses particules avec un oligonucléotide aptamère, un peptide ou même une protéine. Cette fonctionnalisation repose sur la formation d'une fonction amide, provenant du couplage entre un acide carboxylique de la particule et une amine de la biomolécule. Le critère de monodispersité en taille des particules n'est pas toujours nécessaire pour les applications de séparation magnétique (cf. particules magnétiques Ademtech). Cependant lorsque les particules sont de même taille, la surface disponible est similaire pour toutes les particules, ce qui peut améliorer la reproductibilité des réponses vis-à-vis des microorganismes.

En ce qui concerne la morphologie et la composition des particules elles-mêmes, les fournisseurs n'en indiquent pas toujours la nature. Cette partie va néanmoins lister les différentes caractéristiques fournies dans les notices de quatre fournisseurs : Dynal®, Ademtech, Merck et Chemagen. Un tableau

récapitulatif de leurs caractéristiques (Tableau 1) est disponible à la fin de cette partie. Cela permettra par la suite d'avoir une référence pour les performances des particules magnétiques synthétisées dans le cadre de notre travail.

Ademtech commercialise deux gammes de particules : *Adembeads* et *MasterBeads*. Les particules *Adembeads* ont un diamètre d'environ 200 ou 300 nm avec un coefficient de variation de 20 %, tandis que les particules *MasterBeads* sont des particules d'environ 500 nm de diamètre avec un coefficient de variation de 25 %. Dans les deux cas, le taux d'oxyde de fer est de 70 % en masse. La magnétisation à saturation des particules *Adembeads* est d'environ 40 emu g⁻¹. Ademtech commercialise des particules fonctionnalisables mais aussi pré-fonctionnalisées avec des anticorps, des protéines ou de la streptavidine (Figure 10). Cette large gamme de particules permet des applications dans la séparation d'ADN/ARN, de cellules, de protéines et également de virus.

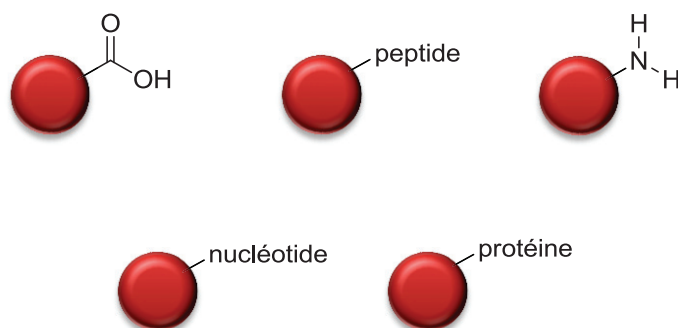


Figure 10 : Schéma représentant différentes fonctionnalisations possibles pour des particules magnétiques commerciales

Les particules *Dynalbeads*®, commercialisées par Dynal® et issues du brevet d'Ugelstad⁴⁰, sont disponibles soit avec un diamètre de 1,15 µm, soit avec un diamètre de 2,8 µm. Les particules sont monodisperses en taille avec un coefficient de variation inférieur à 3%. La composition des particules ainsi que leur teneur en oxydes de fer ne sont pas indiquées dans les notices. En revanche, on retrouve quelques données dans le brevet d'Ugelstad.⁴⁰ Le matériel magnétique utilisé dans les particules magnétiques est à base de fer, éventuellement associé au manganèse, cobalt ou nickel. Ces ferrites sont dispersées dans une matrice de polymère. Une publication caractérisant les particules *MyOne*™ indique que le taux de matériel magnétique est de 25,5 % et que la magnétisation à saturation est d'environ 23,5 emu g⁻¹ pour les particules de 1 µm de diamètre.⁴¹ La notice indique qu'il existe plusieurs fonctionnalisations pour ces particules pour des applications variées : séparation de cellules, d'acides nucléiques, d'ARN, de peptides et de protéines.

Merck produit deux types de particules magnétiques très différentes : des microsphères, commercialisées sous le nom d'*Estapor*® *Microsphere* et des nanoparticules commercialisées sous le nom *MagPREP*® *Silica*. Les *Estapor*® *Microsphere* sont composées de ferrites et de polystyrène (PS) réticulé ou non avec du divinylbenzène (DVB). Ces microsphères sont disponibles avec différents diamètres selon leur fonctionnalisation. Le diamètre peut varier de 300 – 500 nm à 1,7 – 2,6 µm. Le taux d'oxyde de fer est compris entre 13 et 60% avec une magnétisation à saturation variant de 6 à 24 emu g⁻¹ respectivement. Les fonctionnalisations permettent des applications à la purification

d'antigènes, d'anticorps et d'acides nucléiques. Les particules *MagPREP® Silica* sont quant à elles des particules bipyramidales composées de magnétite à plus de 95% et de silice. Contrairement aux autres particules décrites dans cette partie, ces particules ne sont pas sphériques et ne contiennent pas de polymère. Leur taille est également plus petite que pour les autres particules commerciales, puisqu'elle se situe aux environs de 100 nm. Elles ont pour application principale la purification d'acides nucléiques, mais la notice indique également qu'elles peuvent être utilisées pour l'adsorption de cellules, voire de virus et de bactéries.

Il n'existe qu'un seul kit de particules magnétiques commercialisé dans le but de séparer à la fois des bactéries et leurs ADN une fois lysés. Il s'agit du kit *Bugs 'n Beads* développé par Genpoint, qui a été racheté par Norda ASA (anciennement NorDiag), mais il n'existe plus de revendeurs en Europe. Les particules magnétiques utilisées dans ce kit proviennent de Chemagen et sont disponibles sous deux gammes de tailles : 0,5 – 1 μm et 1 – 3 μm . La dispersion de taille n'est pas indiquée, mais elle semble élevée au vu du graphique fourni dans leur notice (Figure 11). Ces particules sont composées de magnétite à 50-60 % et d'alcool polyvinylique (PVA). Le brevet concernant l'application à la séparation de microorganismes indique que leurs surfaces ont été modifiées par des polysaccharides (mannose, gomme de guar, carraghénine, etc).³⁷ Les inconvénients de ces particules sont que l'échantillon doit être mis en culture une nuit avant d'effectuer cette séparation et qu'elles nécessitent un temps de séparation d'environ deux minutes.

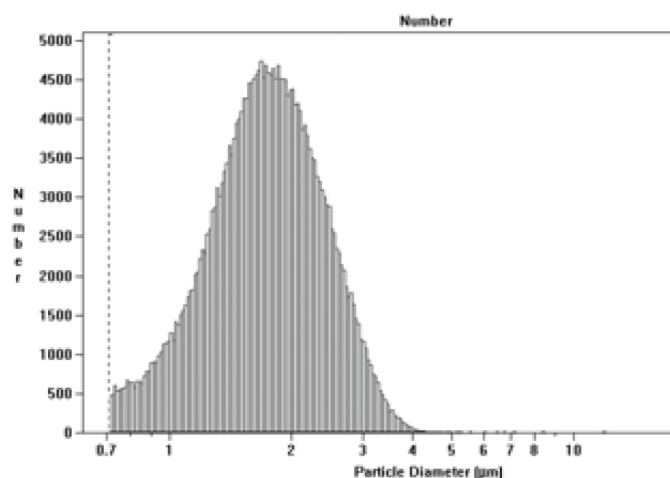


Figure 11 : Histogramme représentant la dispersion de taille des particules Chemagen de 1 à 3 μm de diamètre. Extrait de la notice des particules M-PVA SAVx.

De nombreux fournisseurs vendent des particules à base de polymère car ces derniers permettent d'obtenir des propriétés de surface variées et ajustables. Il est ainsi possible d'obtenir des particules hydrophiles ou hydrophobes, ou une fonctionnalisation directe avec des acides carboxyliques ou des amines. Malgré leurs variétés de composition, les applications des particules de latex magnétiques sont essentiellement tournées vers la séparation et la purification spécifique de biomolécules. La capture générique pour isoler des microorganismes demeure rare, à cause de la diversité chimique des surfaces des microorganismes. Cependant elle permettrait d'accélérer grandement les analyses microbiologiques. La séparation générique des microorganismes par des particules de latex magnétiques représente donc un enjeu important.

Tableau 1 : Récapitulatif des différentes particules de latex magnétiques détaillées dans ce chapitre

Référence	Diamètre des particules	Dispersion de taille ^a	M _S (emu g ⁻¹)	Taux d'oxyde de fer (%)	Type de particules	Cibles biologiques séparées
Ademtech - Adembeads	200 – 300 nm	CV = 20	Nc ^b	70	Polymère, fonctionnalisation carboxylate, amine...	ADN/ARN, cellules, protéines, virus
Ademtech - MasterBeads	500 nm	CV = 25	40	70		
Dynal	1,15 ou 2,8 µm	CV < 3	23,5	2,5	Polystyrène fonctionnalisation carboxylate, amine...	ADN/ARN, cellules, protéines, peptides
Merck	300 – 500 nm ou 1,7 – 2,6 µm	Nc ^b	24	60	Polystyrène réticulé	Anticorps, antigène, acides nucléiques
Merck Silica	100 nm	Nc ^b	Nc ^b	>95	Silice	Acides nucléiques, cellules, virus, bactéries
Genpoint	0,5 – 1 µm ou 1 – 3 µm	élevée	Nc ^b	50-60	Alcool polyvinylique	Bactéries

^aCV = coefficient de variation ; ^bnon communiqué

II.4. Méthodes d'analyse après séparation

Après nous être intéressés aux méthodes de séparation de cibles biologiques d'intérêt, nous présentons dans cette partie les principales méthodes permettant leur analyse. Bien que de nombreuses méthodes d'analyses soient disponibles, seules les plus couramment utilisées seront décrites.

II.4.1. Culture puis décompte au microscope

Il y a tout d'abord la méthode de la culture bactérienne avec un décompte des colonies au microscope. Bien qu'il s'agisse d'une méthode ancienne, elle reste toujours d'actualité.¹⁶ L'inconvénient principal de cette méthode est qu'elle nécessite que les microorganismes soient viables après la séparation magnétique pour pouvoir se multiplier. En effet le décrochage des microorganismes des particules magnétiques lors de la séparation peut se faire dans des conditions de pH élevé (pH = 11) et ainsi rendre les microorganismes non viables. Par ailleurs, cette méthode nécessite du temps pour faire grandir les colonies. Enfin, pour la multiplication des virus il est nécessaire de cultiver des cellules dans lesquelles les virus puissent se développer, ce qui nécessite des milieux plus riches en nutriments. Cette technique devient donc coûteuse à la fois en temps et en argent.

Une alternative à la culture cellulaire est l'utilisation d'anticorps marqués par un fluorophore, qui permet un décompte direct des bactéries via l'utilisation d'un microscope à fluorescence.⁴² Dans ce dernier cas, l'inconvénient est la nécessité de posséder des anticorps marqués, qui sont coûteux.

II.4.2. *Tests immunologiques*

Il est possible d'utiliser des tests basés sur le principe de réactions immunologiques. Par exemple après avoir concentré/séparé les microorganismes d'un milieu, il est possible d'ajouter dans le milieu des anticorps. S'il y a une réaction d'agglutination, c'est que l'antigène est présent dans le milieu. La présence de certains pathogènes peut ainsi être déterminée.¹⁶ Les avantages sont que dans ce cas, les microorganismes n'ont pas besoin d'être viables et les réactions d'agglutination sont rapides. En revanche, l'inconvénient de cette méthode est qu'elle nécessite encore une fois d'être en possession d'anticorps pour chacun des pathogènes à tester. Cela peut rapidement augmenter le prix de l'analyse.

II.4.3. *Polymerase Chain Reaction (PCR)*

Cette technique est basée sur l'isolation, l'amplification et la quantification de brins d'ADN. Les brins d'ADN provenant de microorganismes lysés sont mélangés avec le matériel biologique nécessaire pour dupliquer l'ADN. Il y a notamment des nucléotides et des enzymes Taq Polymérase, qui font parties des ADN polymérase. De nombreuses Taq Polymérase sont disponibles commercialement avec des spécifications différentes (fidélité, longueur de séquence maximale, hot start, ADN free...). Le milieu contient également des amorces et des sondes spécifiques de certaines séquences d'ADN. Il s'agit de brins d'ADN permettant d'amorcer une copie d'un gène et contenant à l'une de ses extrémités un fluorophore et de l'autre un désactivateur de fluorescence. Chaque amorce est spécifique d'un gène d'un microorganisme. Il est alors possible de détecter la présence de plusieurs microorganismes simultanément en introduisant simplement plusieurs amorces et sondes dans l'échantillon. Une analyse PCR contient quelques dizaines de cycles brefs (1 à 2 minutes par cycle). Chacun de ces cycles d'amplification d'ADN comprend trois étapes (Figure 12) :

1. la dénaturation de l'ADN, i.e. séparation des deux brins d'ADN
2. l'hybridation, i.e. l'accroche de l'amorce sur un brin d'ADN
3. l'élongation ou la polymérisation, i.e. l'insertion successive des nucléotides pour former un nouveau brin d'ADN

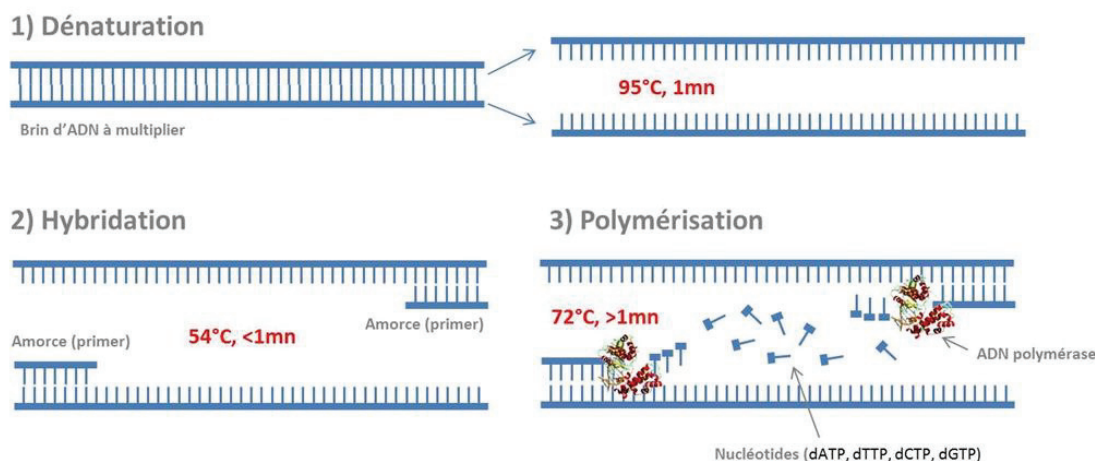


Figure 12 : Schéma représentant les différentes étapes de l'amplification de l'ADN par PCR^d

Au départ la fluorescence est nulle car le désactivateur de fluorescence, placé à proximité du fluorophore désactive celui-ci. Lors de l'étape d'élongation, ceux-ci s'éloignent et il est alors possible de détecter une fluorescence. La PCR en temps réel permet de mesurer tout au long des cycles la fluorescence pour déterminer la quantité d'ADN dupliqué. Il est donc possible d'en déduire la quantité d'ADN initiale. La PCR en temps réel est donc une méthode quantitative.

Elle est en plus rapide, sensible et est compatible avec une miniaturisation.¹⁶ Un autre avantage de cette méthode est qu'elle ne nécessite pas des microorganismes viables mais lysés, puisque l'analyse est effectuée sur l'ADN des microorganismes. En revanche, un inconvénient de la PCR est que les enzymes ADN-polymérase peuvent être inhibées par les oxydes de fer ainsi que par certaines autres molécules. Il est donc nécessaire d'avoir des latex magnétiques ne relarguant pas d'oxyde de fer pour les applications de séparation magnétique suivie d'analyse PCR.

II.5. Application à l'utilisation des laboratoires sur puce

L'utilisation des laboratoires sur puce couplée à l'utilisation de particules magnétiques présente de nombreux avantages. Cela permet notamment d'obtenir un appareil facilement transportable et capable d'analyses complexes. Les billes magnétiques peuvent par exemple être utilisées pour des analyses sanguines. La puce est capable à la fois de déterminer le taux de globules rouges par diffusion de la lumière et d'analyser les globules blancs par fluorescence (à l'aide de quantum dots fonctionnalisés). L'appareil est transportable et autonome car alimenté par une batterie.⁴³

^d Schéma tiré du site internet : <http://www.oezratty.net/wordpress/2012/technologies-sequencage-genome-humain-2/>

Un autre avantage des laboratoires sur puce est qu'ils nécessitent peu d'échantillon. Les quantités nécessaires sont de l'ordre du μL . Un exemple assez étonnant est l'analyse de la spéciation du sélénium dans les cellules.⁴⁴ Malgré les différentes étapes^e, l'analyse ne nécessite que 300 μL et possède une sensibilité inférieure à 0,149 $\mu\text{g.L}^{-1}$.

L'utilisation des laboratoires sur puce permet donc d'effectuer des analyses consommant peu d'échantillon. Ils donnent la possibilité de les effectuer directement sur le terrain ou même chez soi grâce à leur faible encombrement. Par ailleurs, la faisabilité des analyses microbiologiques à l'aide de laboratoires sur puce a déjà été démontrée.^{16, 45, 46} En effet il existe d'une part des puces permettant la concentration de certains microorganismes grâce à des particules magnétiques.⁴⁶ D'autre part, l'analyse ADN par PCR a également pu être effectuée grâce à une puce PCR - EWOD.⁴⁵ Une analyse microbiologique effectuée entièrement sur laboratoire sur puce ne tardera donc pas à voir le jour.

II.6. Conclusions

La variété des techniques de séparation utilisant des particules magnétiques (directes, indirectes, par tris négatifs) permet d'envisager l'extraction et l'analyse d'un grand nombre d'espèces biologiques. Les séparations immunologiques sont efficaces, spécifiques mais coûteuses. Tandis que les techniques de séparation non spécifiques couplées à la PCR permettent d'analyser un grand nombre de microorganismes simultanément et à moindre coût. Cette méthode est rapide et quantitative. De plus, la technique PCR est adaptée à une miniaturisation et une automatisation des analyses. C'est pour cela que ce projet se concentrera sur la synthèse de particules magnétiques permettant une capture générique suivie d'une analyse d'ADN par PCR.

De cette étude, une partie du cahier des charges des particules magnétiques peut être établie :

- les particules doivent être riches en oxyde de fer afin de présenter une réponse rapide vis-à-vis de l'aimant,
- elles doivent posséder un diamètre d'environ 500 nm avec une distribution de taille étroite, pour disposer d'une grande surface de capture et d'une bonne réponse magnétique, tout en évitant le phénomène de sédimentation due à une taille trop importante,
- elles ne doivent en aucun cas relarguer des oxydes de fer ou toute autre molécule inhibant les enzymes utilisées lors de la PCR, ce qui implique une encapsulation efficace des oxydes de fer dans une matrice polymère,
- dans la mesure du possible, elles doivent être capables d'interagir avec le maximum de microorganismes pour rendre la séparation directe la plus générique possible. Pour être le plus

^e Après extraction magnétique effectuée sur la puce, l'échantillon passe par une chromatographie liquide haute performance (HPCL) puis il est analysé sur un spectromètre de masse couplé par induction (ICP-MS).

générique possible, nous avons choisi d'utiliser les interactions électrostatiques, que ce soit par le biais de charges de surface ou d'une chevelure de polymère déployée autour des particules.


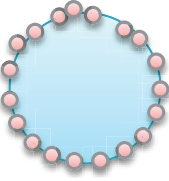
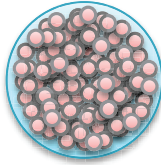
III. Méthodes de synthèse de particules de latex magnétiques

Les particules de latex magnétiques contiennent à la fois une partie organique et une partie inorganique. Celles-ci peuvent être synthétisées en même temps, en parallèle ou encore l'une en présence de l'autre. Il existe donc quatre méthodes de synthèse de particules composites à base d'oxyde de fer :

- a. Assemblage de particules d'oxydes de fer et de polymère préalablement formés
- b. Formation d'oxydes de fer en présence de particules de polymère
- c. Formation de particules de polymère en présence d'oxydes de fer
- d. Formation de polymère et d'oxydes de fer simultanément

La dernière technique ne sera pas développée car les paramètres permettant de contrôler la morphologie sont trop nombreux. En revanche les trois premières techniques seront détaillées dans cette partie car elles permettent d'obtenir des morphologies variées. Les plus courantes sont décrites dans le tableau 2.

Tableau 2 : Principaux types de morphologies de particules et exemples de méthodes permettant leur obtention

Morphologie	Méthode (a, b ou c)	Procédé d'obtention	Exemples de références
	a	« Grafting to »	47
	c	« Grafting from »	47-50
	a	Hétérocoagulation	51, 52
	b	Polymérisation en milieu dispersé, puis synthèse d'oxydes de fer	53, 54
	c	Utilisation des nanoparticules d'oxydes de fer pour stabiliser les particules de polymère (type émulsion de Pickering)	55, 56
	a	Auto-assemblage avec réticulation Ou auto-assemblage	57, 58 33, 59-64
	b	Polymérisation en milieu dispersé, puis synthèse d'oxydes de fer	40, 65-72
	c	Polymérisation en milieu dispersé en présence d'oxydes de fer	51, 73-136

Les synthèses de particules ayant d'autres morphologies de type particules asymétriques,^{53, 91, 106, 107, 129-131, 137} capsules;¹³⁸ fibres¹³⁹ ont également été reportées dans la littérature. Cependant leurs procédés d'obtention ne seront pas détaillés ci-dessous. En effet, pour des applications de séparation magnétique, les particules doivent posséder une vitesse de séparation magnétique élevée, c'est-à-dire une quantité d'oxydes de fer ainsi qu'une taille importantes. C'est également pour cette raison que les morphologies de type nanoparticules monoencapsulées ou avec les oxydes de fer en surface ne seront pas décrites. Cette partie détaillera uniquement les différents procédés d'obtention de particules de latex contenant des oxydes de fer au cœur. Par ailleurs, l'application visée pour ces particules se focalisant sur les milieux aqueux, une attention toute particulière sera portée aux particules stables en milieu aqueux. Un récapitulatif des différentes particules de latex obtenues par les procédés présentés ci-dessous est disponible à la fin de cette partie.

III.1. Auto-assemblage de particules d'oxydes de fer et de polymères préalablement formés

Pour pouvoir assembler deux matériaux, il doit exister une affinité qui les pousse à s'assembler. Or les oxydes de fer sont de nature hydrophile (paragraphe I.2.1) tandis que la plupart des polymères sont hydrophobes.

Il existe donc deux possibilités pour effectuer cet auto-assemblage : utiliser des polymères et des oxydes de fer hydrophiles ou des polymères et des oxydes de fer hydrophobes. La première possibilité réduit la gamme de polymères utilisables et nécessite une réticulation mais permet d'obtenir aisément des particules facilement dispersables dans l'eau. La deuxième solution permet l'utilisation d'un large panel de polymères, mais il s'agit généralement de polymères plus complexes à synthétiser. En effet, pour pouvoir disperser aisément les particules dans l'eau, l'utilisation de copolymères avec un bloc hydrophile est souvent nécessaire. Ces deux possibilités sont décrites ci-dessous au travers de quelques exemples non exhaustifs.

Un exemple d'auto-assemblage avec un polymère purement hydrophile et un oxyde de fer hydrophile est celui permettant l'obtention des particules commerciales de Chemagen. Le polymère utilisé est l'alcool polyvinylique (PVA). Il est initialement dispersé dans la phase aqueuse avec l'oxyde de fer. Puis le tout est ensuite introduit dans une huile végétale visqueuse (130-190 fois plus visqueuse que l'eau) et agité fortement (700 trs.min^{-1}) à l'aide d'un agitateur mécanique. Cela permet la formation des particules de PVA dans une phase continue d'huile végétale. L'utilisation d'un « réticulant », le glutaraldéhyde, est nécessaire pour figer la structure obtenue.^{57, 58} Une fois réticulées, c'est-à-dire après une minute de réaction à $20 \text{ }^\circ\text{C}$, les particules obtenues peuvent être lavées et utilisées en milieu aqueux. Leur diamètre est compris entre 1 et $50 \text{ }\mu\text{m}$ et elles sont relativement polydisperses (Figure 11, partie II.3). Les particules sont réticulées à 8% et contiennent 60 % en masse d'oxyde de fer.

En ce qui concerne l'utilisation d'oxydes de fer hydrophobes, la méthode la plus courante est l'accroche d'une molécule de type acide gras via sa fonction carboxylate. Il existe également quelques cas d'étude d'une modification à partir de fonction cathécol.^{22, 140} Dans ce cas, l'auto-assemblage est

obtenu par des interactions hydrophobes entre des chaînes de polymère amphiphiles préformées et des particules d'oxydes de fer hydrophobes. Les polymères amphiphiles sont des di-blocs, avec un bloc hydrophobe et un bloc hydrophile, tel que le copolymère polystyrène-*bloc*-poly(acide acrylique) (PS-*b*-PAA).^{59, 60} L'oxyde de fer hydrophobe est généralement un oxyde de fer recouvert d'acide oléique. Pour procéder à l'auto-assemblage, les deux composants sont initialement mélangés dans un solvant solubilisant les chaînes de polymère et où les oxydes de fer sont stables. Il peut s'agir d'un mélange de diméthylformamide (DMF) et de tétrahydrofurane (THF),^{59, 60} de THF et de dioxane⁶⁰ ou de THF pur.⁶⁰ Une fois le milieu homogène, de l'eau est ajoutée pour pouvoir former des particules avec le PS et les oxydes de fer au cœur et le PAA en surface. Ce dernier a alors un rôle stabilisant via les groupements carboxylate.

L'avantage de cette technique est qu'en fonction de la proportion bloc hydrophile / bloc hydrophobe, différentes morphologies peuvent être observées, telles que des micelles hydrides ou des particules cœur/écorce (Figure 13). L'inconvénient est que les particules obtenues sont peu magnétiques avec une magnétisation à saturation inférieure à 5 emu g⁻¹⁵⁹ ou un temps de séparation magnétique de l'ordre de 2 minutes.⁶¹

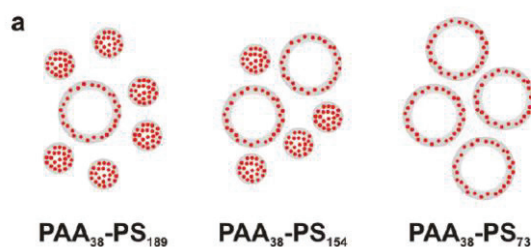


Figure 13 : Schéma des différentes morphologies obtenues par le procédé d'auto-assemblage de PS-*b*-PAA et d'oxydes de fer/acide oléique en fonction de la proportion bloc hydrophile / bloc hydrophobe, décrit par Hickey et al.⁶⁰

Une dernière possibilité d'auto-assemblage est d'utiliser des interactions électrostatiques, comme c'est le cas des hétérocoagulations. Dans ce cas, deux objets (particules ou polymères par exemple) de charges opposées s'attirent pour s'assembler. C'est notamment le cas des particules de latex magnétiques de Veyret et al.^{33, 62-64} où des couches successives de polyélectrolytes de charges opposées sont adsorbées sur des gouttelettes stabilisées (25 % en masse de tensio-actif) riches en oxydes de fer. Ces gouttelettes constituent une émulsion magnétique, dont la structure et la méthode d'obtention sera détaillée dans la partie III.3.4. L'empilement de polyélectrolyte est qualifiée de méthode d'encapsulation « layer-by-layer », avec dans ce cas un cœur liquide. Il est possible d'obtenir différentes fonctions de surface en fonction du dernier polyélectrolyte introduit : polyéthylèneimine ou aminodextran par exemple. Les caractéristiques finales de ces particules ne sont pas indiquées, mais les caractéristiques de l'émulsion magnétique sont : $D_n = 240$ nm, $D_d = 1,03$ et $M_s = 40-50$ emu g⁻¹.

III.2. Formation d'oxydes de fer en présence de particules de polymère préformées

Il existe différentes méthodes de synthèse d'oxydes de fer : dont les plus courantes sont la co-précipitation, la synthèse par voie solvothermal ou hydrothermal et la décomposition thermique. Ces différentes voies de synthèse seront détaillées dans le Chapitre 2.¹⁴¹. Cependant les conditions de hautes températures que nécessitent certaines méthodes rendent leur utilisation difficile lorsque des particules de polymère sont présentes dans le milieu. Sauf contre-indication, on ne parlera dans cette partie que d'oxydes de fer obtenus en milieu aqueux par co-précipitation de sels de fer. Les différentes voies de synthèse des oxydes de fer et notamment le procédé par co-précipitation seront détaillés ultérieurement dans le Chapitre 2 (partie I).

De même que pour la synthèse des oxydes de fer, il existe différentes voies de préparation de particules de polymère. Les principales, résumées dans le Tableau 3, sont : la polymérisation en dispersion, en suspension, en émulsion, en miniémulsion et la polymérisation par précipitation.²

Tableau 3 : Récapitulatif des différentes voies de synthèse de particules polymère et de leurs principales caractéristiques

Procédé de polymérisation	Phase continue	Diamètre des gouttelettes	Diamètre des particules	Amorceur	Monomère
Précipitation	Aqueuse	Milieu homogène	variable	Hydrosoluble	Hydrosoluble
Dispersion	Organique ^a	Milieu homogène	0,5 – 20 µm	Soluble dans la phase continue	Soluble dans la phase continue
Emulsion	Aqueuse ^b	1 – 20 µm	50 – 600 nm	Hydrosoluble	Hydrophobe
Miniémulsion	Aqueuse ^b	50 – 300 nm	50 – 500 nm	Hydrosoluble	Hydrophobe
Suspension	Aqueuse ^b	50 – 10 000 µm	50 – 10 000 µm	Oléosoluble	Hydrophobe

^aLa phase continue est généralement organique mais elle peut contenir de l'eau ou être complètement aqueuse

^bDans le cas de la polymérisation en émulsion, miniémulsion ou suspension inverse, la phase continue est de nature organique, tandis que le monomère est hydrosoluble.

III.2.1. Polymérisation en dispersion

Cette méthode a été mise au point par Ugelstad vers le début des années 80.^{40, 65} Elle constitue la méthode de préparation des billes commerciales Dynabeads®. La taille obtenue par le procédé de polymérisation en dispersion (entre 0.5 et 20 µm) est un avantage. En effet, comme le montre l'équation 1-4 (partie II.1), plus les particules sont de taille importante plus la réponse magnétique sera rapide.

Le procédé d'Ugelstad est constitué de trois étapes. La première consiste à synthétiser des particules de polystyrène poreuses et présentant des fonctions de type nitro (-NO₂) ou nitrate en surface et à l'intérieur des pores. Puis la deuxième étape est une imprégnation des ions ferreux et ferriques. Ceux-ci sont dissous dans le milieu et diffusent à l'intérieur des pores car ils ont une forte affinité avec les

fonctions nitro et nitrate. Les nanoparticules d'oxydes de fer (maghémite ou magnétite) sont ensuite obtenues par co-précipitation directement au sein des particules de polystyrène. Ces particules possèdent jusqu'à 30 % en masse d'oxyde de fer et ont une magnétisation à saturation pouvant atteindre jusqu'à 23,5 emu g⁻¹.

Cette voie de synthèse a été appliquée à la synthèse de particules avec d'autres polymères, tels que le poly(méthacrylate de glycidyle) ou PGMA.⁶⁶ La synthèse se fait dans un milieu hydroalcoolique (éthanol/eau à 90/10 en masse) avec un amorceur azoïque organosoluble, le 2,2'-AzobisIsoButyroNitrile (AIBN) et en présence de PVP de masse molaire 40 000 g mol⁻¹ (PVP K-30), qui stabilise les particules formées. Ces particules sont modifiées pour contenir des fonctions amine (PGMA-NH₂), qui permettent la migration des ions ferreux à l'intérieur des particules. Les particules ainsi obtenues ont un diamètre de 2,6 μm et sont monodisperses avec une dispersité^f D_d de 1,02 (Figure 14). Le taux d'oxyde de fer obtenu par spectrométrie d'absorption atomique est de 24,3% et la magnétisation à saturation de 16,3 emu g⁻¹.

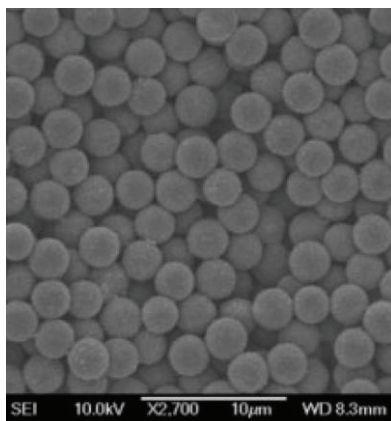


Figure 14 : Cliché de microscopie électronique à balayage (MEB) de particules magnétiques de PGMA-NH₂, obtenues par le procédé de Ma et al.⁶⁶ (co-précipitation d'oxydes de fer dans des particules de PGMA-NH₂ préformées par polymérisation en dispersion)

Pour pouvoir obtenir des particules de PS fonctionnalisées avec du PGMA de l'ordre du micron, Omer-Mizrahi et al.⁷² ont utilisé une voie de synthèse ayant recours à la polymérisation en dispersion et en émulsion. Le cœur de la particule de 2,4 μm est obtenu par polymérisation en dispersion du styrène, puis l'écorce est obtenue par polymérisation en émulsion du GMA. Contrairement aux deux cas précédents, aucune fonction permettant la capture des ions ferreux n'est introduite. Le taux d'oxyde de fer incorporé dans les particules est de 5,8 % (calculé par analyse élémentaire) et la magnétisation à saturation est de 3 emu g⁻¹.

Reymond et al.⁶⁸ ont utilisé la technique inverse : un cœur de PS obtenu par polymérisation en émulsion, puis une écorce de Poly((MéthAcrylate de 2-HydroxyEthyle)-co-(diméthacrylate

^f La dispersité D_d est obtenue par le rapport du diamètre moyen en poids D_w sur le diamètre moyen en nombre D_n , cf. Annexes C, partie IV.3.

d'éthylène)) (P(HEMA-*co*-EDMA)) formée par polymérisation en dispersion. Bien que cette voie de synthèse permette d'obtenir des particules de 4,1 μm de diamètre avec une dispersité de taille de 1,04 (Figure 15) et contenant jusqu'à 29,1 % en masse d'oxydes de fer, elle est longue et complexe. Tout d'abord, le cœur de PS de 700 nm de diamètre est synthétisé, et imprégné d'un composé hydrophobe, le dibutylphtalate. Puis il est imprégné dans un deuxième temps de monomère acétate de 2-(méthacryloyl)-oxyéthyle (HEMA-ac), de réticulant EDMA, d'amorceur 2,2'-azobis(2,3,3-triméthylbutanonitrile) et d'un agent porogène (acétate de cyclohexyle). Une fois les particules gonflées, la polymérisation en dispersion s'effectue dans l'eau en présence d'un stabilisant à base de cellulose pendant 16 h. Une fois les particules P(HEMA-ac-*co*-EDMA) formées, celles-ci sont hydrolysées (durant 16 h) pour obtenir les particules P(HEMA-*co*-EDMA). La synthèse *in situ* des oxydes de fer se fait également en plusieurs étapes : introduction des ions Fe^{3+} dans les particules, puis ajout de celles-ci à une solution d'ammoniacque à 0,5 M pour obtenir un premier précipité $\text{Fe}(\text{OH})_3$. Une centrifugation permet ensuite d'éliminer les hydroxydes de fer précipité hors des particules. Les particules sont ensuite dispersées en présence de Fe^{2+} sous argon, puis une deuxième précipitation a lieu pour former les particules magnétiques. Cette dernière réaction dure 18 h et est répétée une deuxième fois pour pouvoir obtenir 29,1 % d'oxydes de fer dans les particules. Si cette réaction n'est pas répétée, les particules n'en contiennent que 18,2 %. Un procédé similaire a été utilisé par Horak et al.⁶⁹ pour synthétiser des particules de PGMA et de PHEMA fonctionnalisées avec des groupements acides carboxyliques.

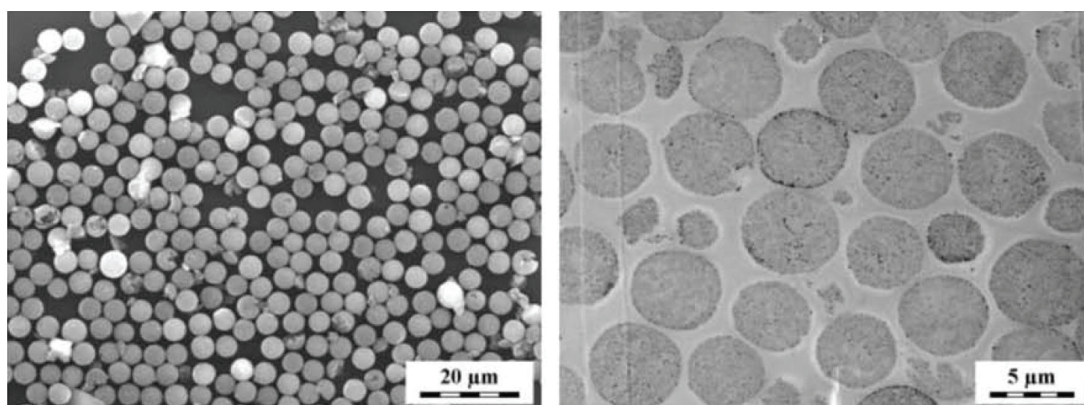


Figure 15 : Particules magnétiques de P(HEMA-*co*-EDMA) obtenues par le procédé de Raymond et al.⁶⁸ Observation des particules par MEB (à gauche) et d'une coupe par MET (à droite)

Bien que la synthèse d'oxydes de fer en présence de polymère par une autre voie que la co-précipitation soit rare, elle n'est pas inexistante. Par exemple, il est possible d'obtenir des particules magnétiques de PS, car celui-ci a une température de dégradation élevée. Les particules de PS sont synthétisées dans un milieu hydroalcoolique (éthanol/eau à 90/10 en masse), avec de l'AIBN comme amorceur, en présence de PVP K-30 et avec 0,5 % de réticulant, le DVB.⁶⁷ Cette fois, les particules de PS ne possèdent pas de fonction permettant de capter les ions ferreux ou ferriques. Le précurseur des nanoparticules d'oxyde de fer est donc hydrophobe, pour pouvoir migrer dans les particules de PS également hydrophobes. Il s'agit de l'oléate de fer (III), qui se dégrade à haute température (310 °C dans ce cas) pour donner des nanoparticules d'oxyde de fer. Les particules obtenues ont un diamètre

de 5,1 μm . Elles contiennent 15,9 % en masse d'oxyde de fer et ont à une magnétisation à saturation de 12,6 emu g^{-1} .

Un autre cas particulier permettant la synthèse *in situ* d'oxydes de fer à haute température est le cas où le polymère est ensuite dégradé. C'est le cas des particules synthétisées par Amara et al.⁷⁰, dont le but est d'obtenir des particules composites oxydes de fer - carbone. La synthèse comporte 5 étapes :

1. la synthèse de particules de PS monodisperses par polymérisation en dispersion, qui serviront de semence
2. le gonflement de ces particules par du monomère, du réticulant et des précurseurs d'oxyde de fer (respectivement du styrène, du DVB et des ferrocènes) et leur polymérisation en émulsion pour former des particules de polymère monodisperses contenant le précurseur d'oxyde de fer
3. le traitement thermique à 310 °C pour former les oxydes de fer dans les particules de polymère (Figure 16)
4. la solubilisation et le retrait du PS non réticulé par des lavages au DMF
5. L'annihilation à 450 °C du P(S-co-DVB) restant en carbone pour obtenir les composites oxydes de fer – carbone

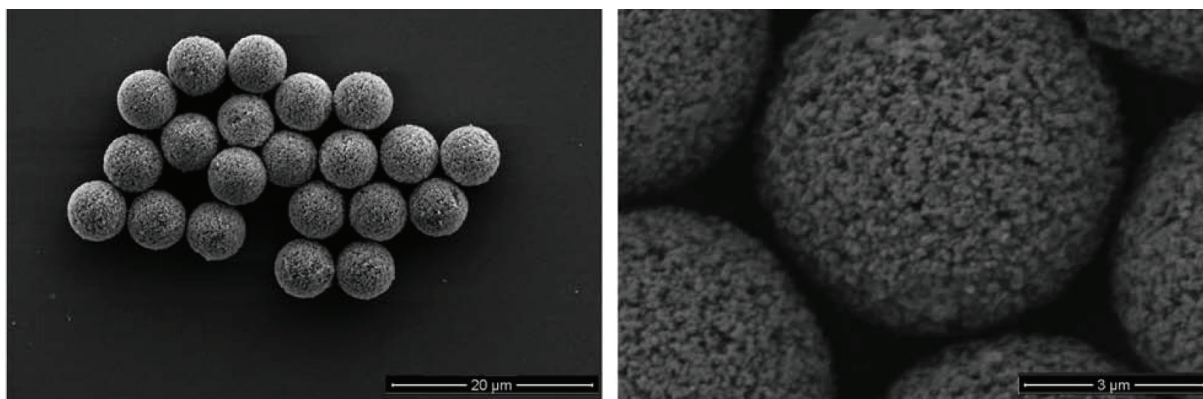


Figure 16 : Clichés MEB de particules magnétiques P(S-co-DVB) obtenues par le procédé d'Amara et al.⁷⁰

Il est intéressant de noter que contrairement aux autres synthèses décrites précédemment, il y a une étape de polymérisation en présence du précurseur d'oxyde de fer (l'étape 2.). D'autre part, le passage des particules hybrides P(S-co-DVB) – oxydes de fer aux particules composites carbone – oxydes de fer permet d'augmenter la magnétisation à saturation de 7 – 13 emu g^{-1} à 35 emu g^{-1} . Toutefois, bien que cette synthèse permette d'obtenir des particules monodisperses et ayant une valeur élevée de magnétisation à saturation, elle est difficile à mettre en œuvre. En effet, elle est longue et nécessite une étape de chauffage à 450 °C sous hydrogène (étape 5).

III.2.2. Polymérisation en émulsion

Ce procédé de polymérisation est moins usité, car il donne généralement des particules plus petites que le procédé de polymérisation en dispersion. Cependant des particules de 400 à 700 nm de diamètre

peuvent être obtenues en l'absence de tensioactif. Par exemple, Lindlar et al.⁷¹ ont obtenu des particules de P(MMA-*co*-GMA) par polymérisation en émulsion sans tensioactif avec un amorceur peroxyde hydrosoluble anionique, le persulfate de potassium ou KPS. L'absence de tensioactif permet d'obtenir des tailles élevées (> 500 nm), tandis que la charge anionique de l'amorceur permet de stabiliser les particules obtenues. Une fois les particules de polymère synthétisées, elles sont modifiées par de l'éthylènediamine comme dans le cas de la synthèse des particules de PGMA par polymérisation en dispersion.⁶⁶ Les fonctions amine obtenues permettent ensuite l'imprégnation des ions Fe²⁺ et Fe³⁺ et leur co-précipitation pour former des nanoparticules de magnétite. Le taux d'oxyde de fer, calculé par ATG est de 25% mais la magnétisation à saturation n'est que de 1 emu g⁻¹.

Il est intéressant de noter la différence de magnétisation à saturation entre deux particules de PGMA contenant chacune environ 25% d'oxydes de fer, de 2,6 µm⁶⁶ et de 400 nm⁷¹, obtenues respectivement par polymérisation en dispersion et en émulsion. Les magnétisations à saturation sont respectivement de 16,3 et 1 emu g⁻¹. Cette différence importante de magnétisation à saturation démontre que la taille des particules a une importance non négligeable sur la vitesse de la réponse magnétique.

III.2.3. Conclusions

L'avantage de synthétiser des oxydes de fer en présence de polymères préformés est le contrôle de la taille et de la dispersion de taille des particules magnétiques obtenues, facilement ajustables lors de la synthèse des particules de polymère. En effet, les procédés de polymérisation en émulsion et en dispersion ont été largement étudiés et optimisés pour obtenir des particules monodisperses dans une large gamme de taille. En revanche l'inconvénient de cette méthode est qu'il faut avoir recours à une fonctionnalisation permettant de « capter » les précurseurs d'oxyde de fer (généralement des ions ferreux et ferriques). Sans cette fonctionnalisation, le taux d'oxyde de fer incorporé est faible (16% contre 30% lorsqu'il y a fonctionnalisation). Cette méthode ne semble donc pas adaptée pour la synthèse de particules à hautes teneurs en oxydes de fer.

III.3. Polymérisation de monomères en présence d'oxydes de fer

Comme dans le cas de l'auto-assemblage, il faut créer une affinité entre le monomère et les nanoparticules d'oxyde de fer. Lorsque le monomère est hydrophile, il n'y a pas de problème de compatibilité avec les oxydes de fer. En revanche, lorsque le monomère est hydrophobe, il faut modifier la surface des oxydes de fer.

L'utilisation d'acides gras (essentiellement l'acide oléique) décrite pour l'auto-assemblage est également très utilisée dans ce cas. Cependant il existe une autre possibilité, qui a l'avantage de conduire à la formation de liaisons covalentes avec le polymère : il s'agit de l'utilisation d'un organosilane possédant une fonction polymérisable. Le plus couramment utilisé est le 3-MéthacryloxyPropyle triméthoxylSilane (γ -MPS ou MPS) qui possède une fonction méthacrylate. Cette modification de surface est très intéressante car elle rend l'oxyde de fer compatible avec de

nombreux monomères hydrophobes et permet son incorporation covalente dans les particules de latex finales. Les conditions et le mécanisme de ce type de modification de surface seront détaillés dans le Chapitre 2.

De manière similaire, il est possible d'utiliser des macromonomères possédant d'une part une fonction phosphonate, permettant l'accroche à la surface de l'oxyde de fer, et d'autre part une fonction polymérisable, permettant une accroche covalente au polymère. C'est le cas notamment du macromonomère Sipomer PAM200®,⁹² mais ce type de modification de surface est peu utilisée.

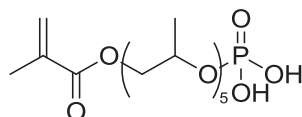


Figure 17 : Structure du macromonomère Sipomer PAM200®

III.3.1. Polymérisation en suspension

Le principe de la polymérisation en suspension est de former des gouttelettes de monomère dans de l'eau, dans lesquelles a lieu la polymérisation. Pour se faire, l'utilisation d'un amorceur oléosoluble est nécessaire ainsi que des tensioactifs et/ou des polymères stabilisants, appelés colloïdes protecteurs, pour contrôler la taille et la stabilité des particules. Par exemple, Chen et al.⁷⁶ ont utilisé des oxydes de fer modifiés par un silane copolymérisable (le MPS), dispersés dans le mélange de styrène et de peroxyde de benzyle pour former un ferrofluide organique. Celui-ci est ensuite introduit dans une solution aqueuse contenant des tensioactifs et des colloïdes protecteurs pour contrôler la stabilité des gouttelettes formées, puis le mélange est chauffé pour démarrer la polymérisation. Le diamètre des particules obtenues est de 1 à 2 μm avec une magnétisation à saturation faible d'environ 3 emu g^{-1} .

III.3.2. Polymérisation par précipitation

La polymérisation par précipitation permet essentiellement d'obtenir des particules de polymère hydrophiles en milieu aqueux. Le principe est que le milieu initial est homogène : le monomère est soluble dans l'eau et l'amorceur est hydrosoluble. Puis lors de la polymérisation, les oligomères en croissance atteignent une longueur telle qu'ils deviennent insolubles et précipitent dans le milieu.

C'est par exemple le cas de la polymérisation du *N*-isoPropylAcrylAmide (ou NiPAM) dans l'eau. Bien que parfois désigné sous le nom « d'émulsion sans tensioactif », il s'agit dans le cas de Chen et al.⁷⁴ d'un procédé de polymérisation par précipitation. Le cas du PNiPAM est particulier car il nécessite une réticulation à cause de sa solubilité dans l'eau à température ambiante. En effet, le PNiPAM est thermosensible et présente une température critique inférieure de solubilité ou LCST. Cela signifie qu'il devient hydrophile en dessous d'une certaine température (37 °C pour le PNiPAM). Dans le cas de Chen et al., le polymère est réticulé par les nanoparticules d'oxydes de fer

fonctionnalisées par un silane présentant des fonctions polymérisables (le MPS). Les particules finales sont en fait des nanogels de 226 ± 62 nm de diamètre à température ambiante. Ils contiennent 25,8 % en masse d'oxyde de fer et une magnétisation à saturation de $7,5 \text{ emu g}^{-1}$.

Il est possible d'utiliser la polymérisation par précipitation uniquement pour obtenir une écorce hydrophile de PNiPAM.^{51, 85} Dans le cas de Sauzedde et al., le cœur est obtenu par hétérocoagulation d'oxydes de fer anioniques stabilisés par des ions citrates sur des particules de latex cationiques. Il peut s'agir de particules de poly(styrène-co-méthacrylate d'aminoéthyle) (P(S-co-AEM)), obtenues par polymérisation en émulsion en présence d'un amorceur cationique, le 2,2'-Azobis(2-méthylpropionamide) dihydrochloride (AIBA), ou de PNiPAM obtenues par polymérisation par précipitation. Des particules cœur/écorce sont obtenues dans une dernière étape de polymérisation par précipitation du NiPAM en présence d'un réticulant, le *N,N*-Méthylène BisAcrylamide (MBA), et d'un monomère fonctionnel, l'acide itaconique. Les particules finales contiennent entre 14 et 26 % en masse d'oxydes de fer et présentent une magnétisation à saturation pouvant atteindre jusqu'à 37 emu g^{-1} . Cependant cette étude montre un inconvénient majeur des encapsulations non covalentes : après quelques semaines en solution et sous agitation douce, le taux de particule magnétique diminue, suggérant un relargage des nanoparticules d'oxyde de fer dans le milieu.

Il est également possible d'obtenir des particules ayant un cœur hydrophobe et une écorce hydrophile en utilisant uniquement le procédé de polymérisation par précipitation.⁷⁵ La synthèse s'effectue alors dans un milieu organique. Par exemple, des oxydes de fer de 230 nm de diamètre (obtenus par voie solvothermale) présentant des fonctions allyle en surface ont été encapsulés par polymérisation du divinylbenzène dans l'acétonitrile (Figure 18). Ces particules de $\text{Fe}_3\text{O}_4@PDVB$ servent ensuite de semence pour la formation de l'écorce hydrophile par copolymérisation de l'acide méthacrylique et du DVB. Des mesures magnétiques ont été effectuées sur ces particules à chaque étape, et la magnétisation à saturation est de 39,7 et $29,5 \text{ emu g}^{-1}$ respectivement pour les particules $\text{Fe}_3\text{O}_4@PDVB$ et $\text{Fe}_3\text{O}_4@PDVB@PMAA$.

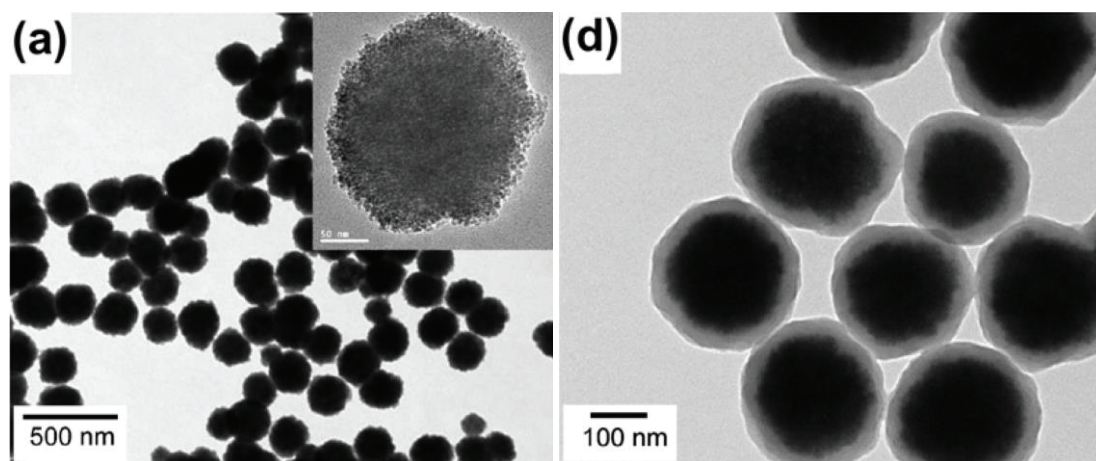


Figure 18 : Clichés MET de clusters d'oxydes de fer nus (à gauche) et de clusters encapsulés par du PDVB (à droite), selon le procédé de Chen et al.⁷⁵

La polymérisation radicalaire contrôlée¹⁴² permet d'obtenir un meilleur contrôle des chaînes de polymère (composition, longueur) et donc de la morphologie des particules obtenues. Li et al. ont donc associé l'utilisation de la polymérisation radicalaire contrôlée par Transfert de chaîne par Addition-Fragmentation Réversible (RAFT) et la polymérisation par précipitation pour obtenir des particules hybrides de morphologie contrôlée.⁷³ La polymérisation de l'acide méthacrylique a lieu dans de l'acétonitrile et en présence d'oxydes de fer, de réticulant MBA et de l'agent de contrôle. Les particules d'oxydes de fer utilisées ont un diamètre de 230 nm et possèdent des fonctions allyle en surface. Les particules finales sont pH-sensibles et leurs diamètres varient entre 320 et 382 nm lorsque le pH passe respectivement de 4 à 8. La dispersion de taille des particules finales n'est pas mentionnée. En revanche les propriétés magnétiques ont été déterminées : la magnétisation à saturation est d'environ 32 emu g⁻¹ et l'analyse thermogravimétrique (ATG) des particules indique un taux d'oxyde de fer d'environ 45%.

III.3.3. *Polymérisation en dispersion*

En l'absence de particules inorganiques, le procédé de polymérisation en dispersion est un procédé de choix lorsque le diamètre ciblé est de l'ordre du micron, car il permet d'obtenir des particules monodisperses (cf. partie III.2.1). Il est donc logique de se tourner vers ce procédé en présence d'oxydes de fer pour obtenir des particules de latex magnétiques.

De nombreuses études ont été effectuées dans le but d'obtenir des particules biocompatibles avec une teneur en oxydes de fer élevée. Les polymères couramment rencontrés sont le PGMA,⁷⁸⁻⁸⁰ le PHEMA,⁸¹ des copolymères P(HEMA-co-GMA)⁸⁰ ou encore le PNiPAM pour ses propriétés thermosensibles.^{77, 82} Des exemples de particules magnétiques de PS,⁸⁴ de copolymères de styrène et d'acide acrylique P(S-co-AA)⁸⁷ ou encore de PMMA⁸⁸ ont également été reportés dans la littérature. Ceci n'est pas une liste exhaustive de toutes les possibilités, mais seulement quelques exemples. Dans la plupart des cas, la polymérisation en dispersion, effectuée en présence de nanoparticules d'oxydes de fer de 10 nm de diamètre, est lente (les réactions durent au minimum 8 heures et le plus souvent une nuit, voir 24 heures). La suite détaillera les particules obtenues en fonction des conditions pour chaque type de polymère.

Les particules de latex à base de PGMA ont été beaucoup étudiées par Horak et al..⁷⁸⁻⁸⁰ Ces études portent sur l'influence de différents paramètres dont le type d'oxyde de fer utilisé (anionique, cationique, stabilisé par des polymères) et le milieu de polymérisation (mélange éthanol/eau ou éthanol pur). Les paramètres gardés constants sont le taux de solide (12 % en masse), la quantité d'amorceur (2 % en masse) et le stabilisant (la PVP K-30 à 20% en masse par rapport au monomère), ainsi que les conditions opératoires (polymérisation à 70 °C, avec une agitation mécanique à 500 trs.min⁻¹). Il est possible d'obtenir des particules plutôt monodisperses avec une dispersité pouvant atteindre 1,07 dans une gamme de taille allant de 100 nm à 4 µm, en fonction des conditions.⁷⁸

Le taux d'oxyde de fer varie entre 2 et 25 % en masse, avec des valeurs avoisinant le plus souvent 8 %. Bien que les conditions donnant les particules contenant 25 % en masse d'oxyde de fer ne soient pas explicitement décrites, il semblerait que ces particules soient obtenues grâce à l'utilisation d'un oxyde de fer anionique stabilisé par le contre-ion TMAH dans l'éthanol (Figure 19). L'auteur note que la dispersité des particules magnétiques PGMA devient plus importante lorsque la phase continue contient plus de 10% en masse d'eau. Par ailleurs il note l'existence d'oxydes de fer non encapsulés même lorsque celui-ci est introduit en faible quantité (rapport oxydes de fer / monomère = 0,083) et préconise un ratio de 0,05.

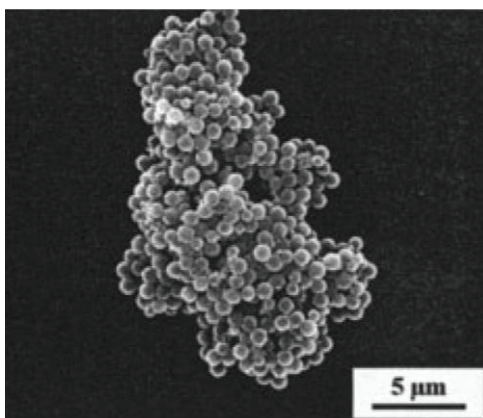


Figure 19 : Cliché MEB de particules magnétiques de PGMA obtenues par le procédé d'Horak et al. par polymérisation en dispersion du GMA en présence d'un ferrofluide stabilisé TMAH.⁷⁸

L'étude des particules magnétiques à base de PHEMA a également été effectuée par Horak et al.^{80, 81}. La polymérisation du HEMA s'effectue soit en présence d'un réticulant, l'éthylène glycol diméthacrylate (EGMA)⁸¹ ou du co-monomère GMA.⁸⁰ Dans les deux cas la polymérisation s'effectue dans un milieu organique composé à 50/50 en masse de toluène et de 2-méthylpropan-1-ol, avec pour amorceur le Peroxyde de DiBenzoyle (BPO) et l'Acétate Butyrate de Cellulose (CAB) comme stabilisant. Leurs proportions respectives par rapport au monomère sont de 2% et de 27% ; la proportion de monomères totale étant de 18 % par rapport à la phase continue. Dans le cas des particules réticulées à l'EGMA, les particules ont un diamètre de 1,5 µm et contiennent 8 % en masse d'oxyde de fer. La nature de l'oxyde de fer utilisé n'est pas précisée, de même que la dispersité de taille et la magnétisation à saturation des particules finales. Dans le cas des particules contenant le copolymère P(HEMA-co-GMA), différents rapports de monomères ont été étudiés, mais tous mènent à des particules ayant une dispersité d'environ 1,1. Les tailles varient de 0,3 à 4 µm selon les rapports des deux monomères et la teneur en oxyde de fer se situe aux alentours de 5 % en masse pour un oxyde de fer stabilisé par de l'acide oléique.

La polymérisation du NiPAM peut également être effectuée par le procédé de polymérisation en dispersion. Dans le cas de Mackova et al.⁸² la polymérisation est effectuée dans l'eau, avec du MBA, de la PVP-K30 et du persulfate d'ammonium (APS), utilisés respectivement comme réticulant, stabilisant et amorceur. L'oxyde de fer utilisé est stabilisé par des ions citrates. Les particules obtenues par ce procédé ont un diamètre compris entre 375 et 500 nm et contiennent jusqu'à 43 % en masse d'oxydes de fer. L'auteur signale que plus le taux d'oxyde de fer introduit dans le milieu initial est

important, plus la taille des particules finales diminue. Ceci s'explique par la présence d'ions Fe^{2+} , qui accélèrent la nucléation. De ce fait le nombre de nucléi augmente et les particules finales sont alors plus nombreuses et plus petites. Par ailleurs, il signale également que le taux d'oxyde de fer dans les particules magnétiques est plus important que le taux d'oxyde de fer introduit initialement. L'explication vient du fait qu'il existe à côté des particules magnétiques des particules non magnétiques de petites tailles. Cependant la taille de ces particules ainsi que leur nombre n'est pas précisé.

Ding et al.⁷⁷ ont étudié la polymérisation en dispersion du NiPAM dans un milieu hydroalcoolique (rapport éthanol/eau de 52/48 en masse) avec non pas un réticulant, mais un co-monomère, le styrène. Le stabilisant utilisé est un polyéthylène glycol (PEG) de masse molaire $M_w = 4\,000\text{ g mol}^{-1}$ et il est utilisé à 5% en masse par rapport au monomère. L'oxyde de fer utilisé dans ce cas possède un diamètre de 50 nm et est stabilisé par du PEG ($M_w = 4\,000\text{ g mol}^{-1}$). Il est introduit à 8 % par rapport au monomère, mais le taux d'oxyde de fer dans les particules finales n'est pas connu. Le diamètre des particules est important et est compris entre 12 et 67 μm . La dispersion de taille est également très importante puisque les particules ayant un diamètre moyen de 12 μm ont en réalité un diamètre compris entre 4,8 et 59,5 μm .

La polymérisation en dispersion du MMA en présence d'oxydes de fer a été peu étudiée.⁸⁸ Elle s'effectue dans du *n*-décane, en présence d'un oxyde de fer hydrophobe stabilisé par de l'acide oléique et avec un amorceur hydrophobe, le peroxyde de dilauroyle (commercialisé sous le nom de Akzo Nobel P-16TM). Les propriétés magnétiques des particules obtenues sont intéressantes : 48 % en masse d'oxydes de fer et une magnétisation à saturation de 38 emu g^{-1} . En revanche pour arriver à ces valeurs, l'oxyde de fer est introduit en large excès (le rapport oxydes de fer / monomère est de 2,5) et les particules obtenues ne semblent pas sphériques et relativement agrégées (Figure 20).

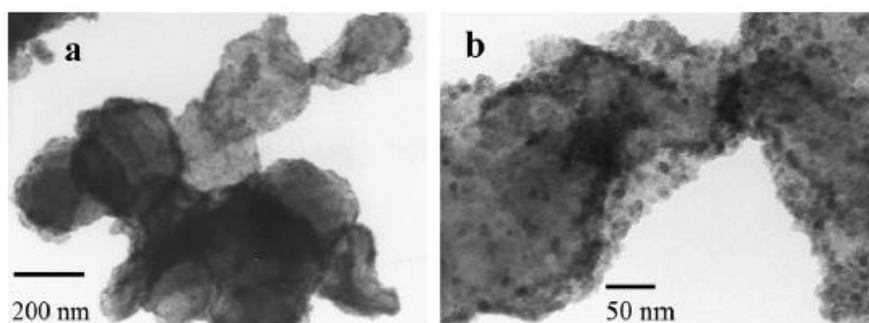


Figure 20 : Clichés MET des particules magnétiques de PMMA obtenues par polymérisation en dispersion dans le *n*-décane selon le procédé de Gyergyek et al.⁸⁸

Des particules de P(S-co-MAA) ont été obtenues par polymérisation en dispersion en présence d'oxydes de fer stabilisés par de l'acide oléique dans un milieu hydroalcoolique (rapport éthanol/eau 47/53).⁸⁷ Le stabilisant utilisé dans ce cas est également un PEG ($M_w = 4\,000\text{ g mol}^{-1}$) et l'amorceur est le BPO. Les teneurs en stabilisant et amorceur sont élevées, respectivement de 54 et 36 % en masse par rapport au monomère. Pour ces valeurs, les particules obtenues ont un diamètre de 2 μm , elles contiennent 14,2 % d'oxydes de fer et ont une valeur de magnétisation à saturation de 9,8 emu g^{-1} .

Il existe un cas particulier où l'oxyde de fer n'est pas introduit dans le milieu initial, mais au cours de la polymérisation.⁸⁴ Dans cette étude, Niu et al. utilisent un oxyde de fer recouvert de PVP (générée *in situ* lors de la synthèse de l'oxyde de fer), introduit en plusieurs injections dans le milieu réactionnel à partir de 2 heures de réaction (Figure 21). Les particules obtenues ont un diamètre de 470 nm et sont monodisperses (PDI^g de 0,042). Le taux d'oxydes de fer estimé par ATG est de 15 % et la magnétisation à saturation est de 7,4 emu g⁻¹.

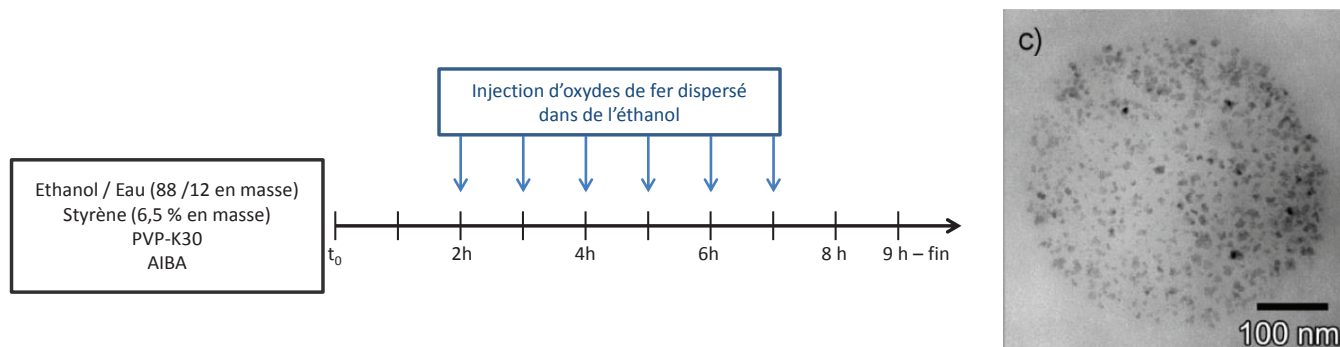


Figure 21 : Schéma du procédé d'encapsulation d'oxydes de fer par polymérisation en dispersion en semi-continu, développé par Niu et al.⁸⁴ et cliché MET d'une coupe d'une particule de latex obtenue par ce procédé.

L'obtention de particules contenant de manière homogène des oxydes de fer (Figure 21), alors que ceux-ci sont ajoutés dans le milieu de manière discontinu peut sembler surprenante. L'auteur explique que cela est dû à l'utilisation d'un amorceur chargé, l'AIBA. Celui-ci permet l'obtention de particules de polystyrène poreuses, avec une taille de pore de l'ordre de 10 nm, i.e. supérieure à la taille moyenne des nanoparticules d'oxydes de fer. Cela permet alors aux nanoparticules d'oxydes de fer de migrer dans les pores. Par ailleurs ces nanoparticules présentent de courtes chaînes de PVP en surface, ce qui augmente leur affinité avec le polystyrène et permet donc aux oxydes de fer de migrer à l'intérieur des particules.

III.3.4. Polymérisation en émulsion et miniémulsion

Ces deux procédés de polymérisation ont été très largement étudiés pour l'encapsulation de particules inorganiques, dont les oxydes de fer, comme en témoignent de nombreuses revues.^{92, 110, 111, 115, 135} Cette partie détaillera uniquement quelques exemples de la littérature mais n'est en aucun cas une liste exhaustive de tous les travaux reportés. En effet, la littérature abonde d'exemples d'encapsulation d'oxydes de fer par polymérisation en émulsion^{86, 95-109, 111} et en miniémulsion^{76, 92, 112-136}, seuls les travaux conduisant à des particules à hautes teneurs en oxydes de fer seront reportés. Ces deux procédés de polymérisation conduisent à la formation de particules de polymère dont le diamètre varie entre 50 et 600 nm selon les conditions initiales (Tableau 3). Ils diffèrent au niveau de l'état initial du système (Figure 22) : i) gouttelettes de monomère micrométriques et micelles de tensioactifs (si sa concentration est supérieure à la concentration micellaire critique ou CMC) pour l'émulsion, ii)

^g Le PDI est une valeur de dispersité calculée par analyse par diffusion dynamique de la lumière.

gouttelettes nanométriques et absence de micelles pour la miniémulsion.¹⁴³ Les mécanismes mis en jeu sont par conséquent différents et seront détaillés dans le chapitre 3.

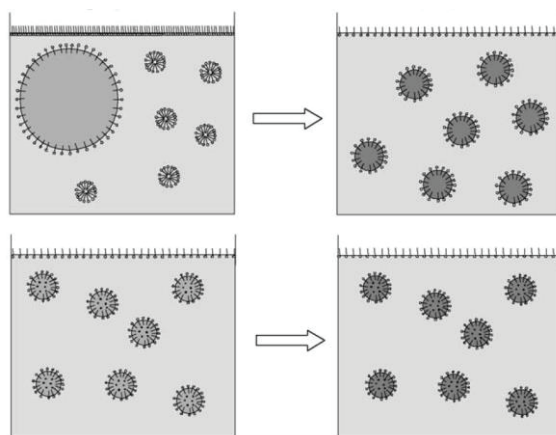


Figure 22 : Différence entre un procédé de polymérisation en émulsion (en haut), contenant des micelles de tensioactifs gonflées de monomère et des gouttelettes réservoirs de monomère et en miniémulsion (en bas), contenant uniquement des gouttelettes de monomère, d'après Antonietti et al.¹⁴³

III.3.4.1. Polymérisation en émulsion en présence d'oxydes de fer

Un exemple de polymérisation en émulsion important est celui décrit par Montagne et al.^{83, 94} qui, à partir d'une émulsion magnétique,^{89, 91} ont pu obtenir des particules de latex magnétiques avec un haut taux d'oxyde de fer.^{89, 90} L'émulsion magnétique est vendue commercialement par Ademtech et est préparée comme suit : des nanoparticules d'oxyde de fer sont synthétisées par co-précipitation et stabilisées par de l'acide oléique. En fin de synthèse les nanoparticules sont transférées dans de l'octane à hauteur de 70% en masse pour former un ferrofluide organique. Celui-ci est ensuite introduit sous agitation dans une solution contenant au moins 25% en masse d'un tensioactif non ionique, l'éther nonylphénole (commercialisé sous le nom de NP10). Puis une agitation effectuée par un agitateur de type couette permet d'obtenir une première émulsion. Celle-ci est ensuite rediluée dans une solution contenant un autre tensioactif, le *t*-octylphénoxy polyéthoxyéthanol, commercialisé sous le nom de Triton X-405. Cette dernière étape permet de stabiliser les gouttelettes formées lors de l'étape précédente. Après des étapes de lavages magnétiques, des gouttelettes composées de 70% d'oxydes de fer en masse et possédant un diamètre de 180 nm et une dispersité de 1,2 sont obtenues. Ces gouttelettes forment « l'émulsion magnétique » (Figure 23).

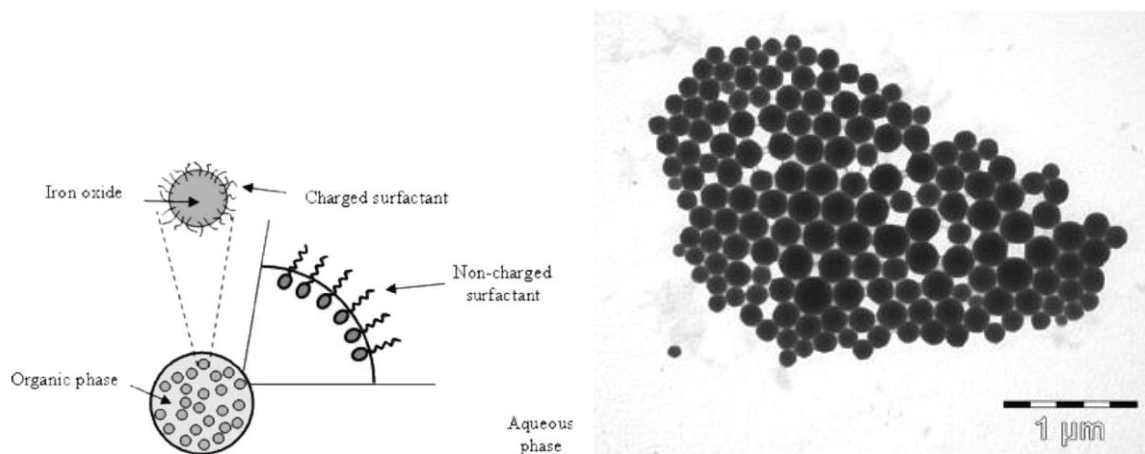


Figure 23 : Schéma des gouttelettes d'une émulsion magnétique⁶² et clichés MET des gouttelettes⁸⁹ provenant des études de Veyret et al.⁶² et de Montagne et al.⁸⁹

Pour obtenir des particules de latex de PS,^{89, 91} du styrène, du DVB, du Triton X-405 et un amorceur sont simplement ajoutés à cette émulsion magnétique et agités pendant une heure à température ambiante pour obtenir une émulsion homogène. Puis la température est élevée pour démarrer la polymérisation. Les particules obtenues sont de type cœur/écorce et de taille semblable au diamètre des gouttelettes, lorsque l'amorceur est hydrosoluble (Figure 24). Elles possèdent une forte magnétisation à saturation (51 emu g^{-1}) et un taux élevé d'oxydes de fer (60 % en masse).

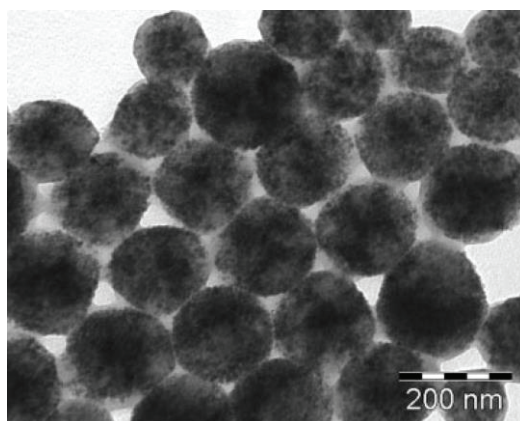


Figure 24 : Cliché MET des particules de latex magnétiques obtenues par polymérisation d'une émulsion magnétique, selon le procédé de Montagne et al.⁸⁹

Un autre cas de polymérisation en émulsion intéressant est celui de Wu et al.⁸⁶. Ils utilisent également un oxyde de fer stabilisé par de l'acide oléique à 50 % en masse dans de l'octane. Cette fois-ci le ferrofluide est introduit dans une solution aqueuse contenant de la PVP et homogénéisé à l'aide d'une sonde à ultrasons. Puis le mélange est directement introduit dans le réacteur avec du NiPAM, du DVB et du KPS. Les particules obtenues après polymérisation contiennent jusqu'à 34% d'oxyde de fer et ont une magnétisation à saturation de 43 emu g^{-1} .

Récemment l'équipe de Kniajanski et al.¹⁰⁸ ont étudié l'encapsulation d'oxydes de fer hydrophiles par polymérisation en émulsion du styrène amorcée par du persulfate de sodium (SPS), en faisant varier l'état de surface des oxydes de fer. Différents stabilisants ont été utilisés, tels que l'acide oléique (en

double couche), l'acide citrique, mais également des modificateurs réactifs tels que le méthacrylate de 2-(acétoacétoxy)éthyle. La combinaison de l'acide oléique et de ce dernier modificateur de surface a permis l'encapsulation de 40 % d'oxyde de fer dans des particules d'environ 170 nm de diamètre. La magnétisation à saturation de ces particules magnétiques est d'environ 20 emu g⁻¹. Cette étude décrit également l'hétérogénéité du latex obtenu, qui contient à la fois une fraction magnétique et une fraction de latex non magnétique et compare les propriétés magnétiques de la fraction magnétique (20 emu g⁻¹) et du latex total (8 emu g⁻¹).

III.3.4.2. Polymérisation en miniémulsion en présence d'oxydes de fer

En ce qui concerne la miniémulsion, deux exemples de travaux consistent à encapsuler non pas des nanoparticules, mais des agrégats contrôlés de ceux-ci.^{113, 114} Les équipes de Zheng et al.¹¹³ et Ramirez et al.¹¹⁴ ont développé une technique de « double mini-émulsification » (Figure 25). La première miniémulsion contient l'oxyde de fer stabilisé par de l'acide oléique dans de l'octane et éventuellement de l'héxadécane (agent hydrophobe) comme phase organique. Tandis que la phase aqueuse est une solution aqueuse de tensioactif anionique, le dodécyl sulfate de sodium (SDS). Le tout est fortement agité à l'aide d'une sonde à ultrasons pour former une première miniémulsion. Des agrégats contrôlés d'oxydes de fer sont obtenus en chauffant la miniémulsion à 80 °C pendant 6 h afin d'évaporer l'octane des gouttelettes. Parallèlement une deuxième miniémulsion est préparée contenant du styrène, de l'héxadécane et du SDS. Les deux miniémulsions sont ensuite réunies et à nouveau agitées fortement à l'aide d'une sonde à ultrasons avant que la polymérisation ait lieu. Ramirez et al.¹¹⁴ indiquent que la taille des agrégats contrôlés peut atteindre les 200 nm, tandis que la taille des particules de latex magnétiques obtenues n'est pas donnée (Figure 25). En revanche, le taux d'oxyde de fer est indiqué et est de 35 % en masse d'après les analyses ATG. Dans le cas de Zheng et al.¹¹³ le diamètre des particules des latex magnétiques est plus petit (102 nm) mais le taux d'oxyde de fer est plus important (55 % en masse d'après ATG). Les particules de latex semblent également mieux définies sur les clichés MET (Figure 26).

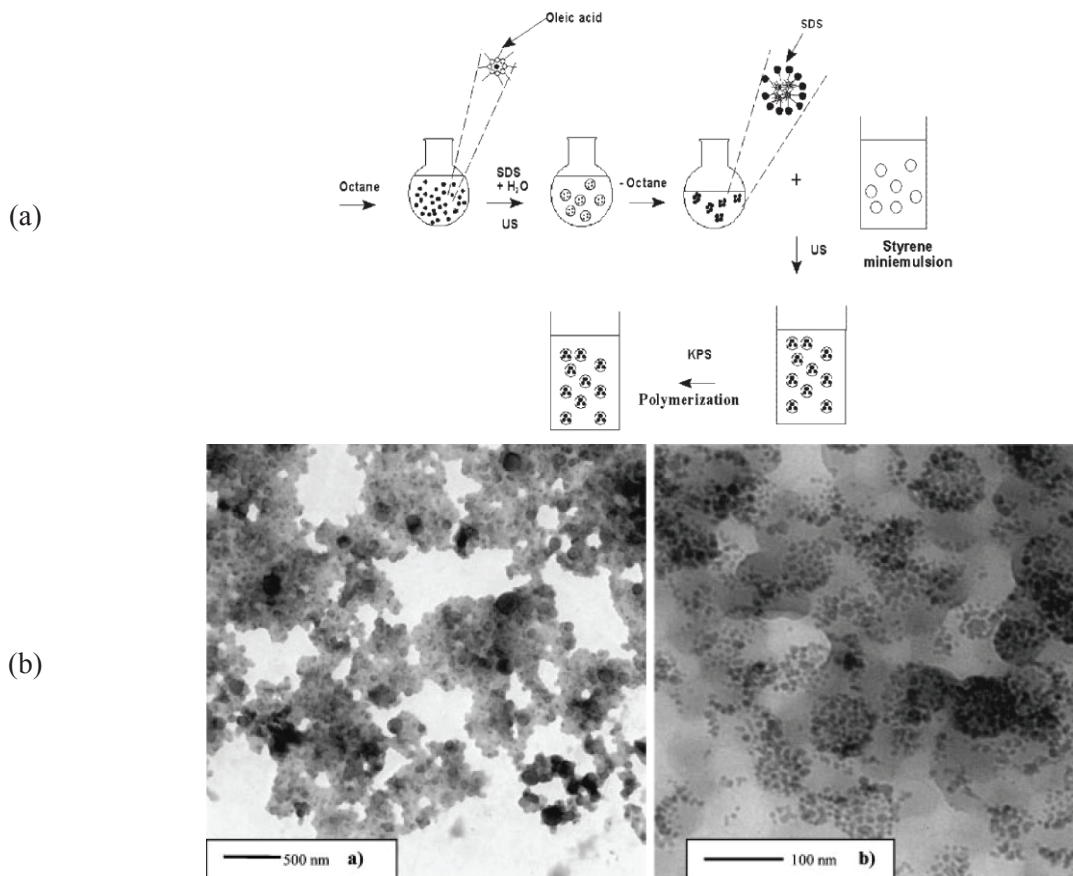


Figure 25 : Schéma représentant le procédé de « double miniémulsification » (a) et clichés MET des particules de latex magnétiques obtenues par ce procédé (b) selon Ramirez et al.¹¹⁴

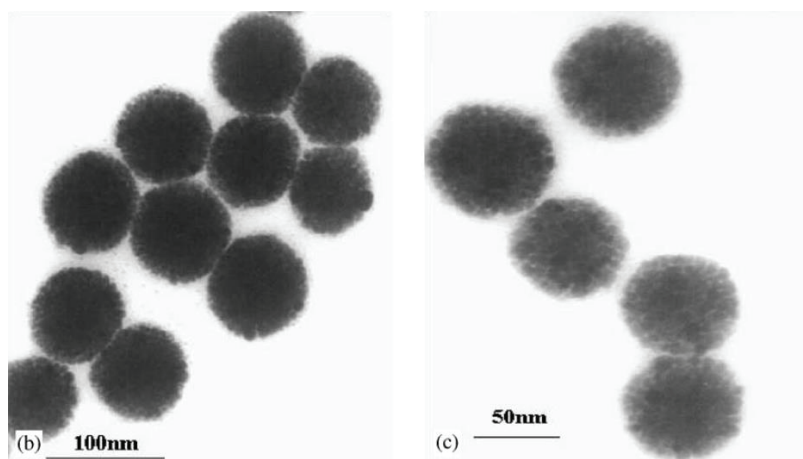


Figure 26 : Clichés MET des particules de latex magnétiques, tirés de la publication de Zheng et al.¹¹³

La polymérisation en miniémulsion « classique », sans ce procédé de double émulsification, a également été étudiée et une étude intéressante est celle de Joumaa et al.⁹². Dans cette étude différents oxydes de fer hydrophobes ont été testés : des oxydes de fer stabilisés par de l'acide oléique dans de l'octane ou dans du styrène ou encore stabilisés par un macromonomère comportant une fonction

phosphate et une fonction méthacrylate (PAM 200). Les polymérisations sont amorcées par du KPS et conduites en présence de SDS et d'héxadécane, qui sont respectivement le tensioactif et l'agent hydrophobe. La composition du latex obtenu est hétérogène (Figure 27) avec 20 % de particules non magnétiques et 80 % de particules magnétiques, leur séparation magnétique étant effectuée avec un temps de séparation de 30 minutes. Les particules magnétiques obtenues ont un diamètre d'environ 190 nm et contiennent jusqu'à 30 % d'oxyde de fer, correspondant à une magnétisation à saturation de 24 emu g⁻¹.

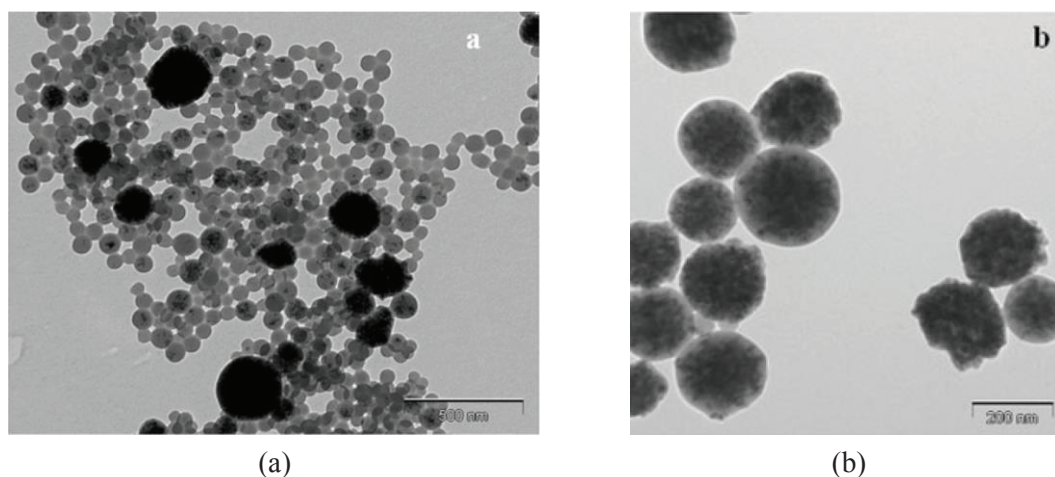


Figure 27 : Clichés MET du latex (a) et des particules magnétiques (b) obtenus par polymérisation en miniémulsion du styrène, selon le procédé décrit par Joumaa et al.⁹²

Il est également possible d'obtenir des particules magnétiques par polymérisation en miniémulsion inverse. Il s'agit dans ce cas de polymériser un ou plusieurs monomères hydrophiles dans une phase continue organique. Wormuth¹¹² a utilisé cette technique pour obtenir des particules magnétiques de P(HEMA-co-MAA). Cette fois-ci l'oxyde de fer utilisé n'est pas hydrophobe, mais hydrophile : il s'agit d'un oxyde de fer stabilisé par du polymère P(EG-co-MAA). Il est introduit directement dans les monomères (HEMA et MAA) pour obtenir un ferrofluide à 36% en masse. Le stabilisant utilisé pour stabiliser les gouttelettes est également un polymère : le poly(éthylène-co-butadiène)-*b*-poly(éthylène glycol), qui est dispersé dans du décane. Une fois tous les réactifs introduits, le mélange est fortement agité à l'aide d'une sonde à ultrasons, puis la température est élevée à 65 °C pour lancer la polymérisation. Les particules obtenues ont un diamètre de 150 nm en moyenne (par microscopie électronique à balayage), mais sont relativement polydisperses car les diamètres observés varient de 50 à 250 nm. Le taux d'oxyde de fer obtenu par ATG est de 18%.

Tableau 4 : Récapitulatif des différentes particules de latex magnétiques détaillées dans ce chapitre

Référence	Voie ^a	Procédé de polymérisation	Diamètre des particules	M _S (emu g ⁻¹)	Taux d'oxyde de fer (%)	Dispersion de taille ^b
Ademtech	c	émulsion	200 – 300 nm	40	70	CV = 25
Dynal ^{40, 65}	b	dispersion	1,15 µm	23,5	2,5	CV < 3
Merck	?	?	0,3 – 2 µm	24	60	
Merck Silica	?	?	100 nm		>95	
Genpoint ^{57, 58}	a	Auto-assemblage	0,5 à 3 µm		50-60	élevée
Ma ⁶⁶	b	dispersion	2,6 µm	16,3	24,3	$D_d = 1,02$
Omer Mizrahi ⁷²	b	dispersion	2,4 µm	3	5,8	
Reymond ⁶⁸	b	dispersion	4,1 µm		29,1	$D_d = 1,04$
Yang ⁶⁷	b	dispersion	5,1 µm	12,6	15,9	
Lindlar ⁷¹	b	émulsion	700 nm	1	25	
Chen ⁷⁶	c	suspension	1 – 2 µm	2,85		
Chen ⁷⁴	c	précipitation	226 nm	7,5	25,8	$\sigma = 62$
Sauzede ^{51, 85}	c	précipitation		37	14-26	
Chen ⁷⁵	c	précipitation	230 nm	29,5 – 39,7		
Li ⁷³	c	précipitation	350 nm ^c	32	45	
Horak ⁷⁸⁻⁸⁰	c	dispersion	0,1 – 4 µm		2 – 25	
Horak ⁸¹	c	dispersion	1,5 µm		8	
Horak ⁸⁰	c	dispersion	0,3 – 4 µm		5	$D_d = 1,1$
Mackova ⁸²	c	dispersion	375 – 500 nm		43	
Ding ⁷⁷	c	dispersion	12 à 67 µm			
Gyergyek ⁸⁸	c	dispersion	Non sphériques	38	48	
Zeng ⁸⁷	c	dispersion	2 µm	9,8	14,2	
Niu ⁸⁴	c	dispersion	470 nm	7,4	15	$PDI = 0,042$
Montagne ^{83, 94} (émulsion)	c	émulsion	180 nm		70	$D_d = 1,2$
Montagne ⁸⁹ (latex)	c	émulsion		51	60	
Wu ⁸⁶	c	émulsion		43	34	
Kniajanski ¹⁰⁸	c	émulsion	170 nm	20	40	
Ramirez ¹¹⁴	c	Double émulsification	200 nm		35	
Zheng ¹¹³	c	Double émulsification	102 nm		55	
Joumaa ⁹²	c	miniémulsion	190 nm	24	30	
Worthmuth ¹¹²	c	miniémulsion inverse	150 nm		18	élevée

^aa, b et c correspondent aux méthodes décrites à la page 38 (a = par auto-assemblage, b = synthèse in situ des oxydes de fer en présence de particules de latex préformées, c = polymérisation en présence d'oxydes de fer).

^bCV = coefficient de variation, σ = écart-type, PDI = dispersité donnée par DDL, D_d = dispersité. ^cDans ce cas il s'agit de clusters d'oxydes de fer de 230 nm et non de nanoparticules.

III.4. Conclusions

La littérature foisonne d'articles sur la synthèse de particules magnétiques et certains d'entre eux ont été décrits dans les paragraphes précédents, tels que l'auto-assemblage, la synthèse des oxydes de fer dans des particules de polymères préformés ou encore la polymérisation de monomères en présence d'oxydes de fer. Certaines des particules magnétiques obtenues conduisent toutefois à des produits non utilisables pour des applications de séparation, car leur taux d'oxydes de fer est trop faible.

Il y a notamment la voie par *auto-assemblage*, qui ne permet pas d'obtenir des particules ayant une forte teneur en oxydes de fer, à l'exception du procédé conduisant aux particules Chemagen. Par ailleurs, même après une encapsulation par polymérisation par précipitation, les particules obtenues par hétérocoagulation d'oxydes de fer sur des particules de polymères sont susceptibles de relarguer des oxydes de fer,^{51, 85} ce qui est incompatible avec l'application de séparation magnétique envisagée dans cette thèse.

En ce qui concerne la *synthèse d'oxydes de fer en présence de particules de polymères préformés*, cette technique permet un bon contrôle de la taille et de la dispersion de tailles des particules obtenues. Elle nécessite cependant une fonctionnalisation permettant de « capter » les précurseurs d'oxyde de fer, ce qui rajoute une étape de synthèse. Bien que longue, cette technique utilisée pour synthétiser les particules Dynal reste très intéressante.

Cependant la plupart des travaux ont porté sur la *polymérisation en milieu dispersé en présence d'oxydes de fer*. Cette voie permet une plus grande diversité dans les polymères et les morphologies obtenues. C'est également la voie qui permet d'obtenir le taux d'oxyde de fer le plus élevé.

Bien que peu de publications le signale, il est intéressant de noter que selon les protocoles, il n'est pas rare d'observer des particules ne contenant pas d'oxyde de fer, ou des nanoparticules d'oxyde de fer non encapsulées. Une autre difficulté, mise en avant par Mackova et al.,⁸² est celle d'obtenir à la fois des particules de tailles importantes et des particules contenant un taux élevé d'oxyde de fer.

Ainsi au vue de cette étude bibliographique, il apparait qu'obtenir des particules répondant aux trois critères suivants restent encore un challenge au jour d'aujourd'hui :

- Particules de taille importante (diamètre d'environ 500 nm)
- Taux d'oxyde de fer élevé (> 50 %)
- Distribution de taille de particules faible (D_w/D_n inférieur à 1,5)

Nous nous attacherons à obtenir des particules les plus proches de ce cahier des charges durant ces travaux de thèse.

IV. Conclusions du chapitre 1

Les nanoparticules d'oxydes de fer possèdent de nombreuses applications, majoritairement dans le domaine biomédical et pour la séparation magnétique de biomolécules. Pour de telles applications, les particules doivent être encapsulées pour éviter tout relargage. L'encapsulation la plus courante est celle par des polymères, car elle permet l'accès direct à de nombreuses propriétés (thermosensible, pH sensible).

Par ailleurs, pour une application dans le domaine de la séparation magnétique, la vitesse de séparation est un paramètre primordial, qui dépend essentiellement de la quantité d'oxydes de fer et de la taille des particules. La voie de synthèse des particules de latex magnétiques qui sera choisie dans cette thèse doit donc permettre l'obtention de particules de taille la plus élevée possible et contenant le plus d'oxydes de fer possible. Pour ces raisons, la polymérisation en milieu dispersé en présence de nanoparticules d'oxyde de fer est la voie de synthèse retenue et plus précisément les procédés de polymérisation en dispersion et en émulsion.

Un autre paramètre non négligeable est la stabilité des nanoparticules d'oxydes de fer. En effet pour obtenir des particules de latex stables, il faut que le milieu initial contenant les nanoparticules le soit également. Le candidat idéal pour modifier la surface des nanoparticules est un organosilane présentant une fonction polymérisable. En effet, celui-ci permet la formation d'une liaison covalente avec le polymère, qui évite un éventuel relargage et sa fonction polymérisable le rend également compatible et stable dans le monomère. Le chapitre suivant s'appliquera à détailler l'obtention de nanoparticules d'oxydes de fer et leur modification de surface par des organosilanes, en vue d'une encapsulation par polymérisation en milieux dispersés.

Références du chapitre 1

1. Hamaker, H. C. *Physica* **1937**, *4*, 1058-1072.
2. Daniel, J.-C.; Pichot, C., *Les latex synthétiques. Elaboration, Propriétés, Applications*.Lavoisier, **2006**.
3. Tourinho, F.; Franck, R.; Massart, R.; Perzynski, R., Synthesis and magnetic properties of manganese and cobalt ferrite ferrofluids. dans *Trends in Colloid and Interface Science III*, Steinkopff: **1989**; Vol. 79, p 128-134.
4. Nigam, S.; Barick, K. C.; Bahadur, D. *J. Magn. Magn. Mater.* **2011**, *323*, 237-243.
5. Wooding, A.; Kilner, M.; Lambrick, D. B. *J. Colloid Interface Sci.* **1991**, *144*, 236-242.
6. Avdeev, M. V.; Aksenov, V. L.; Balasoïu, M.; Garamus, V. M.; Schreyer, A.; Torok, G.; Rosta, L.; Bica, D.; Vekas, L. *J. Colloid Interface Sci.* **2006**, *295*, 100-107.
7. Lòpez-Lòpez, M. T.; Duran, J. D. G.; Delgado, A. V.; Gonzalez-Caballero, F. *J. Colloid Interface Sci.* **2005**, *291*, 144-151.
8. Sahoo, Y.; Pizem, H.; Fried, T.; Golodnitsky, D.; Burstein, L.; Sukenik, C. N.; Markovich, G. *Langmuir* **2001**, *17*, 7907-7911.
9. Lu, X.; Niu, M.; Qiao, R.; Gao, M. *J. Phys. Chem. B* **2008**, *112*, 14390-14394.
10. Arsalani, N.; Fattahi, H.; Nazarpour, M. *eXPRESS Polymer Letters* **2010**, *4*, 329-338.
11. Zhang, Y.; Liu, J.-Y.; Yang, F.; Zhang, Y.-J.; Yao, Q.; Cui, T.-Y.; Zhao, X.; Zhang, Z.-D. *J. Mater. Sci.: Mater. Med.* **2009**, *20*, 2433-2440.
12. Lin, C.-L.; Lee, C.-F.; Chiu, W.-Y. *J. Colloid Interface Sci.* **2005**, *291*, 411-420.
13. Ma, H.-I.; Qi, X.-r.; Maitani, Y.; Nagai, T. *Int. J. Pharm.* **2007**, *333*, 177-186.
14. Gillet, G., *Separation magnétique*.Ed. Techniques Ingénieur, **1991**.
15. Kondo, A.; Kamura, H.; Higashitani, K. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* **1994**, *41*, 99-105.
16. Ramadan, Q.; Gijs, M. M. *Microfluid Nanofluid* **2012**, *13*, 529-542.
17. Bigall, N. C.; Curcio, A.; Leal, M. P.; Falqui, A.; Palumberi, D.; Di Corato, R.; Albanesi, E.; Cingolani, R.; Pellegrino, T. *Adv. Mater.* **2011**, *23*, 5645-5650.
18. Truong, N. P.; Jia, Z.; Burgess, M.; Payne, L.; McMillan, N. A. J.; Monteiro, M. J. *Biomacromolecules* **2011**, *12*, 3540-3548.
19. Özdemir, N.; Tuncel, A.; Kang, M.; Denk; Baki, E. *J. Nanosci. Nanotechnol.* **2006**, *6*, 2804-2810.
20. Fan, Z.; Senapati, D.; Singh, A. K.; Ray, P. C. *Mol. Pharm.* **2013**, *10*, 857-866.
21. Rao, J.; Yan, L.; Xu, B.; Whitesides, G. M. *J. Am. Chem. Soc.* **1999**, *121*, 2629-2630.
22. Gu, H.; Xu, K.; Xu, C.; Xu, B. *ChemInform* **2006**, *37*, 941-949.
23. Balasubramanian, A. K.; Soni, K. A.; Beskok, A.; Pillai, S. D. *Lab on a Chip* **2007**, *7*, 1315-1321.
24. Poortinga, A. T.; Bos, R.; Norde, W.; Busscher, H. J. *Surf. Sci. Rep.* **2002**, *47*, 1-32.
25. Wilson, W. W.; Wade, M. M.; Holman, S. C.; Champlin, F. R. *J. Microbiol. Meth.* **2001**, *43*, 153-164.
26. Elaissari, A.; Delair, T.; Pichot, C. *Prog. Colloid Polym. Sci.* **2004**, *124*, 82-87.
27. Pichot, C.; Taniguchi, T.; Delair, T.; Elaissari, A. *J. Dispersion Sci. Technol.* **2003**, *24*, 423 - 437.
28. Rahman, M. M.; Elaissari, A. *Sep. Purif. Technol.* **2011**, *81*, 286-294.
29. Wang, T.; Wang, X.; Long, Y.; Liu, G.; Zhang, G. *Langmuir* **2013**.
30. Zou, Z.; Ibisate, M.; Zhou, Y.; Aebersold, R.; Xia, Y.; Zhang, H. *Anal. Chem.* **2008**, *80*, 1228-1234.
31. Arkhis, A.; Elaissari, A.; Delair, T.; Verrier, B.; Mandrand, B. *J. Biomed. Nanotechnol.* **2010**, *6*, 28-36.

32. Liu, J. W.; Zhang, Y.; Chen, D.; Yang, T.; Chen, Z. P.; Pan, S. Y.; Gu, N. *Colloids Surf., A* **2009**, *341*, 33-39.
33. Veyret, R.; Elaissari, A.; Marianneau, P.; Sall, A. A.; Delair, T. *Anal. Biochem.* **2005**, *346*, 59-68.
34. Kubota, M.; Matsui, M.; Chiku, H.; Kasashima, N.; Shimojoh, M.; Sakaguchi, K. *Appl. Environ. Microb.* **2005**, *71*, 8895-8902.
35. Yang, K.; Jenkins, D. M.; Su, W. W. *J. Microbiol. Meth.* **2011**, *86*, 69-77.
36. Diller, S.; Grassl, R.; Miller, S.; Robl, I.; Schuetz, M.; Zander, T. Use of cationic polymers and magnetic particles for nonspecific isolation of bacteria. WO2003033698A1, **2003**.
37. Refseth, U. H.; Kolpus, T. Cell isolation method. WO2001053525A2, **2001**.
38. Horák, D.; Babič, M.; Macková, H.; Beneš, M. J. *J. Sep. Sci.* **2007**, *30*, 1751-1772.
39. <http://www.magneticmicrosphere.com/page-suppliers-magnetic> (consulté en juin 2013),
40. Ugelstad, J.; Ellingsen, T.; Berge, A.; Helgee, B. Magnetic polymer particles. WO8303920A1, **1983**.
41. Fonnum, G.; Johansson, C.; Molteberg, A.; Morup, S.; Aksnes, E. *J. Magn. Magn. Mater.* **2005**, *293*, 41-47.
42. Safarik, I.; Safarikova, M.; Forsythe, S. J. *J Appl Bacteriol* **1995**, *78*, 575-85.
43. Maleki, T.; Fricke, T.; Quesenberry, J. T.; Todd, P.; Leary, J. F. **2012**, 82510C-82510C.
44. Chen, B.; Hu, B.; He, M.; Huang, Q.; Zhang, Y.; Zhang, X. *J. Anal. At. Spectrom.* **2013**, *28*, 334-343.
45. Delattre, C.; Allier, C. P.; Fouillet, Y.; Jary, D.; Bottausci, F.; Bouvier, D.; Delapierre, G.; Quinaud, M.; Rival, A.; Davoust, L.; Peponnet, C. *Biosens. Bioelectron.* **2012**, *36*, 230-235.
46. Shih, P.-H.; Shiu, J.-Y.; Lin, P.-C.; Lin, C.-C.; Veres, T.; Chen, P. *J. Appl. Phys.* **2008**, *103*, 07A316-3.
47. Horák, D.; Shagotova, T.; Mitina, N.; Trchová, M.; Boiko, N.; Babič, M.; Stoika, R.; Kovářová, J.; Hevus, O.; Beneš, M. J.; Klyuchivska, O.; Holler, P.; Zaichenko, A. *Chem. Mater.* **2011**, *23*, 2637-2649.
48. Gelbrich, T.; Feyen, M.; Schmidt, A. M. *Macromolecules* **2006**, *39*, 3469-3472.
49. Lattuada, M.; Hatton, T. A. *Langmuir* **2006**, *23*, 2158-2168.
50. Marten, G. U.; Gelbrich, T.; Schmidt, A. M. *Beilstein J. Org. Chem* **2010**, *6*, 922-931.
51. Sauzedde, F.; Elaissari, A.; Pichot, C. *Colloid Polym. Sci.* **1999**, *277*, 846-855.
52. Sauzedde, F.; Elaissari, A.; Pichot, C. *Macromol. Symp.* **2000**, *151*, 617-623.
53. Wang, F.-W.; Liu, H.-R.; Zhang, J.-D.; Zhou, X.-T.; Zhang, X.-Y. *J. Polym. Sci., Part A: Polym. Chem.* **2012**, *50*, 4599-4611.
54. Pich, A.; Bhattacharya, S.; Adler, H. J. P. *Polymer* **2005**, *46*, 1077-1086.
55. Kim, Y. J.; Liu, Y. D.; Seo, Y.; Choi, H. J. *Langmuir* **2013**, *29*, 4959-4965.
56. Yang, J.; Hasell, T.; Wang, W.; Li, J.; Brown, P. D.; Poliakoff, M.; Lester, E.; Howdle, S. M. *J. Mater. Chem.* **2008**, *18*, 998-1001.
57. Muller-Schulte, D.; Brunner, H. *J. Chromatogr. A* **1995**, *711*, 53-60.
58. Oster, J. r.; Parker, J.; ã Brassard, L. *J. Magn. Magn. Mater.* **2001**, *225*, 145-150.
59. Kim, B.-S.; Qiu, J.-M.; Wang, J.-P.; Taton, T. A. *Nano Lett.* **2005**, *5*, 1987-1991.
60. Hickey, R. J.; Haynes, A. S.; Kikkawa, J. M.; Park, S.-J. *J. Am. Chem. Soc.* **2011**, *133*, 1517-1525.
61. Budgin, A. M.; Kabachi, Y. A.; Shifrina, Z. B.; Valetsky, P. M.; Kochev, S. S.; Stein, B. D.; Malyutin, A. G.; Bronstein, L. M. *Langmuir* **2012**, *28*, 4142-4151.
62. Veyret, R.; Delair, T.; Elaissari, A. *J. Magn. Magn. Mater.* **2005**, *293*, 171-176.
63. Veyret, R.; Delair, T.; Pichot, C.; Elaissari, A. *J. Magn. Magn. Mater.* **2005**, *295*, 155-163.
64. Veyret, R.; Elaissari, A.; Delair, T. *Colloids Surf., B* **2006**, *53*, 78-86.

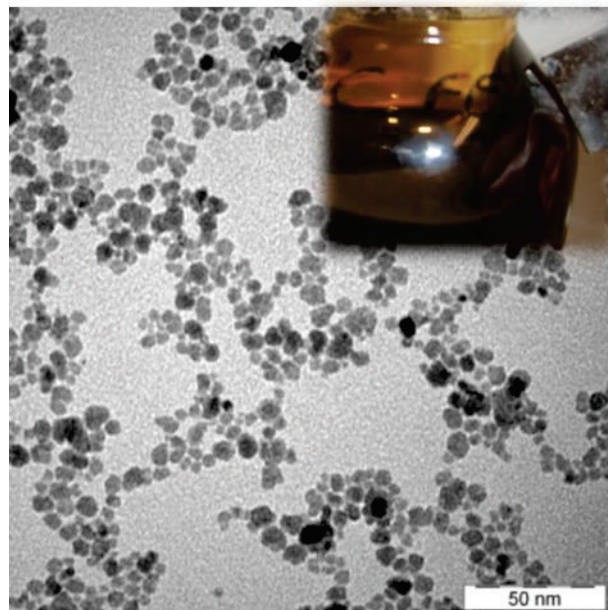
65. Ugelstad, J.; Berge, A.; Ellingsen, T.; Aune, O.; Kilaas, L.; Nilsen, T. N.; Schmid, R.; Stenstad, P.; Funderud, S.; Kvalheim, G.; Nustad, K.; Lea, T.; Vartdal, F.; Danielsen, H. *Makromol. Chem. Macromol. Symp.* **1988**, *17*, 177-211.
66. Ma, Z.; Guan, Y.; Liu, H. *J. Polym. Sci., Part A: Polym. Chem.* **2005**, *43*, 3433-3439.
67. Yang, C.; Shao, Q.; He, J.; Jiang, B. *Langmuir* **2010**, *26*, 5179-5183.
68. Reymond, F.; Vollet, C.; Plichta, Z.; Horák, D. *Biotechnol. Prog.* **2013**, *29*, 532-542.
69. Horák, D.; Kučerová, J.; Korecká, L.; Jankovičová, B.; Palarčík, J.; Mikulášek, P.; Bílková, Z. *Macromol. Biosci.* **2012**, *12*, 647-655.
70. Amara, D.; Margel, S. *J. Mater. Chem.* **2012**, *22*, 9268-9276.
71. Lindlar, B.; Boldt, M.; Eiden-Assmann, S.; Maret, G. *Adv. Mater.* **2002**, *14*, 1656-1658.
72. Omer-Mizrahi, M.; Margel, S. *J. Colloid Interface Sci.* **2009**, *329*, 228-234.
73. Li, Y.; Dong, M.; Kong, J.; Chai, Z.; Fu, G. *J. Colloid Interface Sci.* **2013**, *394*, 199-207.
74. Chen, T.; Cao, Z.; Guo, X.; Nie, J.; Xu, J.; Fan, Z.; Du, B. *Polymer* **2011**, *52*, 172-179.
75. Chen, H.; Dong, M.; Li, Y.; Kong, J.; Chai, Z.; Fu, G. *React. Funct. Polym.* **2013**, *73*, 18-22.
76. Chen, Z.; Peng, K.; Mi, Y. *J. Appl. Polym. Sci.* **2007**, *103*, 3660-3666.
77. Ding, X. B.; Sun, Z. H.; Wan, G. X.; Jiang, Y. Y. *React. Funct. Polym.* **1998**, *38*, 11-15.
78. Horák, D.; Benedyk, N. *J. Polym. Sci., Part A: Polym. Chem.* **2004**, *42*, 5827-5837.
79. Horák, D.; Petrovský, E.; Kapicka, A.; Frederichs, T. *J. Magn. Magn. Mater.* **2007**, *311*, 500-506.
80. Horák, D.; Semenyuk, N.; Lednický, F. *J. Polym. Sci., Part A: Polym. Chem.* **2003**, *41*, 1848-1863.
81. Horák, D.; Rittich, B.; Šafář, J.; Španová, A.; Lenfeld, J.; Beneš, M. *J. Biotechnol. Prog.* **2001**, *17*, 447-452.
82. Macková, H.; Králová, D.; Horák, D. *J. Polym. Sci., Part A: Polym. Chem.* **2007**, *45*, 5884-5898.
83. Montagne, F.; Braconnot, S.; Mondain-Monval, O.; Pichot, C.; Elaissari, A. *J. Dispersion Sci. Technol.* **2003**, *24*, 821-832.
84. Niu, M.; Du, M.; Gao, Z.; Yang, C.; Lu, X.; Qiao, R.; Gao, M. *Macromol. Rapid Commun.* **2010**, *31*, 1805-1810.
85. Sauzedde, F.; Elaissari, A.; Pichot, C. *Colloid Polym. Sci.* **1999**, *277*, 1041-1050.
86. Wu, F.; Li, Q.; Zhang, X.; Liu, L.; Wu, S.; Sun, D.; Li, F.; Jiang, W. *J. Magn. Magn. Mater.* **2012**, *324*, 1326-1330.
87. Zeng, H.; Lai, Q.; Liu, X.; Wen, D.; Ji, X. *J. Appl. Polym. Sci.* **2007**, *106*, 3474-3480.
88. Gyergyek, S.; Huskic, M.; Makovec, D.; Drogenik, M. *Colloids Surf., A* **2008**, *317*, 49-55.
89. Montagne, F.; Mondain-Monval, O.; Pichot, C.; Elaissari, A. *J. Polym. Sci., Part A: Polym. Chem.* **2006**, *44*, 2642-2656.
90. Mouaziz, H.; Braconnot, S.; Ginot, F.; Elaissari, A. *Colloid Polym. Sci.* **2009**, *287*, 287-297.
91. Braconnot, S.; Eissa, M. M.; Elaissari, A. *Colloid Polym. Sci.* **2013**, *291*, 193-203.
92. Joumaa, N.; Toussay, P.; Lansalot, M.; Elaissari, A. *J. Polym. Sci., Part A: Polym. Chem.* **2008**, *46*, 327-340.
93. Xuan, S.; Wang, Y.-X. J.; Leung, K. C.-F.; Shu, K. *J. Phys. Chem. C* **2008**, *112*, 18804-18809.
94. Montagne, F.; Mondain-Monval, O.; Pichot, C.; Mozzanega, H.; Elaissari, A. *J. Magn. Magn. Mater.* **2002**, *250*, 302-312.
95. Horák, D.; Chekina, N. *J. Appl. Polym. Sci.* **2006**, *102*, 4348-4357.
96. Sacanna, S.; Kegel, W. K.; Philipse, A. P. *Langmuir* **2007**, *23*, 10486-10492.
97. Liu, G.; Yang, H.; Zhou, J.; Law, S.-J.; Jiang, Q.; Yang, G. *Biomacromolecules* **2005**, *6*, 1280-1288.
98. Pich, A.; Bhattacharya, S.; Ghosh, A.; Adler, H. J. P. *Polymer* **2005**, *46*, 4596-4603.

99. Xie, G.; Zhang, Q.; Luo, Z.; Wu, M.; Li, T. *J. Appl. Polym. Sci.* **2003**, *87*, 1733-1738.
100. Wang, P.-C.; Chiu, W.-Y.; Lee, C.-F.; Young, T.-H. *J. Polym. Sci., Part A: Polym. Chem.* **2004**, *42*, 5695-5705.
101. Wang, P.-C.; Chiu, W.-Y.; Young, T.-H. *J. Appl. Polym. Sci.* **2006**, *100*, 4925-4934.
102. Li, X.; Liu, G.; Yan, W.; Chu, P. K.; Yeung, K. W. K.; Wu, S.; Yi, C.; Xu, Z. *J. Magn. Magn. Mater.* **2012**, *324*, 1410-1418.
103. Kloust, H.; Pösel, E.; Kappen, S.; Schmidtke, C.; Kornowski, A.; Pauer, W.; Moritz, H.-U.; Weller, H. *Langmuir* **2012**, *28*, 7276-7281.
104. Pimpha, N.; Chaleawler-umpon, S.; Sunintaboon, P. *Polymer* **2012**, *53*, 2015-2022.
105. Guan, N.; Liu, C.; Sun, D.; Xu, J. *Colloids Surf., A* **2009**, *335*, 174-180.
106. O' Mahony, J. J.; Platt, M.; Kilinc, D.; Lee, G. U. *Langmuir* **2013**, *29*, 2546-2553.
107. Forestier, T.; Ferrié, M.; Ravaine, S. *Colloid Polym. Sci.* **2013**, *291*, 187-192.
108. Kniajanski, S.; Colborn, R. E.; Bales, B. C.; Riccobono, O.; Dulgar-Tulloch, A. J.; Stein, J.; Kandapallil, B. I. I. *J. Appl. Polym. Sci.* **2013**, *129*, 1726-1733.
109. Beyaz, S.; Tanrisever, T.; Kockar, H.; Butun, V. *J. Appl. Polym. Sci.* **2011**, *121*, 2264-2272.
110. Rahman, M.; Elaissari, A.; van Herk, A. M.; Landfester, K. *Adv. Polym. Sci.* **2010**, *233*, 237-281.
111. Bourgeat-Lami, E.; Lansalot, M.; van Herk, A. M.; Landfester, K. *Adv. Polym. Sci.* **2010**, *233*, 53-123.
112. Wormuth, K. *J. Colloid Interface Sci.* **2001**, *241*, 366-377.
113. Zheng, W.; Gao, F.; Gu, H. *J. Magn. Magn. Mater.* **2005**, *288*, 403-410.
114. Ramirez, L. P.; Landfester, K. *Macromol. Chem. Phys.* **2003**, *204*, 22-31.
115. Landfester, K.; Ramirez, L., P. *Journal of Physics: Condensed Matter* **2003**, *15*, S1345.
116. Ban, J.; Kim, K.; Jung, H.; Choe, S. *Journal of Industrial and Engineering Chemistry* **2010**, *16*, 1040-1049.
117. Dou, J.; Zhang, Q.; Jian, L.; Gu, J. *Colloid Polym. Sci.* **2010**, *288*, 1751-1756.
118. Dou, J.; Zhang, Q.; Ma, M.; Gu, J. *J. Magn. Magn. Mater.* **2012**, *324*, 3078-3082.
119. Fischer, V.; Bannwarth, M. B.; Jakob, G.; Landfester, K.; Munoz-Espí, R. *J. Phys. Chem. C* **2013**, *117*, 5999-6005.
120. Gyergyek, S. o.; Makovec, D.; Mertelj, A.; Huskic, M.; Drogenik, M. *Colloids Surf., A* **2010**, *366*, 113-119.
121. Lin, C.-L.; Chiu, W.-Y.; Don, T.-M. *J. Appl. Polym. Sci.* **2006**, *100*, 3987-3996.
122. Liu, X.; Guan, Y.; Ma, Z.; Liu, H. *Langmuir* **2004**, *20*, 10278-10282.
123. Lu, S.; Forcada, J. *J. Polym. Sci., Part A: Polym. Chem.* **2006**, *44*, 4187-4203.
124. Lu, S.; Ramos, J.; Forcada, J. *Langmuir* **2007**, *23*, 12893-12900.
125. Luo, Y.-D.; Dai, C.-A.; Chiu, W.-Y. *J. Polym. Sci., Part A: Polym. Chem.* **2008**, *46*, 1014-1024.
126. Luo, Y.-D.; Dai, C.-A.; Chiu, W.-Y. *J. Appl. Polym. Sci.* **2009**, *112*, 975-984.
127. Qian, Z.; Zhang, Z.; Chen, Y. *J. Colloid Interface Sci.* **2008**, *327*, 354-361.
128. Ramos, J.; Forcada, J. *Langmuir* **2011**, *27*, 7222-7230.
129. Wang, F.; Pauletti, G. M.; Wang, J.; Zhang, J.; Ewing, R. C.; Wang, Y.; Shi, D. *Adv. Mater.* **2013**, *25*, 3485-3489.
130. Wang, Y.; Wang, F.; Chen, B.; Xu, H.; Shi, D. *Chem. Commun.* **2011**, *47*, 10350-10352.
131. Wang, Y.; Xu, H.; Ma, Y.; Guo, F.; Wang, F.; Shi, D. *Langmuir* **2011**, *27*, 7207-7212.
132. Xu, H.; Cui, L.; Tong, N.; Gu, H. *J. Am. Chem. Soc.* **2006**, *128*, 15582-15583.
133. Yan, F.; Zheng, X.; Sun, Z.; Zhao, A. *Polymer Bulletin* **2012**, *68*, 1305-1314.
134. Zhang, Q.; Zhang, H.; Xie, G.; Zhang, J. *J. Magn. Magn. Mater.* **2007**, *311*, 140-144.
135. Weiss, C.; van Herk, A. M.; Landfester, K. *Adv. Polym. Sci.* **2010**, *233*, 185-236.

136. Landfester, K. *Angew. Chem., Int. Ed.* **2009**, *48*, 4488-4507.
137. Rahman, M. M.; Montagne, F.; Fessi, H.; Elaissari, A. *Soft Matter* **2011**, *7*, 1483-1490.
138. Lee, C.-F.; Lin, M.-L.; Wang, Y.-C.; Chiu, W.-Y. *J. Polym. Sci., Part A: Polym. Chem.* **2012**, *50*, 2626-2634.
139. Zhang, F.; Hou, G.-H.; Wang, C.-C. *Mater. Lett.* **2012**, *89*, 97-100.
140. Smolensky, E. D.; Park, H.-Y. E.; Berquó, T. S.; Pierre, V. C. *Contrast Media & Molecular Imaging* **2011**, *6*, 189-199.
141. Lu, A. H.; Salabas, E.; Schüth, F. *Angew. Chem., Int. Ed.* **2007**, *46*, 1222-1244.
142. Braunecker, W. A.; Matyjaszewski, K. *Prog. Polym. Sci.* **2007**, *32*, 93-146.
143. Antonietti, M.; Landfester, K. *Prog. Polym. Sci.* **2002**, *27*, 689-757.

Chapitre 2

Synthèse et modification de surface de nanoparticules d'oxyde de fer



Sommaire du chapitre 2

I. Notions générales sur la synthèse et la modification de surface de nanoparticules d'oxyde de fer	67
I.1. Synthèse des oxydes de fer	67
I.2. Caractérisations des oxydes de fer	71
I.3. Modification de surface des oxydes de fer	75
II. Synthèse et caractérisations des nanoparticules de maghémite	80
II.1. Protocole de synthèse du ferrofluide	80
II.2. Nature des nanoparticules d'oxyde de fer par spectroscopie RAMAN	82
II.3. Caractérisation des cristallites par diffraction des rayons X (DRX)	84
II.4. Taille et dispersion de taille	85
II.5. Etude de la stabilité du ferrofluide	86
II.6. Mesures magnétiques	89
II.7. Mesure de la surface spécifique	89
III. Modification de surface des nanoparticules de maghémite par le MPS	90
III.1. Protocoles de modification de surface	90
III.2. Caractérisations de la modification de surface des nanoparticules de maghémite	91
IV. Conclusions du chapitre 2	96
<i>Références du chapitre 2</i>	<i>98</i>

I. Notions générales sur la synthèse et la modification de surface de nanoparticules d'oxyde de fer

Il existe globalement deux moyens d'obtenir des nanoparticules. La première méthode est qualifiée de *top-down* et elle consiste à réduire un matériau massif en fine particules. Cette méthode est également appelée méthode physique, car elle fait généralement appel à l'utilisation d'un broyeur à haute énergie. La seconde méthode est nommée *bottom-up* ou voie chimique, car elle consiste à « construire » les nanoparticules à partir de précurseurs moléculaires. Cette technique est la plus courante, car elle nécessite usuellement moins d'énergie et permet un bon contrôle de la morphologie des nanoparticules.

Cette partie décrira dans un premier temps les méthodes *bottom-up* les plus courantes pour la synthèse de nanoparticules d'oxyde de fer. Elle détaillera ensuite les caractéristiques des nanoparticules de maghémite ($\gamma\text{-Fe}_2\text{O}_3$) et de magnétite (Fe_3O_4). Enfin, une dernière partie traitera des différentes techniques de modification de surface des nanoparticules d'oxyde de fer.

I.1. Synthèse des oxydes de fer

Chacune des voies de synthèse détaillée dans cette partie possède soit des avantages au niveau du contrôle de la morphologie et de la distribution de taille des particules, soit au niveau des conditions de synthèse. En effet pour obtenir des particules de morphologies et de tailles parfaitement contrôlées, une longue période de croissance des nanoparticules est souvent nécessaire. Le choix de la voie de synthèse se fait donc en fonction du critère le plus important pour l'application : une taille bien définie avec une distribution de taille étroite ou un procédé facile à mettre en œuvre en vue d'une industrialisation. Cette partie détaillera les principales voies de synthèse qui sont : la co-précipitation, la voie solvothermale et la décomposition thermique.¹⁻³ De nombreuses autres techniques existent (utilisation de laser, de bactéries, etc...) mais restent marginales et ne seront pas détaillées ci-dessous.

I.1.1. Synthèse par co-précipitation

Cette méthode développée par Massart et al.⁴ est la voie principale de préparation de nanoparticules d'oxydes de fer. Le principe est de précipiter des cations de fer (II) et (III) pour former des hydroxydes de fer puis des oxydes de fer. La précipitation s'effectue par l'augmentation rapide du pH obtenue par l'ajout d'une base (Figure 1).



Figure 1 : Schéma de la formation des nanoparticules d'oxyde de fer (magnétite), selon le procédé de Massart

Les principaux paramètres influant sur l'obtention de particules magnétiques sont le rapport molaire Fe(II) et Fe(III) et la nature de la base. La concentration de cette dernière a également une influence sur la taille et la distribution de taille des nanoparticules formées. Les paramètres optimaux pour obtenir un bon rendement en particules magnétiques sont un rapport molaire Fe(II)/Fe(III) de 1/2 et l'utilisation d'ammoniaque (NH_4OH) pour obtenir un pH final compris entre 8,5 et 12. Cependant la distribution de taille des nanoparticules obtenues est relativement large : l'écart-type est de 0,4 pour

des nanoparticules de 7 nm de diamètre (Figure 2). Il est possible de réduire cette dispersion de taille en effectuant des cycles de lavages magnétiques.⁴

L'avantage majeur de cette voie de synthèse est qu'elle est particulièrement aisée à mettre en œuvre car les conditions de réaction sont douces : la synthèse s'effectue dans l'eau et elle peut se faire sans atmosphère inerte, à température et pression ambiantes.

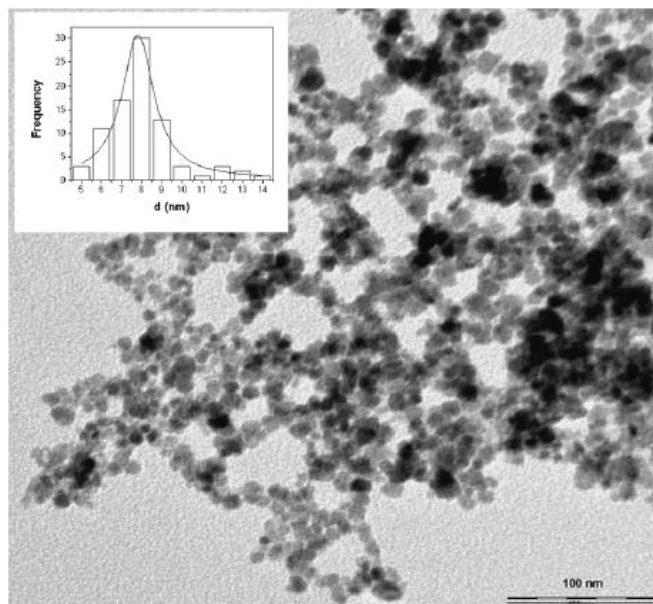


Figure 2 : Cliché de microscopie électronique à transmission (MET) de nanoparticules de magnétite obtenues par co-précipitation, extrait de Viota et al.⁵

I.1.2. Synthèse par voie solvothermale

Le principe de la technique solvothermale est d'utiliser un solvant au-delà de sa température d'ébullition dans un milieu fermé étanche tel qu'un autoclave. Dans ces conditions, une partie du solvant devient gazeux et la pression dans l'autoclave augmente. Puis un équilibre s'établit entre les différentes phases : liquides, gazeuses et solides (nanoparticules en croissance). Les réactions n'ayant lieu qu'aux interfaces, cela permet de contrôler la croissance des nanoparticules et d'obtenir des particules monodisperses (Figure 3). Ces réactions sont cependant longues et durent entre 8 et 72 h.

Le précurseur le plus couramment utilisé pour cette voie est le chlorure ferrique,⁶⁻⁸ mais des complexes d'acétylacétate de fer (III)⁹ peuvent également être utilisés. Les réactions sont conduites dans un solvant et en présence d'un agent stabilisant tel que le citrate de sodium, l'oléylamine, ou encore l'acétate de sodium. La température dépend du solvant et varie entre 130 et 400 °C.

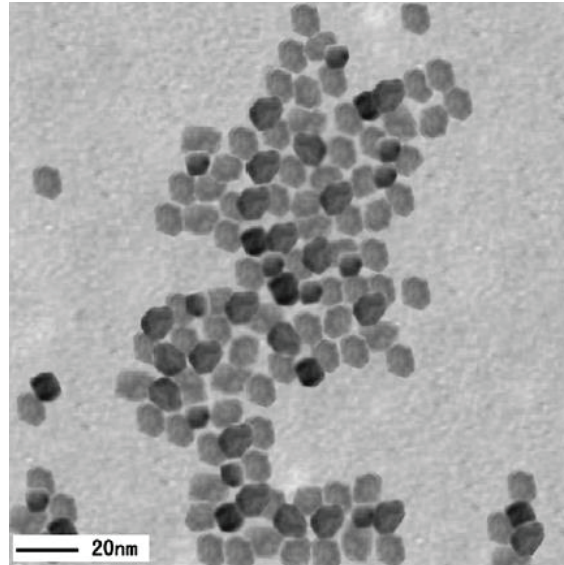


Figure 3 : Cliché MET de nanoparticules de magnétite de 10,4 nm de diamètre obtenues par le procédé solvothermal décrit par Liu et al.⁹

Dans le cas où l'eau est utilisée, le procédé est qualifié d'hydrothermal. Les précurseurs sont des chlorures de fer^{10, 11} et la présence supplémentaire d'une base telle que de la soude ou l'ammoniaque est nécessaire. Cette dernière peut être libérée *in situ*, via le précurseur, comme dans le cas du citrate d'ammonium ferrique par exemple.¹² La température utilisée est plus faible : entre 100 °C et 140 °C.

Deux avancées importantes ont été accomplies par la voie solvothermale : l'obtention de clusters présentant des diamètres compris entre 200 et 800 nm (Figure 4), composés de nanoparticules de magnétite ou de maghémite⁶ d'une part, et la stabilisation *in situ* des oxydes de fer par des citrates d'autre part.^{7, 13} En combinant ces deux avancées, Liu et al.⁷ ont pu obtenir des clusters de 230 nm de diamètre composés de nanoparticules d'environ 5 nm stabilisés *in situ* par des citrates. Ces synthèses sont extrêmement intéressantes pour des applications orientées vers la séparation magnétique puisqu'elles permettent de concentrer les nanoparticules d'oxyde de fer dans des clusters de diamètre atteignant jusqu'à 800 nm. Cependant les conditions de réaction sont difficiles à mettre en œuvre : utilisation d'un autoclave, chauffage à 200 °C pendant au moins 8 h et jusqu'à 72 h pour obtenir des particules ayant un diamètre de 800 nm.⁶

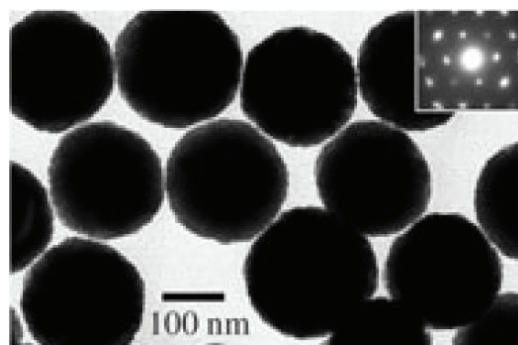


Figure 4 : Cliché MET et cliché de diffraction des électrons rétrodiffusés de clusters de nanoparticules de magnétite, obtenus par un procédé solvothermal décrit par Deng et al.⁶

I.1.3. Synthèse par décomposition thermique

Une température élevée (200°C - 300°C) est également nécessaire pour cette synthèse qui s'effectue en milieu organique, généralement dans des éthers aromatiques ou à longues chaînes carbonées.¹⁴⁻¹⁷ Les précurseurs sont des complexes organométalliques tels que l'acétylacétonate de fer (III) (Fe(acac)₃), la *N*-nitroso phényl hydroxylamine de fer (III) (Fe(Cup)₃)^a ou encore le pentacarbonyle de fer (0) (Fe(CO)₅).

Cette méthode permet d'obtenir des particules sphériques ayant une distribution de taille plus faible que celle des particules obtenues par co-précipitation (Figure 5).

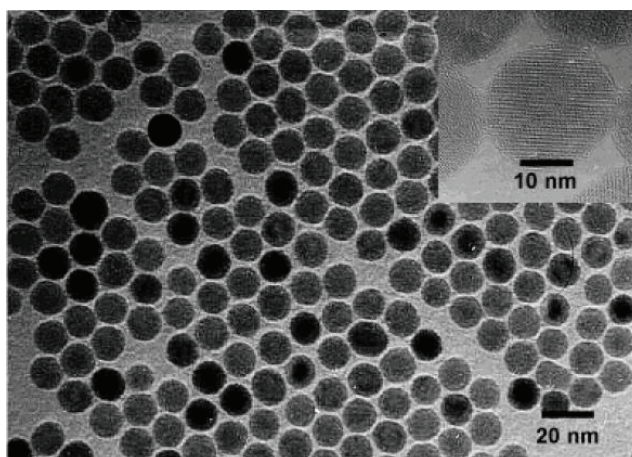


Figure 5 : Cliché MET et MET à haute résolution de nanoparticules de maghémite de 13 nm de diamètre obtenues par décomposition thermique, tel que décrit par Hyeon et al.¹⁶

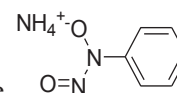
Elle permet de plus la fonctionnalisation directe des particules avec différents polymères. Par exemple il est possible d'obtenir des oxydes de fer stabilisés par de la PVP en introduisant le monomère NVP au début de la réaction de thermodécomposition.¹⁸ Le monomère polymérise en même temps que la formation des nanoparticules, ce qui permet leur stabilisation tout au long de la synthèse.

Toutefois, l'inconvénient majeur de cette technique est qu'elle nécessite de travailler à des températures élevées et en milieu organique, ce qui pose des problèmes de sûreté lors d'une éventuelle industrialisation du procédé.³

I.1.4. Choix de la méthode de synthèse des oxydes de fer

La voie de synthèse retenue dans le cadre de ce travail est la co-précipitation. Les nanoparticules étant destinées à être concentrées et encapsulées dans une étape ultérieure, une distribution de taille étroite n'est donc pas le paramètre capital. Nous avons donc privilégié la facilité de mise en œuvre de la synthèse au contrôle de la morphologie.

^a Cup provient de Cupferron ou sel d'ammonium de *N*-nitroso phényl hydroxylamine



I.2. Caractérisations des oxydes de fer

Les oxydes de fer existent sous de nombreuses phases cristallines différentes, dont les plus courantes sont l'hématite, la magnétite et la maghémite. Nous ne nous intéresserons dans cette étude qu'aux deux dernières, car ce sont les plus étudiées pour leurs propriétés magnétiques. Cette partie décrira les différences principales de structures et de propriétés magnétiques entre ces deux oxydes.

I.2.1. Structures cristallines

Les oxydes de fer de type magnétite (Fe_3O_4) ou maghémite ($\gamma\text{-Fe}_2\text{O}_3$) possèdent tous deux des structures cristallines de type spinelle.¹⁹ Celle-ci provient du minéral MgAl_2O_4 , dont la structure a été la première à être déterminée par diffraction des rayons X (DRX) et qui se trouve sous la forme AB_2X_4 , avec A et B des cations et X des anions. Dans le cas des oxydes de fer, X correspond aux anions O^{2-} , qui s'organisent selon une structure cubique à faces centrées. Une maille élémentaire contient 32 anions O^{2-} et présente des sites tétraédriques (au nombre de 64) et octaédriques (au nombre de 32), où peuvent s'insérer les cations métalliques (Figure 6). Cependant les cations n'occupent pas tous ces sites, mais seulement $1/8$ des sites tétraédriques et $1/2$ des sites octaédriques.

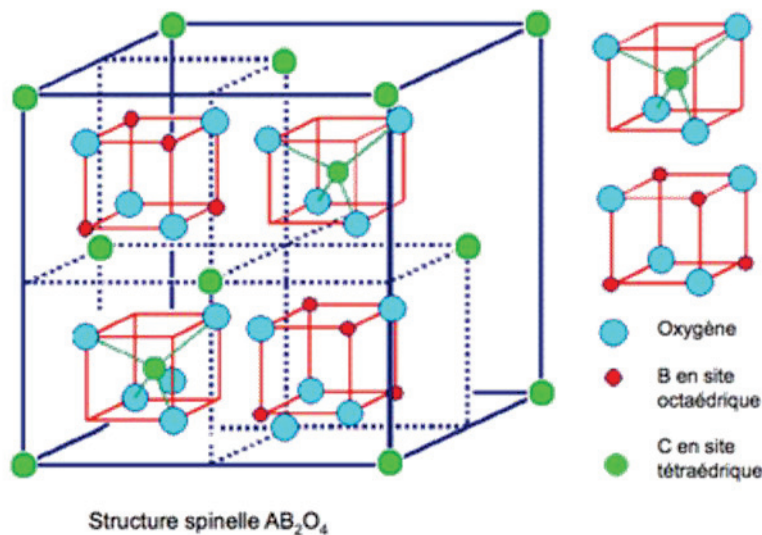


Figure 6 : Schéma d'une partie d'une maille élémentaire d'une structure spinelle avec des atomes d'oxygène pour anions.^b

Dans le cas de la magnétite, il y a à la fois des cations de fer (II) (Fe^{2+}) et de fer (III) (Fe^{3+}). Il a été déterminé que les cations Fe^{3+} sont présents dans les sites tétraédriques et octaédriques, tandis que les cations Fe^{2+} sont présents uniquement dans les sites octaédriques. Cette structure peut s'écrire sous la formule $[\text{Fe}^{3+}]_{\text{Tetra}} [\text{Fe}^{2+} \text{Fe}^{3+}]_{\text{Octo}} \text{O}_4$ (Figure 7) et est appelée structure spinelle inverse (par opposition à ce qui a été observé pour le minéral MgAl_2O_4).

^b Issue du site : http://www.tf.uni-kiel.de/matwis/amat/def_en/kap_2/basics/b2_1_6.html, consulté en juin 2013

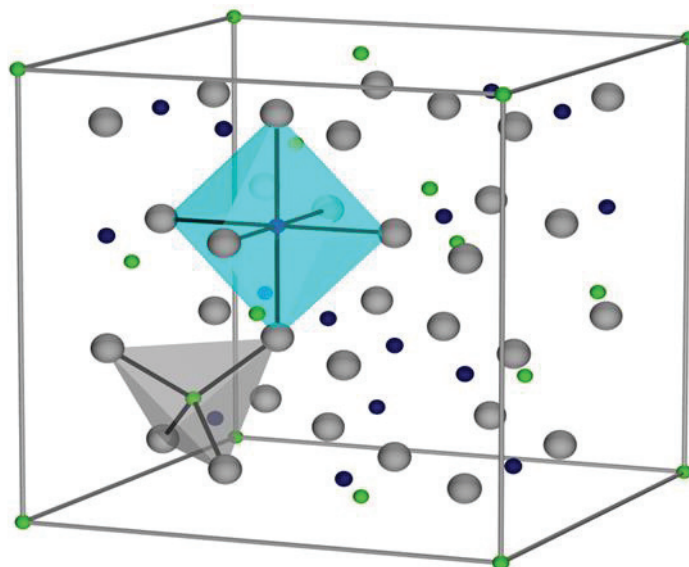


Figure 7 : Schéma d'une maille élémentaire de magnétite avec en gris les anions O^{2-} , en bleu les cations dans les sites octaédriques et en vert les cations Fe^{3+} dans les sites octaédriques.^c

Contrairement à la magnétite, tous les atomes de fer présents dans la maghémite sont sous leur degré d'oxydation maximal, i.e. sous la forme de cations Fe^{3+} . Les sites précédemment occupés par des Fe^{2+} sont alors occupés soit par des cations Fe^{3+} , soit par une lacune cationique. La formule de la maghémite est alors : $[Fe^{3+}]_{Tetra} [Fe^{3+}_{5/3} \diamond_{1/3}]_{Octo}$ où \diamond représente la lacune cationique. Il s'agit dans ce cas d'une structure de type spinelle inverse lacunaire.

La différence principale entre les deux types d'oxyde de fer est que dans le cas de la maghémite, tous les atomes de fer sont au degré d'oxydation 3, tandis que dans la magnétite il y a à la fois des atomes de fer de degrés d'oxydation +2 et +3. Ceci rend la magnétite sensible à l'oxydation contrairement à la maghémite.¹

Cependant les structures entre ces deux types de spinelles étant proches, leur différenciation par diffraction des rayons X n'est pas évidente.¹⁵ Elle a toutefois une influence non négligeable sur les propriétés magnétiques de ces deux matériaux, qui sont décrites dans la partie suivante (I.2.2).

I.2.2. Ferrimagnétisme et (super)paramagnétisme

Les oxydes de fer massifs de type magnétite (Fe_3O_4) ou maghémite ($\gamma-Fe_2O_3$) sont connus pour leurs propriétés ferrimagnétiques à température ambiante et paramagnétiques au-delà d'une certaine température, appelée la température de Néel (Figure 8). Les objets ferrimagnétiques possèdent une organisation au niveau atomique à température ambiante, qui se traduit par une magnétisation en l'absence d'un champ magnétique. Lorsque le matériau est chauffé, au-delà d'une certaine température ($T_{Néel}$), cette organisation disparaît et le matériau ne présente alors plus de magnétisation.

^c Issu du site <http://fr.wikipedia.org/wiki/Magnétite>, consulté en juin 2013

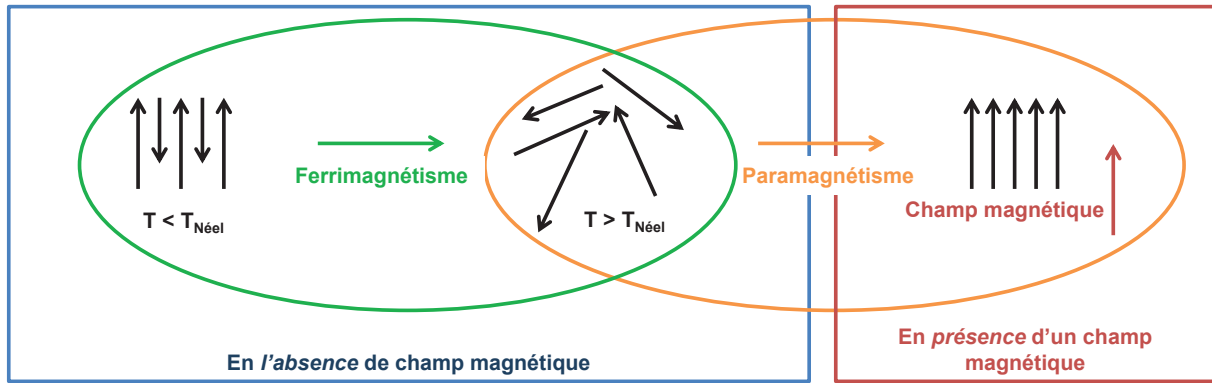


Figure 8 : Schéma illustrant le ferrimagnétisme lorsque l'organisation des atomes passe d'un état ordonné à un état non ordonné au-delà de sa température de Néel, par opposition à l'état de paramagnétisme où on passe à un état non ordonné en dehors d'un champ magnétique à un état ordonné en présence d'un champ magnétique

Les propriétés paramagnétiques sont caractérisées par une aimantation du matériau en présence d'un champ magnétique. En effet lorsqu'on soumet un matériau paramagnétique à un champ magnétique croissant, la magnétisation du matériau augmente jusqu'à atteindre une valeur limite M_S , la magnétisation à saturation. Lorsque le champ magnétique diminue, la magnétisation du matériau diminue également. Cependant, lorsque le champ magnétique redevient nul, il peut y avoir une magnétisation résiduelle (M_R). Cette magnétisation peut être annulée en imposant un champ magnétique coercitif H_C opposé au premier champ magnétique (Figure 9).²⁰

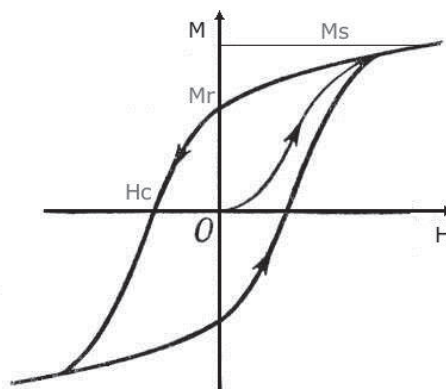


Figure 9 : Cycle d'hystérésis magnétique

Ce cycle d'hystérésis est dû au fait que les matériaux massifs sont composés de différents domaines magnétiques, appelés domaines de Weiss. Lorsque le champ redevient nul, tous les domaines ne reviennent pas immédiatement à leur état d'origine, d'où la magnétisation résiduelle.

Si le matériau est suffisamment petit pour être considéré comme un monodomaine, cette hystérèse ne s'observe pas. Ce phénomène s'appelle alors superparamagnétisme. C'est le cas des nanoparticules d'oxyde de fer de type maghémite ou magnétite qui présentent des diamètres inférieurs à 20 nm.

Cependant cette réduction de taille n'a pas qu'un impact positif sur les propriétés magnétiques des nanoparticules. En effet, il a été observé que la magnétisation à saturation des oxydes de fer massifs est plus importante que celles des nanoparticules (Tableau 1).²¹ Par exemple la magnétisation à

saturation de la magnétite à l'état massif est de 92 emu g⁻¹ tandis que celle des nanoparticules est entre 56 et 85 emu g⁻¹.

Tableau 1 : Exemples de valeurs de magnétisation à saturation en fonction du type d'oxyde de fer

Matériau	Magnétisation à saturation (emu g ⁻¹) (diamètre)	références
Magnétite (massif)	92	9, 11, 22
Magnétite (nanoparticules)	84,5 ^a	17
	60,5 (8-10 nm) ^b	23
	56,5 (7,5 nm) ^c	9
	81,9 (cluster 200 nm) ^c	6
	83 (16 nm) ^d	17
Maghémite (massif)	76	24
Maghémite (nanoparticules)	74 ^a	6, 17
	72 (cluster 200nm) ^c	6
	70 (16 nm) ^d	17

^a nanoparticules commerciales ; ^b par co-précipitation ; ^c par voie solvothermale ; ^d par thermodécomposition

Les valeurs de magnétisation à saturation données dans la littérature pour des matériaux massifs sont constantes d'une référence à l'autre, contrairement à celles des nanoparticules. Bien que les raisons pour lesquelles ces valeurs varient fortement n'ont pas clairement été identifiées, les effets de surface, bien plus importants pour des nanoparticules que pour des matériaux massifs, est la raison la plus fréquemment évoquée.¹

Un dernier point important est la différence de magnétisation entre la magnétite et la maghémite. La magnétite à l'état massif possède une magnétisation à saturation de 92 emu g⁻¹ contre 76 emu g⁻¹ pour la maghémite. Cette importante différence explique l'utilisation de la magnétite dans la plupart des applications de séparation magnétique, puisque la vitesse de séparation dépend directement de la magnétisation du matériau.

I.2.3. Choix du type d'oxyde de fer

De par sa composition chimique, la maghémite est plus stable vis-à-vis de l'oxydation que la magnétite. L'utilisation de maghémite permet de s'affranchir de la variation des propriétés magnétiques dues à un vieillissement des ferrofluides^d. Pour cette raison, l'oxyde de fer que nous allons encapsuler dans des particules de polymère est la maghémite.

Toutefois, celle-ci possède une magnétisation à saturation plus faible que la magnétite. Pour augmenter la vitesse de séparation des particules de latex magnétique, à long terme l'utilisation de magnétite est envisagée.

^d Il s'agit d'oxydes de fer stabilisé dans un solvant organique ou aqueux (cf. Chapitre 1 partie I.2.1)

En ce qui concerne la stabilisation des nanoparticules de maghémite, le choix s'est porté sur un ferrofluide cationique, stabilisé par des contre-ions nitrate. Ce choix a été guidé par l'application finale des particules de latex. En effet, comme nous l'avons vu dans le chapitre 1, la plupart des microorganismes possèdent des charges négatives à leur surface. Pour les capter, nous avons choisi d'utiliser des interactions électrostatiques, i.e. de synthétiser des particules de latex portant des charges positives. Afin d'éviter toute déstabilisation du système au cours de la synthèse des particules de latex magnétiques, toutes les étapes seront donc effectuées avec des réactifs neutres ou cationiques.

I.3. Modification de surface des oxydes de fer

Le procédé de co-précipitation conduit à des oxydes de fer hydrophiles. Une modification de surface de ceux-ci est donc nécessaire pour pouvoir les encapsuler dans une matrice de polymère hydrophobe.

Comme nous l'avons déjà évoqué au chapitre 1 (partie III.1), il existe différentes possibilités de modification de surface pour rendre une surface hydrophobe : utilisation d'un acide gras qui se fixe via sa fonction carboxylate,²⁵ ou l'accroche d'une molécule hydrophobe par une fonction phosphonate.²⁶ Ces modifications de surface ont l'avantage d'être rapides car elles font intervenir de simples interactions de complexation.

Une alternative intéressante est l'utilisation de molécules présentant une fonction polymérisable. Ainsi l'oxyde de fer obtenu peut être lié de manière covalente à la matrice de polymère, via la copolymérisation du monomère et des fonctions présentes à sa surface. L'application visée nécessitant l'absence de tout relargage d'oxydes de fer, cette partie se concentrera sur l'utilisation de ce type de modification de surface. L'une des solutions envisagées par Chen et al.¹³ est d'utiliser un oxyde de fer stabilisé par des citrates, puis d'en modifier la surface en faisant réagir une allylamine. Dans cet exemple, les fonctions carboxylate des citrates sont utilisées à la fois pour complexer les oxydes de fer et pour faire réagir l'allylamine. L'inconvénient majeur de cette technique est que l'allylamine est hautement toxique.

Une autre solution, qui apparaît plus fréquemment dans la littérature, est l'utilisation d'un organosilane avec une fonction polymérisable. Dans la grande majorité des cas, le 3-méthacryloxypropyle triméthoxysilane ou MPS est utilisé (Figure 10). Quelques rares études décrivent l'utilisation du vinyle triméthoxysilane.

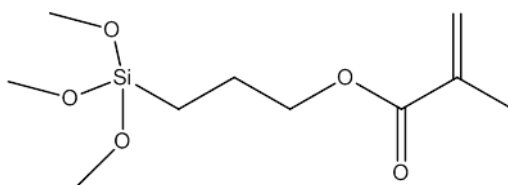


Figure 10 : Formule chimique du 3-méthacryloxypropyle triméthoxysilane ou MPS

La modification de surface par cet organosilane a été très étudiée dans le cas de la silice.^{27, 28} De ce fait, de nombreuses études ont recours à une encapsulation des nanoparticules d'oxyde de fer par de la silice, avant d'en fonctionnaliser leur surface avec un organosilane (Tableau 2). Une autre raison pour laquelle cette couche de silice est souvent utilisée en support d'une modification de surface ultérieure est qu'elle permet d'obtenir une densité de fonctions plus importante. En effet Campelj et al.²⁹ ont montré dans leur étude que la densité de greffage d'aminopropyl triéthoxysilane (APTES) obtenue avec et sans couche de silice est respectivement de 3,8 $\mu\text{mol m}^{-2}$ et 1,8 $\mu\text{mol m}^{-2}$. Il est intéressant de noter que ces études parlent de densité de « greffage » sans préciser s'il s'agit d'un greffage covalent ou d'une absorption de l'organosilane sur la surface de l'oxyde de fer. Dans la suite de ce manuscrit, nous utiliserons également le terme de « greffage » au sens large pour qualifier ces modifications de surface.

Ces deux types de modifications de surface (silice et silane) sont obtenus par des réactions de la chimie sol-gel. Cette partie décrira dans un premier temps les réactions du procédé sol-gel, puis elle détaillera le cas de la formation d'une couche de silice, ainsi que la modification de surface directe par un organosilane.

Tableau 2 : Exemples de modifications de surface de nanoparticules d'oxyde de fer par voie sol-gel

Types de modifications de surface de nanoparticules d'oxyde de fer par voie sol-gel	références
Encapsulation par de la silice	30-38
Encapsulation par de la silice, puis modification par un organosilane (autre que MPS*)	29, 37, 39-45
Encapsulation par de la silice, puis modification par du MPS	8, 46-52
Modification par un organosilane autre que MPS	36, 53-70
Modification par du MPS	54, 71-80

*Les organosilanes autres que le MPS peuvent par exemple porter une fonction amine, époxy ou même un polymère.

I.3.1. Procédé sol-gel

Le procédé sol-gel utilise des précurseurs de type $\text{XSiR}_n(\text{OR}')_{3-n}$ avec :

- X une chaîne carbonée fonctionnelle (aminopropyle, méthoxypropyle, polymère) ou un groupement alcoxy s'il s'agit d'un précurseur non fonctionnalisé
- R un groupement alkyle possédant usuellement entre 1 et 4 atomes de carbone ou un groupement alcoxy
- R' un groupement alkyle, similaire ou non à R, possédant usuellement entre 1 à 4 atomes de carbone

Les réactions entrant en jeu dans le procédé sol-gel sont des réactions d'hydrolyse et de condensation (Figure 11). Ces réactions ont généralement lieu dans des milieux hydro-alcooliques car l'eau est nécessaire à l'hydrolyse et l'alcool permet de solubiliser la plupart des précurseurs. Les réactions sont catalysées soit par l'utilisation d'un acide, soit par l'utilisation d'une base. La catalyse basique favorise les chaînes courtes, hautement réticulées et repliées sur elles-mêmes. C'est pour cette raison qu'elle est souvent utilisée dans le cas de greffages sur des particules.⁸¹ La catalyse acide favorise la

formation de chaînes longues, qui forment par la suite un réseau tridimensionnel et qui conduit dans le temps à la formation d'un gel. La catalyse acide est usuellement utilisée pour former des matériaux ou revêtements massifs.

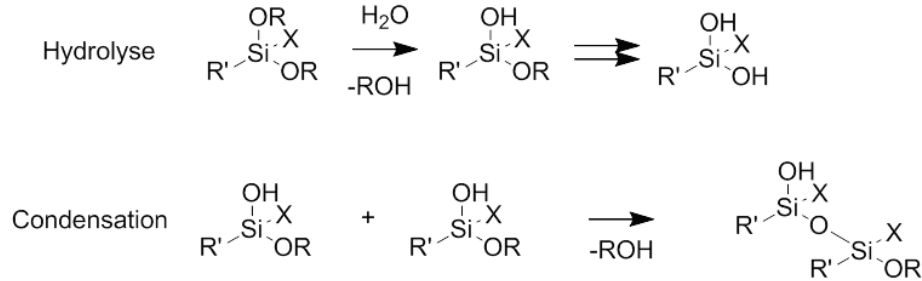


Figure 11 : Réactions d'hydrolyse et de condensation de silanes selon le procédé sol-gel

1.3.2. Encapsulation par une couche de silice

Bien que l'utilisation d'une couche de silice soit intéressante pour obtenir une meilleure densité de greffage de silanes, elle a l'inconvénient de réduire les propriétés magnétiques des nanoparticules d'oxyde de fer. Par exemple, lorsque des particules d'oxyde de fer de 220 nm de diamètre sont encapsulées avec une couche de silice de 50 nm, la magnétisation à saturation diminue de 75,8 emu g⁻¹ à 62,1 emu g⁻¹.⁸ Un autre exemple est celui de Hui et al.³¹, qui dans leur étude dépose 12,5 nm de silice sur des particules de magnétite de 20 nm de diamètre. Les magnétisations à saturation passent respectivement de 57,5 emu g⁻¹ à 44 emu g⁻¹.

Il existe deux possibilités pour limiter cette perte de propriétés magnétiques. La première est de former une couche très fine de silice, de l'ordre de quelques nanomètres. La deuxième solution consiste à incorporer un grand nombre de particules d'oxyde de fer dans chaque particule de silice.

Dans le premier cas, Pinho et al.³³ ont établi la relation entre le volume de précurseur de silice V_{TEOS} (en μL) à introduire en fonction de l'épaisseur de silice, e_{shell} (en nm), désirée (équation 2-1).

$$V_{\text{TEOS}} = N_{\text{part}} \left[\frac{\rho_{\text{SiO}_2} \cdot M_{\text{TEOS}}}{M_{\text{SiO}_2} \cdot \rho_{\text{TEOS}}} \right] \cdot \left[\frac{4 \cdot \pi}{3} \cdot ((r + e_{\text{shell}})^3 - r^3) \right] \quad (\text{éq. 2-1})$$

N_{part} correspond au nombre de particules d'oxydes de fer dans le milieu, ρ_{SiO₂} et ρ_{TEOS} correspondent respectivement à la densité (en g mL⁻¹) de la silice et du précurseur TEOS. M_{TEOS} et M_{SiO₂} correspondent respectivement aux masses molaires (en g mol⁻¹) du précurseur TEOS et de la silice. Enfin r correspond au rayon (en nm) des nanoparticules d'oxyde de fer. Les résultats montrent qu'il est difficile d'obtenir de faibles épaisseurs de silice. En effet, lorsqu'ils tentent d'obtenir une épaisseur de 1 nm, ils obtiennent en réalité une épaisseur de 2 ± 1 nm et pour une épaisseur visée de 4 nm, ils obtiennent une épaisseur de 8 ± 2 nm. Cela est dû au fait qu'ils n'arrivent pas tout à fait à faire de la monoencapsulation, mais plutôt de l'encapsulation de petits clusters d'oxydes de fer.

Pour la deuxième solution, il est également difficile de contrôler l'encapsulation de nombreux oxydes de fer dans des particules ayant quelques centaines de nanomètre de diamètre. Mohammad-Beigi et al.⁴⁰ ont synthétisé des particules de silice en présence d'oxyde de fer non modifié par le procédé Stöber et ont obtenu des particules de silice sans oxyde de fer et d'autres contenant plusieurs oxydes de fer dans des particules d'environ 270 nm de diamètre. La quantité d'oxyde de fer introduite dans les particules est globalement très faible (Figure 12) et la magnétisation à saturation des particules obtenues n'est alors que de 3 à 6 emu g⁻¹.

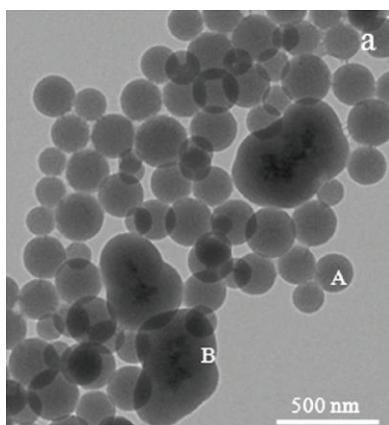


Figure 12 : Particules de silice (A) et de silice contenant des nanoparticules d'oxyde de fer (B), obtenus par le procédé Stöber tel que décrit par Mohammad-Beigi et al.⁴⁰

1.3.3. Greffage direct d'organosilanes

Le greffage direct d'organosilanes permet de limiter les étapes de modification de surface tout en ayant la fonctionnalité désirée avec pour conséquence un faible impact sur la saturation à magnétisation. En effet, la quantité de MPS déposée à la surface de différents oxydes métalliques⁸² est généralement comprise entre 2,8 et 7,5 μmol de silane par m^2 d'oxyde et elle est de 4,1 $\mu\text{mol m}^{-2}$ pour la maghémite.⁸⁰ En supposant qu'une molécule de MPS occupe 0,60 nm^2 , la densité maximale de silane pour obtenir une monocouche est alors de 2,8 $\mu\text{mol m}^{-2}$.⁸³ Les 4,1 $\mu\text{mol m}^{-2}$ correspondent alors en moyenne entre 1 et 2 couches de MPS à la surface de l'oxyde de fer et n'influencent donc que très peu les propriétés magnétiques de ces derniers.

La littérature comporte de nombreux protocoles de greffage de silanes, mais il s'agit dans la majorité des cas de greffages hydro-alcooliques catalysés par un milieu basique. En effet ces conditions sont similaires au protocole de Stöber et al.⁸⁴, qui permet d'obtenir des particules de silice de taille et de dispersion de taille contrôlées à partir de précurseurs sol-gel de silice. Ces procédés s'appliquent parfaitement aux ferrofluides anioniques, puisque le pH de la réaction se situe vers 8-9, c'est-à-dire dans la gamme de stabilité de ces ferrofluides. Cependant ces procédés ne s'appliquent pas aux ferrofluides cationiques car ceux-ci sont stables en milieu acide, généralement à un pH inférieur à 5-6.⁸⁵ Il existe peu de cas de modifications de surface de ferrofluides cationiques. On décrira notamment le cas des greffages en milieu organique, en milieu hydro-alcoolique avec catalyse acide, ou encore en milieu aqueux. Le ferrofluide utilisé lors de cette thèse étant cationique, seuls les protocoles de

modifications de surface applicables à ce type de ferrofluide seront détaillées ci-dessous. Il ne s'agit pas d'une liste exhaustive de tous les protocoles existant mais uniquement des exemples les plus intéressants.

- *Greffage en milieu organique*

Dans le cas général, ce type de procédé est peu décrit, car les réactions sol-gel s'effectuent usuellement en présence d'eau pour permettre l'hydrolyse des précurseurs. Il est cependant possible de s'affranchir de la présence d'eau en élevant la température du milieu afin de forcer la condensation.⁸⁶ Par exemple, dans l'étude de Zhang et al.⁶⁵ le greffage s'effectue sur des oxydes de fer cationiques non stabilisés (les contre-ions sont des ions chlorures) dans un mélange méthanol/toluène à 50/50 en volume. La teneur en oxyde de fer est de 10 g L⁻¹. Après ajout du silane, le mélange est chauffé à 80 °C et la réaction se déroule pendant 10 heures. D'autres exemples ont également été reportés dans le DMF ou le toluène.^{61,63} Dans toutes ces études, il ne s'agit pas d'organosilanes présentant une fonction polymérisable, mais présentant une fonction amine, car celle-ci est moins sensible aux températures élevées.

- *Greffage en milieu hydro-alcoolique avec catalyse acide*

Seuls deux cas ont été reportés dans la littérature : Mornet et al.⁷⁰ et Flesch et al.^{68,80}. Il s'agit dans les deux cas de greffages sur des ferrofluides cationiques stabilisés par des contre-ions nitrate, s'effectuant dans un mélange 50/50 en masse de méthanol et d'eau, à température ambiante et pendant 12 à 18 heures. Dans le cas de Mornet et al., la teneur en oxyde de fer est de 13 g L⁻¹ et le pH est fixé à 2,5 avant l'ajout de méthanol. Dans le cas de Flesch, la teneur en oxyde de fer est de 28 g L⁻¹ et le pH est fixé à 4,5. Dans ce dernier cas, le pH de 4,5 limite l'homocondensation des silanes, ce qui permet de travailler avec des teneurs en oxyde de fer plus élevées.⁸²

- *Greffage en milieu aqueux*

Il n'en existe que quelques exemples dans la littérature. L'intérêt principal de ces greffages est de pouvoir s'affranchir de l'utilisation de solvants. Néanmoins, ces exemples sont rares car d'une part les silanes sont peu solubles dans l'eau, et d'autre part il devient alors difficile de contrôler les réactions d'hydrolyse. Un exemple est le brevet de Delaite et al.,⁶⁸ qui décrit la modification de surface d'oxydes de fer par des glycido-silanes. D'autres auteurs ont décrit la modification de surface d'oxydes de fer par du MPS en milieu aqueux comme étape intermédiaire parce qu'ils poursuivent directement par une étape de polymérisation. Il n'y a donc aucune caractérisation de ces modifications de surface. Il s'agit notamment de Chen et al.⁷¹ et Gu et al.^{73,74}, où le MPS est introduit au contact des oxydes de fer avant d'effectuer une polymérisation en milieu dispersé, visant à encapsuler l'oxyde de fer. L'affinité entre l'oxyde de fer et le MPS dans l'eau est importante comme semblent le montrer les travaux de Sacanna et al.⁷⁸ dans lesquels des particules d'oxydes de fer sont utilisées pour stabiliser des gouttelettes de MPS, conduisant à la formation d'émulsions de Pickering thermodynamiquement stables.

I.3.4. Choix du type de modification de surface

L'utilisation d'une couche de silice en tant que support pour une modification ultérieure par le MPS n'a pas été envisagée dans notre étude. En effet, cette approche implique une étape supplémentaire et la couche de silice peut fortement diminuer les propriétés magnétiques si son épaisseur n'est pas bien contrôlée. La modification de surface des oxydes de fer se fera donc par greffage direct de MPS. Le ferrofluide utilisé dans cette thèse étant cationique, cela restreint le choix des protocoles de greffage aux protocoles en milieu acide. Pour des raisons environnementales, les greffages en milieu organique à haute température ont été écartés. Les modifications de surface s'effectueront donc dans un milieu hydro-alcoolique ou aqueux en catalyse acide.

II. Synthèse et caractérisations des nanoparticules de maghémite

II.1. Protocole de synthèse du ferrofluide

Le protocole de synthèse du ferrofluide cationique que nous avons développé est dérivé du procédé de Massart avec des étapes d'oxydation partielle et poussée de la magnétite en maghémite. L'étape finale est l'étape de stabilisation, également appelée peptisation, par de l'acide nitrique. Le procédé de synthèse est résumé dans la Figure 13.

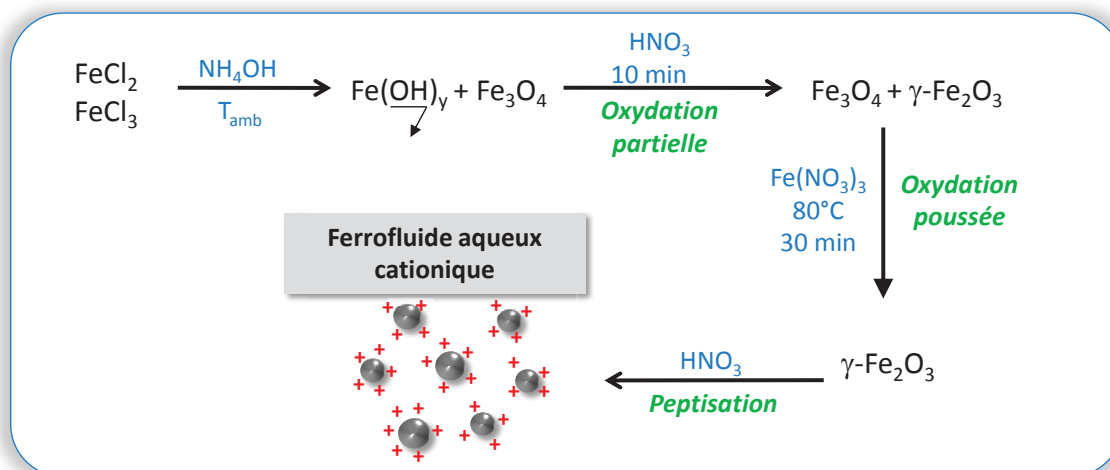


Figure 13 : Schéma décrivant les différentes étapes de synthèse mises en œuvre dans cette étude pour la préparation du ferrofluide cationique à base de maghémite

L'étape de co-précipitation s'effectue sous forte agitation pour favoriser la nucléation de la magnétite plutôt que la croissance des cristallites. Pour ces mêmes raisons, l'ajout de la base pour élever le pH et permettre la précipitation doit être rapide. Pour cela la réaction s'effectue dans un réacteur de 250 mL et l'ajout de base se fait le plus rapidement possible. Des essais préliminaires avaient été effectués avec un ajout de base « rapide » à l'aide d'une seringue et des bâtonnets ont pu être observés en microscopie électronique à transmission (Figure 14). Nous avons donc opté pour l'utilisation d'un entonnoir, qui permet une addition plus rapide de la base.

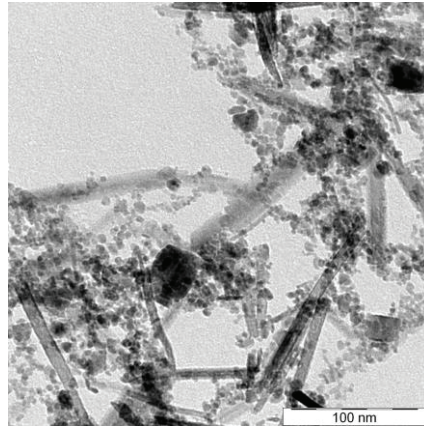


Figure 14 : Cliché MET de nanoparticules et de bâtonnets de maghémite obtenus par co-précipitation et ajout « rapide » de base via l'utilisation d'une seringue

Les synthèses ont été réalisées dans un réacteur de 250 mL et plusieurs synthèses ont été regroupées afin de former des lots uniques, chaque lot contenant l'équivalent de 4 à 7 synthèses. Cela permet d'obtenir une meilleure reproductibilité d'un lot à l'autre. Avant la formation d'un lot, chaque synthèse est caractérisée par diffusion dynamique de la lumière (DDL), par MET et par gravimétrie, pour vérifier sa conformité par rapport aux autres synthèses en terme de taille, de morphologie et de taux de solide (TS). Le taux de solide et la composition de chacun des lots préparés dans le cadre de cette thèse sont regroupés dans le Tableau 3. Les caractéristiques morphologiques (tailles et distribution de taille) seront détaillées dans la partie II.4.

Tableau 3 : Description des synthèses entrant dans la formation d'un lot de ferrofluide cationique et taux de solide des différents lots synthétisés

Lot de ferrofluide	Expériences	Taux de solide ^a (en %)
FF_L1	CC6, 8, 10, 12	9,8
FF_L2	CC57, 58, 60, 62, 63	10,6
FF_L3	CC105, 106, 107, 108, 109, 110	10,3
FF_L4	CC150, 151, 152, 153, 154, 155	9,1
FF_L5	CC192, 193, 194, 195, 196, 197, 198	10,1

^aLe taux de solide est déterminé par l'équation 2-2.

$$TS (\%) = \frac{m_{\text{après séchage}}}{m_{\text{suspension}}} \cdot 100 \quad (\text{éq. 2-2})$$

Le taux de solide obtenu pour les différents lots est toujours d'environ 10 % avec un écart type de 0,58 %. Il s'agit d'un taux de solide élevé pour une suspension de nanoparticules, puisqu'en admettant que des nanoparticules de 8 nm de diamètre ont une surface spécifique de $150 \text{ m}^2 \text{ g}^{-1}$, alors la surface développée par les nanoparticules contenues dans 1 L de solution à 10 % en masse est de $15\,000 \text{ m}^2$.

Pour déterminer le rendement de la synthèse, il faut prendre en compte deux réactions chimiques : la formation de la magnétite et son oxydation en maghémite (Figure 15).

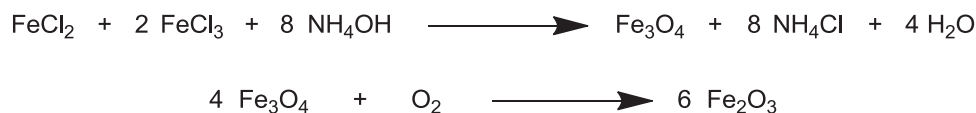


Figure 15 : Equations chimiques mises en jeu lors de la synthèse des nanoparticules de magnétite et de leur oxydation en maghémite

Dans le procédé utilisé dans cette thèse, le rapport $\text{FeCl}_2/\text{FeCl}_3$ n'est pas de 2 comme dans les équations chimiques de la Figure 15, mais de 1,3. Le FeCl_3 est donc le réactif limitant pour la première réaction. En supposant que les réactions chimiques soient totales, la quantité théorique de maghémite synthétisée est obtenue par l'équation ci-dessous (éq. 2-3) et permet par la suite de calculer le rendement de chaque lot (éq. 2-4).

$$n_{\text{Fe}_2\text{O}_3} = \frac{4}{3} \cdot n_{\text{FeCl}_3} \quad (\text{éq. 2-3})$$

$$\text{rendement (\%)} = \frac{\text{nombre de moles de Fe}_2\text{O}_3 \text{ obtenu expérimentalement}}{\text{nombre de moles de Fe}_2\text{O}_3 \text{ théorique}} \cdot 100 \quad (\text{éq. 2-4})$$

Les résultats des rendements sont regroupés dans le Tableau 4.

Tableau 4 : Rendement des synthèses de nanoparticules de maghémite en fonction des lots

Lot de ferrofluide	Rendement (%)
FF_L1	67,7
FF_L2	73,2
FF_L3	58,6
FF_L4	53,3
FF_L5	53,5

Les rendements ne sont pas reproductibles, puisqu'ils varient de 53 % à 73 %. Cela peut provenir des étapes d'oxydation partielle et de peptisation, qui utilisent de l'acide nitrique. En effet, l'oxyde de fer se dégrade en milieu très acide ($\text{pH} < 1,5$) pour redonner des ions Fe^{2+} et Fe^{3+} . Il est alors possible qu'une partie des oxydes de fer synthétisés soit détruite lors de ces étapes.

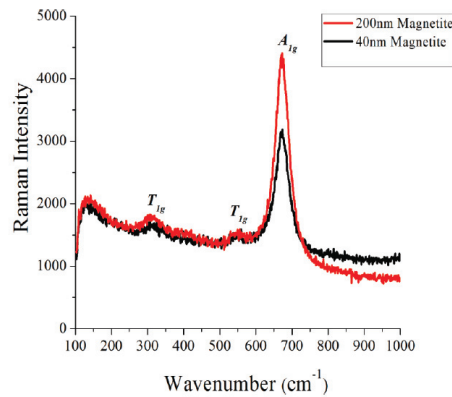
II.2. Nature des nanoparticules d'oxyde de fer par spectroscopie RAMAN

La spectroscopie Raman est basée sur le phénomène optique de diffusion Raman, qui repose sur le fait qu'un milieu peut modifier légèrement la fréquence de la lumière qui le traverse. Ces modifications de

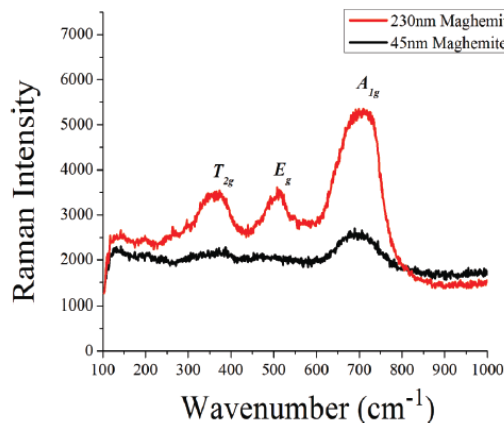
fréquences dépendent de la composition moléculaire et de la structure du matériau. Cette technique permet donc de différencier les différents types d'oxyde de fer.

L'étude de Jubb et al.⁸⁷ montre que cette technique est adaptée pour déterminer la nature des oxydes de fer (Figure 16) à condition que la puissance du laser ne soit pas trop importante. En effet, sous l'action du laser, l'échantillon s'échauffe et la nature des oxydes de fer peut évoluer.

Magnétite (Fe_3O_4)



Maghémite ($\gamma\text{-Fe}_2\text{O}_3$)



Hématite ($\alpha\text{-Fe}_2\text{O}_3$)

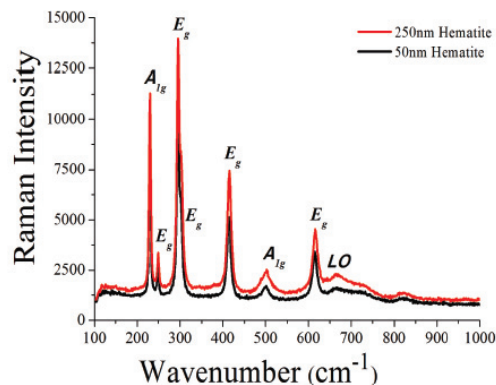


Figure 16 : Spectres RAMAN des différents oxydes de fer en fonction de la taille des particules, selon Jubb et al.⁸⁷

Le spectre RAMAN de la magnétite contient principalement un pic fin et bien défini quel vers 700 cm^{-1} . Celui de l'hématite possède également des pics fins à $230, 300, 415$ et 615 cm^{-1} . A l'opposé, le spectre RAMAN de la maghémite est composé de trois pics larges à $365, 510$ et 700 cm^{-1} .

Les analyses ont été effectuées par le laboratoire Welience, avec comme source lumineuse un laser He-Ne émettant un faisceau de longueur d'onde $\lambda = 632,8$ nm. Le laser est utilisé à 5 % de sa puissance maximale (soit 0,85 mW) pour éviter un échauffement trop important de l'échantillon qui conduirait à la transformation de maghémite (type d'oxyde de fer supposé) en hématite.

Les spectres obtenus pour les échantillons FF_L4 et FF_L5 sont composés de trois larges pics à 310, 495 et entre 680 et 720 cm^{-1} (Figure 17), correspondant au spectre RAMAN de la maghémite.

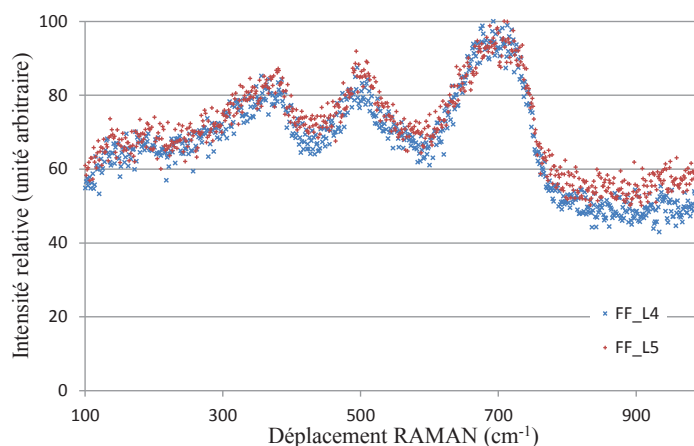


Figure 17 : Spectres RAMAN des deux lots de ferrofluide FF_L4 et FF_L5.

II.3. Caractérisation des cristallites par diffraction des rayons X (DRX)

Bien que l'analyse par DRX ne permette pas de déterminer la structure cristalline des oxydes de fer,¹⁵ elle permet de déterminer la taille des cristallites d'après la relation de Scherrer (éq. 2-5).

$$D_{\text{RX}} \text{ (nm)} = \frac{0,9 \cdot \lambda}{\Delta(2 \cdot \theta) \cdot \cos(\theta_{\text{max}})} \quad (\text{éq. 2-5})$$

où λ désigne la longueur d'onde monochromatique utilisée (1,7902 Å dans notre cas), $\Delta(2 \cdot \theta)$ correspond à la largeur du pic à mi-hauteur (en rad.) et θ_{max} à l'angle de Bragg au sommet de la raie (en rad). Les valeurs obtenues par DRX sont résumées dans le Tableau 5.

Tableau 5 : Récapitulatif des tailles de cristallites obtenues par analyse DRX en fonction du lot de ferrofluide

Lot de ferrofluide	Diamètre des cristallites par DRX (en nm)
FF_L1	5,6
FF_L2	7,3
FF_L3	7,5
FF_L4	8,2
FF_L5	8,0

Le diamètre des cristallites obtenues pour les différents lots est dans la gamme des diamètres usuellement obtenus par le procédé de co-précipitation, qui est de 3 à 15 nm. Cependant la taille des cristallites n'est pas constante d'un lot à l'autre. Globalement, elle augmente lorsque le rendement diminue, ce qui serait en accord avec l'hypothèse d'une destruction partielle des nanoparticules de maghémite lors de l'ajout d'acide nitrique. En effet, les nanoparticules les plus petites sont également les moins stables et sont ainsi les premières à se dissoudre, augmentant ainsi la taille moyenne des nanoparticules.

II.4. Taille et dispersion de taille

II.4.1. Taille en diffusion dynamique de la lumière

Une méthode rapide et facilement accessible pour la détermination du diamètre des particules est la technique de diffusion dynamique de la lumière (DDL). Elle permet d'accéder non pas au diamètre de la particule, mais au diamètre hydrodynamique (D_h) de celle-ci, qui correspond au diamètre de la particule et de sa double couche ionique.

Tableau 6 : Récapitulatif des tailles et dispersions de tailles obtenues par analyse par diffusion dynamique de la lumière des nanoparticules d'oxyde de fer.

Lot de ferrofluide	Analyse DDL	
	D_h^a (en nm)	PDI ^b
FF_L1	171	0,20
FF_L2	62	0,24
FF_L3	40	0,32
FF_L4	29	0,29
FF_L5	26	0,24

^a d_H correspond au diamètre hydrodynamique des particules déterminé par DDL ^bPDI correspond à l'indice de polydispersité ou PolyDispersity Index, calculé par l'appareil de DDL

Le lot FF_L1 n'a pas été utilisé dans la suite de l'étude car le diamètre hydrodynamique est très supérieur à celui des autres lots.

Les diamètres de particules sont supérieurs à ceux attendus (environ 8 nm de diamètre) d'après les analyses de DRX. Cela peut provenir du fait que le diamètre donné par les analyses DDL ne correspond pas au diamètre réel des particules mais au diamètre hydrodynamique. Cependant la différence entre les tailles obtenues par DRX et par DDL étant importante, une autre explication plus probable est qu'il y ait des petits agrégats d'oxyde de fer.

En DDL, la dispersité de taille des particules est indiquée sous le terme PolyDispersity Index (PDI), qui est donné directement par l'appareil. Les PDI des ferrofluides sont élevés puisqu'ils se situent entre 0,20 et 0,32. Toutefois ces valeurs sont acceptables car le calcul effectué par l'appareil est fondé

sur l'hypothèse que les particules analysées sont sphériques, ce qui n'est pas le cas pour les nanoparticules d'oxyde de fer, qui sont organisés en petits clusters.

II.4.2. Observation par microscopie électronique à transmission

L'observation des nanoparticules par microscopie électronique à transmission permet de mieux visualiser leur morphologie (Figure 18). Les particules obtenues ne sont pas parfaitement sphériques mais possèdent des facettes. Ce type de morphologie est habituel dans le cas de nanoparticules obtenues par co-précipitation. Les particules possèdent des tailles variant de 3 à 15 nm et sont semblables d'un lot à l'autre. Cette dispersité de taille explique également pourquoi les analyses DDL effectuées précédemment indiquaient des PDI élevés.

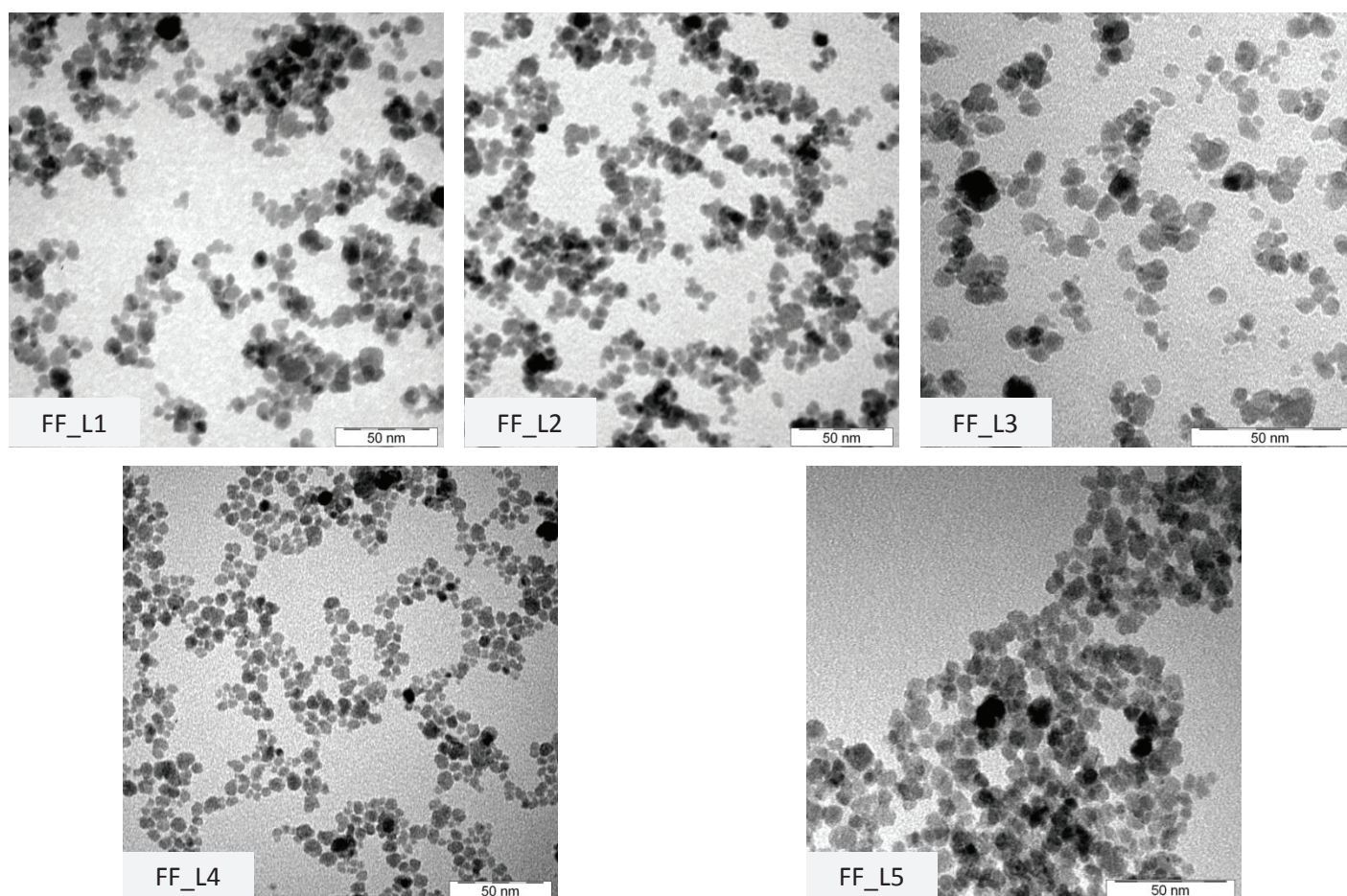


Figure 18 : Clichés MET des nanoparticules de maghémite obtenues pour les différents lots de ferrofluide

II.5. Etude de la stabilité du ferrofluide

II.5.1. Etude de la stabilité du ferrofluide en fonction du pH

Cette étude permet d'établir dans quelles conditions de pH le ferrofluide est utilisable. La stabilité de particules dans un milieu aqueux étant fortement dépendante du potentiel zêta, une étude de la valeur de ce potentiel en fonction du pH permettra de déterminer le domaine de stabilité des nanoparticules.

Pour garder constante la force ionique quel que soit le pH, de l'acide chlorhydrique ou de l'hydroxyde de potassium à 10^{-2} mol L⁻¹ sont ajoutés dans une solution de chlorure de potassium à 10^{-3} mol L⁻¹. Le pH est mesuré avant et après ajout de 5 µL de ferrofluide dans 20 mL de solutions à différents pH compris entre 4,5 et 10,1, car les variations de pH peuvent être importantes. En effet elles peuvent atteindre 2,5 unités de pH. Ceci rend difficilement accessible la gamme de pH entre 7 et 9.

Le potentiel zêta a été déterminé entre pH 4 et 9,5 et les valeurs obtenues sont présentées dans la Figure 19. On constate qu'à pH inférieur à 6, le potentiel zêta est positif, compris entre 60 et 70 mV. Ces valeurs sont dues aux fonctions hydroxyles de surface qui sont protonées ($-\text{OH}_2^+$). En augmentant le pH, il y a une chute brutale du potentiel zêta qui s'annule vers pH 7, ce qui correspond aux fonctions hydroxyles non chargées ($-\text{OH}$). Puis en augmentant encore le pH, le potentiel zêta devient négatif, ce qui correspond aux fonctions hydroxyles déprotonées ($-\text{O}^-$). Le ferrofluide cationique stabilisé par des contre-ions nitrate est donc stable jusqu'à pH 6, puis au-delà de pH 8, avec un point isoélectrique à pH 7.

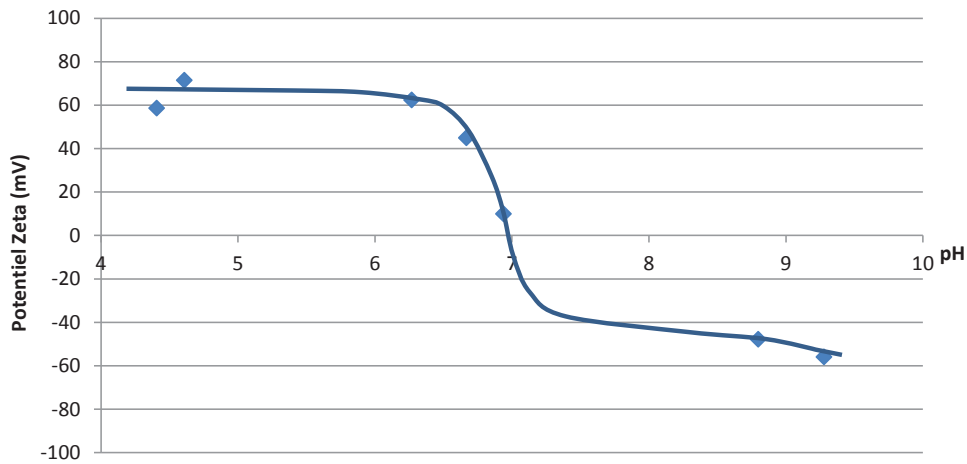


Figure 19 : Evolution du potentiel zêta en fonction du pH du lot FF_L5 de ferrofluide cationique.

II.5.2. Etude de la stabilité dans le temps

La stabilité des nanoparticules de maghémite peut également s'observer par analyse DDL. En effet lorsque les particules se déstabilisent, elles s'agrègent – de manière réversible ou non – et une augmentation de la taille des nanoparticules est observable. Le vieillissement d'un lot de ferrofluide a donc été étudié par DDL (Figure 20).

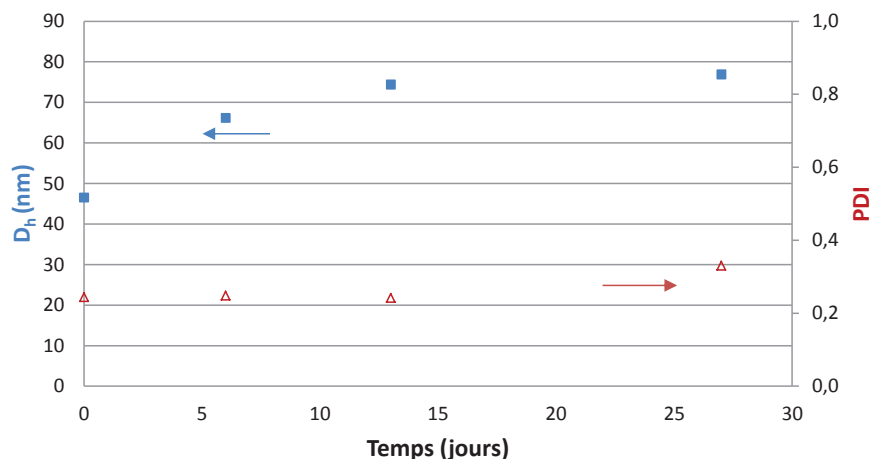


Figure 20 : Evolution du diamètre des nanoparticules d'oxyde de fer du lot FF_L2 de ferrofluide cationique mesuré par DDL

On observe une augmentation du diamètre hydrodynamique des particules dans le temps, ce qui indique que le ferrofluide a tendance à s'agréger. Pour vérifier si cette agrégation est réversible ou non, le ferrofluide a été traité 20 minutes au bain à ultrasons, puis son diamètre hydrodynamique a été de nouveau mesuré. Pour le lot 2 de ferrofluide présenté en Figure 20, le diamètre est à nouveau de 50 nm avec un PDI de 0,29. Il s'agit donc bien d'une agrégation réversible. Toutefois les lots de ferrofluide étant utilisés sur plusieurs mois, une étude de leur stabilité a donc été réalisée sur des temps plus longs (Figure 21). Lors de cette étude, le ferrofluide est systématiquement traité pendant 20 minutes au bain à ultrasons avec les analyses par DDL.

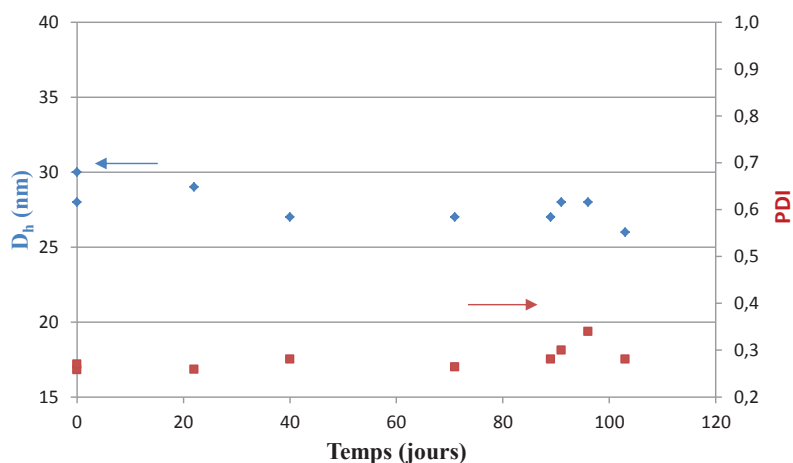


Figure 21 : Evolution du diamètre hydrodynamique et de la dispersion de taille du ferrofluide (lot 4) en fonction du temps. Mesures après un passage de 20 minutes au bain à ultrasons.

La Figure 21 montre qu'un traitement de 20 minutes au bain à ultrasons permet au ferrofluide de garder ses caractéristiques de taille et dispersion de taille initiales. Le ferrofluide reste donc stable dans le temps, grâce à ce traitement. Par la suite, une mesure DDL sera réalisée avant toute utilisation du

ferrofluide pour vérifier son état et un passage au bain à ultrasons sera effectué lorsque la valeur du diamètre déviara de sa valeur initiale.

II.6. Mesures magnétiques

Les mesures magnétiques effectuées à température ambiante permettent de vérifier si les nanoparticules synthétisées sont bien superparamagnétiques (c'est-à-dire sans cycle d'hystérèse). D'après la Figure 22, il s'agit bien de nanoparticules superparamagnétiques car la première aimantation et le cycle d'hystérèse se superposent parfaitement. La magnétisation à saturation observée est de 62 emu g⁻¹.

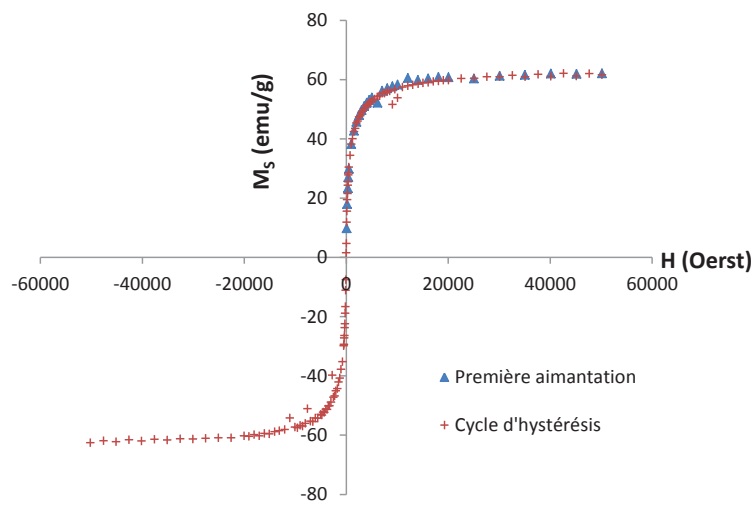


Figure 22 : Courbe d'évolution de la magnétisation en fonction du champ magnétique pour l'échantillon FF_L5. L'analyse est effectuée à 10 °C et comprend une première magnétisation (en bleu), puis un cycle d'hystérésis (en rouge).

II.7. Mesure de la surface spécifique

Pour pouvoir modifier ultérieurement la surface des nanoparticules de maghémite, il faut préalablement déterminer la surface spécifique des nanoparticules. Celle-ci a été mesurée par la méthode Brunauer Emmet Teller (BET). Le gaz utilisé pour mesurer l'absorption/désorption sur des nanoparticules est de l'azote. La connaissance de la surface spécifique permet de confirmer la valeur du rayon moyen r des nanoparticules via la relation suivante⁸⁸ :

$$r \text{ (nm)} = \frac{3}{\rho \cdot S_{\text{spé}}} \cdot 10^3 \quad (\text{éq. 2-6})$$

Avec ρ la densité de l'oxyde de fer exprimé en g.cm⁻³ (4,9 g cm⁻³) et $S_{\text{spé}}$ la surface spécifique des nanoparticules exprimé en m² g⁻¹. Les valeurs de surface spécifique obtenues par analyse BET, ainsi que les valeurs du rayon moyen calculées à partir de l'équation 2-6 sont regroupées dans le Tableau 7.

Tableau 7 : Synthèse des résultats des analyses BET : surface spécifique et rayon des nanoparticules pour les différents lots de ferrofluide synthétisés

Lot	Surface BET (m ² g ⁻¹)	r _{BET} calculé ^a (nm)	r _{DRX} ^b (nm)
FF_L1	160	3,8	2,8
FF_L2	149	4,1	3,7
FF_L3	145	4,2	3,8
FF_L4	164	3,7	4,1
FF_L5	172	3,6	4

^aLe rayon est calculé à partir de l'équation 2-6, ^bLe rayon est déterminé par DRX selon l'équation 2-5

Les nanoparticules obtenues dans les différents lots semblent homogènes en taille avec un rayon moyen compris entre 3,6 et 4,2 nm, soit un diamètre compris entre 7,2 et 8,4 nm. Ceci est en accord avec les clichés TEM et les tailles des cristallites obtenues par DRX.

III. Modification de surface des nanoparticules de maghémite par le MPS

III.1. Protocoles de modification de surface

Deux protocoles de modification de surface utilisant l'organosilane MPS ont été mis au point. Le premier s'effectue dans un milieu classique hydro-alcoolique, tandis que le second s'effectue dans un milieu aqueux. L'intérêt de multiplier les protocoles de modification de surface est de pouvoir utiliser les oxydes de fer modifiés tels quels, sans étapes de lavage, pour effectuer leur encapsulation dans des particules de latex. Ainsi un greffage en milieu hydro-alcoolique permettra d'engager les oxydes de fer modifiés dans des réactions de polymérisation en dispersion, tandis que les oxydes de fer modifiés en milieu aqueux pourront être directement utilisés pour des réactions de polymérisation en émulsion.

Une fois la modification de surface effectuée, les oxydes de fer seront analysés dans le but de déterminer s'il y a effectivement eu une modification de surface. Dans un deuxième temps, la modification de surface sera quantifiée par la détermination de la densité de greffage des silanes.

III.1.1. Protocole de greffage du MPS en milieu hydro-alcoolique

Le protocole de greffage du MPS en milieu hydro-alcoolique que nous avons mis au point dans le cadre de cette thèse est inspiré de l'article de Flesch et al. sur le greffage de nanoparticules de maghémite par le même silane.⁸⁰ Les différentes étapes du greffage sont représentées dans le schéma de la Figure 23. Lors du greffage, la concentration en oxydes de fer est de 16,7 g L⁻¹ et la quantité de MPS introduit est de 40 μmol m⁻².

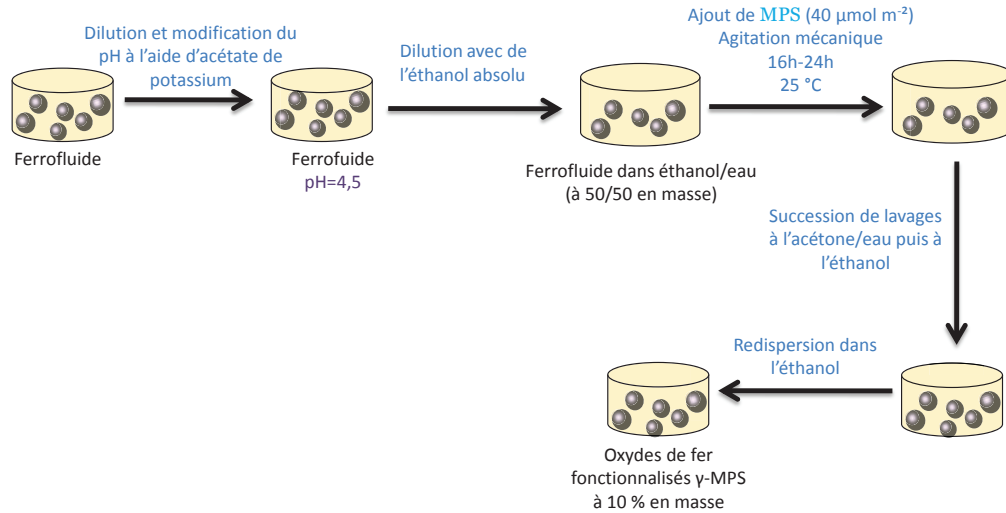


Figure 23 : Schéma du protocole de greffage de MPS en milieu hydro-alcoolique.

Dans le cas du greffage de Flesch et al. le milieu hydro-alcoolique utilisé est un mélange de méthanol et d'eau à 50/50 en masse. Pour des raisons de toxicité du méthanol, ce dernier a été remplacé par de l'éthanol dans notre procédé. Un greffage en milieu méthanol/eau a cependant été effectué pour vérifier si le changement de solvant n'altérerait pas la densité de greffage. A durée et température comparable, la densité de greffage obtenue dans les deux cas était de $3,8 \mu\text{mol m}^{-2}$ d'après l'analyse thermogravimétrique. Les greffages ont donc été effectués par la suite dans un milieu éthanol/eau.

III.1.2. Protocole de greffage en milieu aqueux

Le protocole aqueux a été développé à partir du protocole précédent. La concentration en oxydes de fer a été conservée en remplaçant simplement l'éthanol par de l'eau. Le pH avant l'ajout de silane est également de 4,5, mais la quantité de silane ajoutée est de $10 \mu\text{mol m}^{-2}$. Le MPS étant peu soluble dans l'eau, la limitation de la quantité de silane introduite évite d'obtenir un système bi-phasique. Par ailleurs, il s'agit toujours d'un excès de MPS, puisque la densité de greffage maximale du MPS sur de la maghémite reportée jusqu'ici dans la littérature est de $4,1 \mu\text{mol m}^{-2}$.⁸⁰

III.2. Caractérisations de la modification de surface des nanoparticules de maghémite

Pour vérifier la présence de silane à la surface des oxydes de fer, des analyses infrarouges ont été réalisées, puis des analyses élémentaires et thermogravimétriques ont été effectuées pour quantifier la densité de greffage. Une étude du potentiel zêta en fonction du pH n'a pas pu être effectuée car les particules sont instables dans l'eau après greffage (Figure 24). Nous reviendrons sur ce point au début du Chapitre 3.



Figure 24 : Oxydes de fer modifiés par du MPS dispersé dans de l'eau (à gauche) et dans de l'éthanol (à droite)

III.2.1. Mise en évidence de la présence de silane par spectroscopie infrarouge

La spectroscopie infrarouge permet de détecter certaines liaisons chimiques, telles que les liaisons C=O et C-O, caractéristiques de la présence du MPS. Nous avons comparé dans la Figure 25 les spectres infrarouges du ferrofluide de départ non fonctionnalisé, du MPS et du ferrofluide modifié par le MPS.

Les bandes caractéristiques de la maghémite⁸⁹ sont visibles à 630, 570 et 450 cm^{-1} . Tandis que les bandes caractéristiques du MPS^{90, 91} sont visibles autour de 2840 - 2930 cm^{-1} pour les bandes C-H, à 1700 cm^{-1} pour la bande C=O, à 1635 cm^{-1} pour la bande C=C, à 1296 cm^{-1} pour la bande =CH₂, à 1171 cm^{-1} pour la bande Si-O-C, à 1079 cm^{-1} pour la bande Si-O-Si et à 980 cm^{-1} pour la bande Si-O.

Les bandes caractéristiques du MPS et de l'oxyde de fer sont bien présentes dans le spectre infrarouge de l'oxyde de fer modifié, apportant ainsi la preuve du greffage du MPS sur la maghémite.

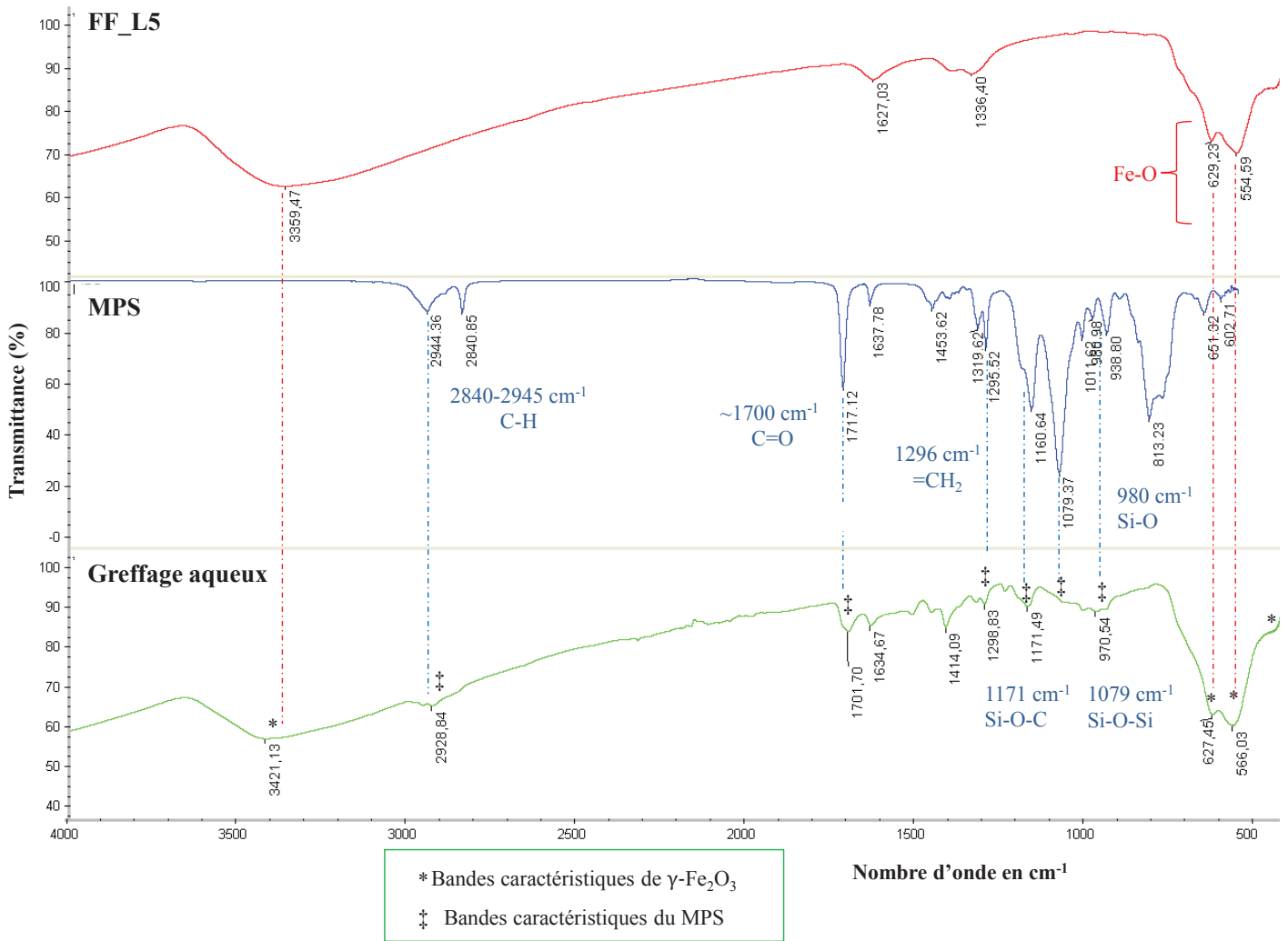


Figure 25 : Spectre infrarouge du ferrofluide de départ non modifié (FF_L5), du MPS et du ferrofluide modifié MPS par le procédé aqueux.

III.2.2. Densité de greffage du silane par analyse élémentaire

La densité de greffage du silane peut être déterminée par analyse élémentaire du carbone. En effet, l'organosilane présente une fonction méthacryloxypropyle, qui peut être quantifiée par analyse élémentaire d'après l'équation de Berendsen⁹² suivante (éq. 2-7) :

$$\text{densité de greffage } (\mu\text{mol.m}^{-2}) = \frac{10^6 \cdot \Delta C}{[1 \ 200 \cdot N_C - \Delta C \cdot (M)] \cdot S_{\text{Spé}}} \quad (\text{éq. 2-7})$$

où ΔC représente la différence entre le taux de carbone après et avant greffage, N_C le nombre d'atomes de carbone dans le silane greffé (c'est-à-dire sans les fonctions méthoxy, soit 7 pour le MPS), M la masse molaire du silane hydrolysé et condensé (en g mol^{-1} , soit 179 g mol^{-1}) et $S_{\text{Spé}}$ la surface spécifique des nanoparticules déterminée par BET (en $\text{m}^2 \text{ g}^{-1}$, elle a été déterminée pour chaque lot de

ferrofluide). Les densités de greffage sont représentées graphiquement en fonction de la durée du greffage et du lot de ferrofluide utilisé dans la Figure 26.

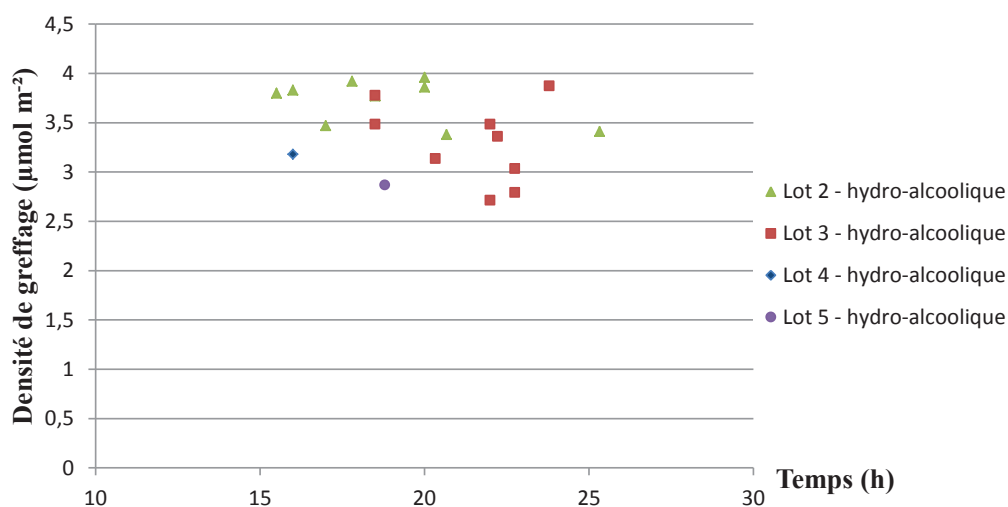


Figure 26 : Densités de greffage mesurées par analyse élémentaire lors du greffage hydro-alcoolique du MPS sur différents lots de ferrofluides en fonction de la durée du greffage.

Le graphique permet de constater qu'entre 15 et 24 heures de greffage hydro-alcoolique, la densité de greffage maximal est atteinte, puisqu'on se situe à un palier. Le calcul des moyennes de densité de greffage effectuées sur 10 greffages hydro-alcoolique par lot de ferrofluide permet d'obtenir le taux de greffage maximal. Les résultats sont résumés dans le Tableau 8.

Tableau 8 : Valeurs moyennes des densités de greffage en MPS déterminées au plateau et calculées par analyse élémentaire

Lot	Densité de greffage moyenne par AE ^a (en µmol m ⁻²)
FF_L2	3,23 ± 0,23
FF_L3	3,47 ± 0,41

^aMoyenne obtenue sur 10 greffages hydro-alcooliques. La durée de greffage est comprise entre 16h et 25h.

Ces valeurs sont élevées et correspondent à un empilement de MPS supérieur à une simple monocouche, puisque la densité de MPS maximal pour une monocouche est de 2,8 µmol m⁻².⁸³

En ce qui concerne le greffage aqueux, la valeur de densité de greffage maximal est de 3,5 - 4 µmol m⁻², ce qui est comparable à la valeur obtenue pour un greffage en milieu hydro-alcoolique (Figure 27). On constate qu'à partir de huit heures de greffage aqueux, la densité de greffage est déjà quasiment au palier de 3,5 µmol m⁻².

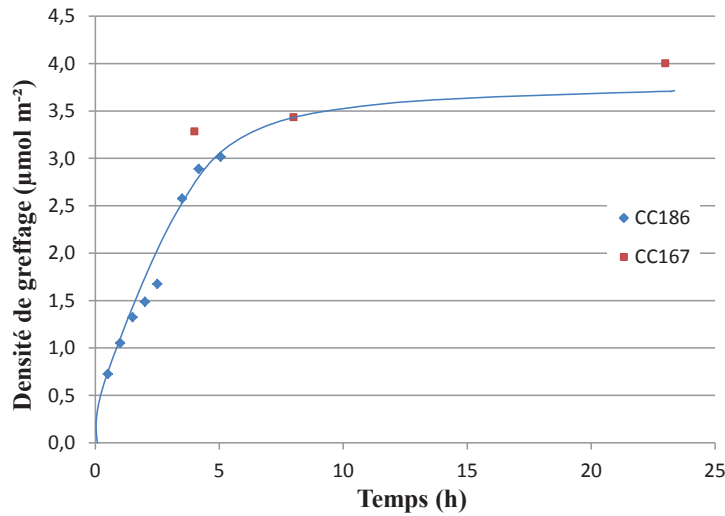


Figure 27 : Cinétique de greffage du MPS en milieu aqueux, déterminée à partir de deux greffages aqueux (CC167 et CC186) sur FF_L4.

III.2.3. Densité de greffage par analyse thermogravimétrique

La différence de nature entre l'oxyde de fer et le MPS rend la détermination de la densité de greffage du MPS possible par analyse thermogravimétrique (ATG). L'oxyde de fer étant inorganique, sa perte de masse jusqu'à 800 °C est négligée. Ceci permet d'attribuer la perte de masse de l'oxyde de fer modifié uniquement à la dégradation du MPS et la densité de greffage est alors obtenue par l'équation suivante (éq. 2-8) :

$$\text{densité de greffage } (\mu\text{mol m}^{-2}) = \frac{\omega_{\text{OF+Si}}}{1 - \omega_{\text{OF+Si}}} \cdot \frac{10^6}{M_{\text{Silane}} \cdot S_{\text{spé}}} \quad (\text{éq. 2-8})$$

Avec $\omega_{\text{OF+Si}}$ correspondant à la perte de masse de l'oxyde de fer modifié MPS entre 100 et 800 °C (exprimé sous forme décimale), M_{silane} (en g mol^{-1}) la masse de la partie organique du silane qui se décompose (127 g mol^{-1} pour le MPS) et $S_{\text{spé}}$ la surface spécifique (en $\text{m}^2 \text{ g}^{-1}$).

La densité de greffage moyenne sur 9 greffages hydro-alcooliques est de $3,6 \mu\text{mol m}^{-2}$ avec un écart type de $0,2 \mu\text{mol m}^{-2}$. Cette valeur est en accord avec les valeurs obtenues précédemment par analyse élémentaire.

IV. Conclusions du chapitre 2

Les nanoparticules d'oxyde de fer de type maghémite et magnétite ont été très étudiées en raison de leurs propriétés superparamagnétiques. L'avantage de la magnétite est qu'elle possède une magnétisation à saturation élevée : 92 emu g^{-1} pour le matériau massif contre 74 emu g^{-1} pour la maghémite. Elle possède toutefois un inconvénient majeur : elle est sensible à l'oxydation et s'oxyde en maghémite. Ceci résulte en une diminution des propriétés magnétiques dans le temps. Le choix de l'oxyde de fer utilisé dans cette thèse s'est donc porté sur la maghémite.

Les voies de synthèses des nanoparticules de maghémite sont nombreuses et les plus courantes sont la co-précipitation, la synthèse solvo- et hydro-thermale ou encore la décomposition thermique. Les deux dernières permettent un bon contrôle de la morphologie des nanoparticules obtenues, mais impliquent des procédés lourds et parfois difficilement industrialisables (réacteurs sous pression et hautes températures). C'est pourquoi le choix de la voie de synthèse des nanoparticules s'est portée sur la co-précipitation, qui permet une synthèse rapide et dans des conditions douces de température et de pression.

Les oxydes de fer ainsi synthétisés seront stabilisés par des contre-ions non flocculants de type nitrate. Ce choix a été guidé par l'application finale des particules. En effet, les particules de latex magnétiques finales doivent posséder des charges cationiques pour pouvoir interagir avec les différentes cibles biologiques. Pour éviter toute inversion de charges pouvant induire une déstabilisation, lors de la synthèse des latex magnétiques, nous avons choisi de synthétiser des ferrofluides cationiques. Les ferrofluides obtenus ont un taux de solide de 10 % en masse et sont stables pendant plusieurs mois, à condition de redisperser les agrégats formés au cours du temps en passant le ferrofluide dans un bain à ultrasons. Le diamètre des nanoparticules déterminé à partir de la surface spécifique BET (de l'ordre de $160 \text{ m}^2 \text{ g}^{-1}$) est de $7,8 \text{ nm}$ et correspond au diamètre des cristallites déterminé par DRX, qui est de $7,3 \text{ nm}$. Cependant leur diamètre hydrodynamique obtenu par DDL, est d'environ 39 nm et correspondrait à la formation de petits clusters d'oxydes de fer (Tableau 9).

Tableau 9 : Résumé des caractéristiques des nanoparticules de maghémite

Paramètre	Valeur
Taux de solide	$10 \% \pm 0,6 \%$
Diamètre des cristallites (DRX)	$7,3 \pm 1 \text{ nm}$
Diamètre des particules (par BET)	$7,8 \pm 0,5 \text{ nm}$
Diamètre hydrodynamique	$39 \pm 16 \text{ nm}$
PDI	$0,27 \pm 0,04$
Surface spécifique	$158 \pm 11 \text{ m}^2 \text{ g}^{-1}$
Magnétisation à saturation	62 emu g^{-1}

Le but étant d'encapsuler les nanoparticules dans des particules de polymère, la modification de surface par le MPS est particulièrement adaptée. En effet, ce dernier possède d'une part une fonction

méthacrylate, capable de co-polymériser avec les monomères pour être lié de façon covalente au polymère. D'autre part, il possède des fonctions alcoxysilyl, capables de s'hydrolyser et de condenser à la surface de l'oxyde de fer.

La littérature sur les protocoles de modification de surface par des organosilanes est abondante, et ceux-ci font souvent intervenir une encapsulation préalable de l'oxyde de fer par une couche de silice. Bien que cette couche permette d'augmenter la densité de greffage des organosilanes par la suite, cette voie n'a pas été retenue dans notre cas car elle implique une étape supplémentaire et une probable diminution des propriétés magnétiques. Nous avons donc opté pour un greffage direct en milieu acide afin de préserver la réponse magnétique des oxydes de fer.

Deux protocoles de greffage ont été mis au point en fonction du milieu dans lequel aura lieu l'encapsulation : le greffage hydro-alcoolique pour une encapsulation par polymérisation en dispersion, et un greffage aqueux pour une encapsulation par polymérisation en (mini-)émulsion. Dans les deux cas, les densités de greffage obtenues sont similaires et sont de l'ordre de $3,5 \mu\text{mol m}^{-2}$, ce qui correspond à plus d'une monocouche de silane.

Les oxydes de fer ainsi modifiés possèdent des fonctions méthacrylates de surface et sont donc compatibles avec des monomères hydrophobes de type styréniques ou méthacrylates. Ils peuvent alors être encapsulés par polymérisation en milieu dispersé pour former des latex magnétiques. Cette étape d'encapsulation est décrite dans le chapitre suivant (Chapitre 3).

Références du chapitre 2

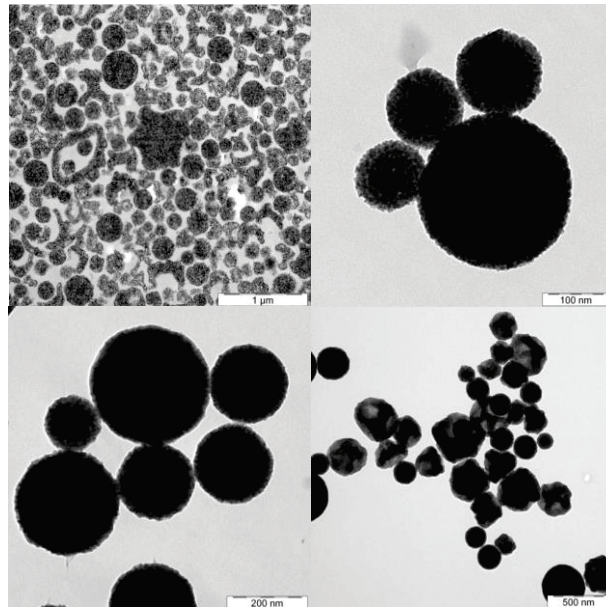
1. Lu, A. H.; Salabas, E.; Schüth, F. *Angew. Chem., Int. Ed.* **2007**, *46*, 1222-1244.
2. Rahman, M.; Elaissari, A.; van Herk, A. M.; Landfester, K. *Adv. Polym. Sci.* **2010**, *233*, 237-281.
3. Barreto, J. A.; O'Malley, W.; Kubeil, M.; Graham, B.; Stephan, H.; Spiccia, L. *Adv. Mater.* **2011**, *23*, H18-H40.
4. Massart, R.; Dubois, E.; Cabuil, V.; Hasmonay, E. *J. Magn. Magn. Mater.* **1995**, *149*, 1-5.
5. Viota, J. L.; Duràn, J. D. G.; González-Caballero, F.; Delgado, A. V. *J. Magn. Magn. Mater.* **2007**, *314*, 80-86.
6. Deng, H.; Li, X.; Peng, Q.; Wang, X.; Chen, J.; Li, Y. *Angew. Chem., Int. Ed.* **2005**, *44*, 2782-2785.
7. Liu, J.; Sun, Z.; Deng, Y.; Zou, Y.; Li, C.; Guo, X.; Xiong, L.; Gao, Y.; Li, F.; Zhao, D. *Angew. Chem., Int. Ed.* **2009**, *48*, 5875-5879.
8. Luo, B.; Song, X.-J.; Zhang, F.; Xia, A.; Yang, W.-L.; Hu, J.-H.; Wang, C.-C. *Langmuir* **2009**, *26*, 1674-1679.
9. Liu, J.; Wang, L.; Wang, J.; Zhang, L. *Mater. Res. Bull.* **2013**, *48*, 416-421.
10. Cai, H.; An, X.; Cui, J.; Li, J.; Wen, S.; Li, K.; Shen, M.; Zheng, L.; Zhang, G.; Shi, X. *ACS Appl. Mater. Interfaces* **2013**, *5*, 1722-1731.
11. Russo, P.; Acierno, D.; Palomba, M.; Carotenuto, G.; Rosa, R.; Rizzuti, A.; Leonelli, C. *J. Nanotechnol.* **2013**, *2012*, 8.
12. de Tercero, M. D.; Bruns, M.; Martínez, I. G.; Türk, M.; Fehrenbacher, U.; Jennewein, S.; Barner, L. *Part. Part. Syst. Char.* **2013**, *30*, 229-234.
13. Chen, H.; Dong, M.; Li, Y.; Kong, J.; Chai, Z.; Fu, G. *React. Funct. Polym.* **2013**, *73*, 18-22.
14. Sun, S.; Zeng, H. *J. Am. Chem. Soc.* **2002**, *124*, 8204-8205.
15. Pinna, N.; Grancharov, S.; Beato, P.; Bonville, P.; Antonietti, M.; Niederberger, M. *Chem. Mater.* **2005**, *17*, 3044-3049.
16. Hyeon, T.; Lee, S. S.; Park, J.; Chung, Y.; Na, H. B. *J. Am. Chem. Soc.* **2001**, *123*, 12798-12801.
17. Sun, S.; Zeng, H.; Robinson, D. B.; Raoux, S.; Rice, P. M.; Wang, S. X.; Li, G. *J. Am. Chem. Soc.* **2004**, *126*, 273-279.
18. Lu, X.; Niu, M.; Qiao, R.; Gao, M. *J. Phys. Chem. B* **2008**, *112*, 14390-14394.
19. Vichery, C., Thèse de doctorat intitulée: Procédé de recuit protégé appliqué à des nanoparticules d'oxyde de fer : étude des relations structure / propriétés magnétiques, Ecole Polytechnique ParisTech, **2012**.
20. Teja, A. S.; Koh, P.-Y. *Prog. Cryst. Growth Charact. Mater.* **2009**, *55*, 22-45.
21. Gubin, S., P.; Koksharov, Y. A.; Khomutov, G. B.; Yurkov, G. Y. *Russ. Chem. Rev.* **2005**, *74*, 489.
22. Lee, J.; Isobe, T.; Senna, M. *J. Colloid Interface Sci.* **1996**, *177*, 490-494.
23. Nigam, S.; Barick, K. C.; Bahadur, D. *J. Magn. Magn. Mater.* **2011**, *323*, 237-243.
24. Joumaa, N.; Toussay, P.; Lansalot, M.; Elaissari, A. *J. Polym. Sci., Part A: Polym. Chem.* **2008**, *46*, 327-340.
25. Hickey, R. J.; Haynes, A. S.; Kikkawa, J. M.; Park, S.-J. *J. Am. Chem. Soc.* **2011**, *133*, 1517-1525.
26. Tudisco, C.; Oliveri, V.; Cantarella, M.; Vecchio, G.; Condorelli, G. G. *Eur. J. Inorg. Chem.* **2012**, *2012*, 5323-5331.
27. El-Nahhal, I. M.; El-Ashgar, N. M. *J. Organomet. Chem.* **2007**, *692*, 2861-2886.
28. Désert, A.; Hubert, C.; Fu, Z.; Moulet, L.; Majimel, J.; Barboteau, P.; Thill, A.; Lansalot, M.; Bourgeat-Lami, E.; Duguet, E.; Ravaine, S. *Angew. Chem., Int. Ed.* **2013**, *52*, 11068-11072.

29. Campelj, S.; Makovec, D.; Drogenik, M. *J. Magn. Magn. Mater.* **2009**, *321*, 1346-1350.
30. Deng, Y.-H.; Wang, C.-C.; Hu, J.-H.; Yang, W.-L.; Fu, S.-K. *Colloids Surf., A* **2005**, *262*, 87-93.
31. Hui, C.; Shen, C.; Tian, J.; Bao, L.; Ding, H.; Li, C.; Tian, Y.; Shi, X.; Gao, H.-J. *Nanoscale* **2011**, *3*, 701-705.
32. Mornet, S.; Grasset, F.; Portier, J.; Duguet, E. *Eur. Cell. Mater.* **2002**, *3*, 110-113.
33. Pinho, S. L. C.; Pereira, G. A.; Voisin, P.; Kassem, J.; Bouchaud, V. r.; Etienne, L.; Peters, J. A.; Carlos, L.; Mornet, S. p.; Geraldès, C. F. G. C.; Rocha, J.; Delville, M.-H. l. n. *ACS Nano* **2010**, *4*, 5339-5349.
34. Shao, D.; Xia, A.; Hu, J.; Wang, C.; Yu, W. *Colloids Surf., A* **2008**, *322*, 61-65.
35. Shen, S.-L.; Wu, W.; Guo, K.; Meng, H.; Chen, J.-F. *Colloids Surf., A* **2007**, *311*, 99-105.
36. Li, Y.-S.; Church, J. S.; Woodhead, A. L.; Moussa, F. *Spectrochim. Acta, Part A* **2010**, *76*, 484-489.
37. Shao, D.; Xu, K.; Song, X.; Hu, J.; Yang, W.; Wang, C. *J. Colloid Interface Sci.* **2009**, *336*, 526-532.
38. Zhang, F.; Wang, C.-C. *J. Phys. Chem. C* **2008**, *112*, 15151-15156.
39. Fang, W.; Chen, X.; Zheng, N. *J. Mater. Chem.* **2010**, *20*, 8624-8630.
40. Mohammad-Beigi, H.; Yaghmaei, S.; Roostaazad, R.; Bardania, H.; Arpanaei, A. *Phys. E.* **2011**, *44*, 618-627.
41. Zhang, Y.; Liu, J.-Y.; Yang, F.; Zhang, Y.-J.; Yao, Q.; Cui, T.-Y.; Zhao, X.; Zhang, Z.-D. *J. Mater. Sci.: Mater. Med.* **2009**, *20*, 2433-2440.
42. Bruce, I. J.; Sen, T. *Langmuir* **2005**, *21*, 7029-7035.
43. de Almeida, M. P. S.; Caiado, K. L.; Sartoratto, P. P. C.; Cintra e Silva, D. O.; Pereira, A. R.; Morais, P. C. *J. Alloys Compd.* **2010**, *500*, 149-152.
44. d'Orlyé, F.; Varenne, A.; Georgelin, T.; Siaugue, J.-M.; Teste, B.; Descroix, S.; Gareil, P. *Electrophoresis* **2009**, *30*, 2572-2582.
45. Kim, J.; Kim, H. S.; Lee, N.; Kim, T.; Kim, H.; Yu, T.; Song, I. C.; Moon, W. K.; Hyeon, T. *Angew. Chem., Int. Ed.* **2008**, *47*, 8438-8441.
46. Chen, H.; Deng, C.; Zhang, X. *Angew. Chem., Int. Ed.* **2010**, *49*, 607-611.
47. Zhang, F.; Hou, G.-H.; Wang, C.-C. *Mater. Lett.* **2012**, *89*, 97-100.
48. Deng, Y. H.; Yang, W. L.; Wang, C. C.; Fu, S. K. *Adv. Mater.* **2003**, *15*, 1729-1732.
49. Ge, J.; Hu, Y.; Zhang, T.; Yin, Y. *J. Am. Chem. Soc.* **2007**, *129*, 8974-8975.
50. Ge, J.; Huynh, T.; Hu, Y.; Yin, Y. *Nano Lett.* **2008**, *8*, 931-934.
51. Lim, S.; Yang, D.; Lee, S.-W. *J. Nanosci. Nanotechnol.* **2010**, *10*, 7295-7299.
52. Pfaff, A.; Schallon, A.; Ruhland, T. M.; Majewski, A. P.; Schmalz, H.; Freitag, R.; Müller, A. H. E. *Biomacromolecules* **2011**, *12*, 3805-3811.
53. Olariu, C. I.; Yiu, H. H. P.; Bouffier, L.; Nedjadi, T.; Costello, E.; Williams, S. R.; Halloran, C. M.; Rosseinsky, M. J. *J. Mater. Chem.* **2011**, *21*, 12650-12659.
54. Frickel, N.; Messing, R.; Gelbrich, T.; Schmidt, A. M. *Langmuir* **2010**, *26*, 2839-2846.
55. Amici, J.; Allia, P.; Tiberto, P.; Sangermano, M. *Macromol. Chem. Phys.* **2011**, *212*, 1629-1635.
56. Cao, H.; He, J.; Deng, L.; Gao, X. *Appl. Surf. Sci.* **2009**, *255*, 7974-7980.
57. Jon, S.; Seong, J.; Khademhosseini, A.; Tran, T.-N. T.; Laibinis, P. E.; Langer, R. *Langmuir* **2003**, *19*, 9989-9993.
58. Lee, H.; Lee, E.; Kim, D. K.; Jang, N. K.; Jeong, Y. Y.; Jon, S. *J. Am. Chem. Soc.* **2006**, *128*, 7383-7389.
59. Ma, M.; Zhang, Y.; Yu, W.; Shen, H.-y.; Zhang, H.-q.; Gu, N. *Colloids Surf., A* **2003**, *212*, 219-226.
60. Park, J. O.; Rhee, K. Y.; Park, S. J. *Appl. Surf. Sci.* **2010**, *256*, 6945-6950.

61. Flesch, C.; Bourgeat-Lami, E.; Mornet, S.; Duguet, E.; Delaite, C.; Dumas, P. *J. Polym. Sci., Part A: Polym. Chem.* **2005**, *43*, 3221-3231.
62. Flesch, C.; Delaite, C.; Dumas, P.; Bourgeat-Lami, E.; Duguet, E. *J. Polym. Sci., Part A: Polym. Chem.* **2004**, *42*, 6011-6020.
63. Flesch, C.; Joubert, M.; Bourgeat-Lami, E.; Mornet, S.; Duguet, E.; Delaite, C.; Dumas, P. *Colloids Surf., A* **2005**, *262*, 150-157.
64. Sun, Y.; Ding, X.; Zheng, Z.; Cheng, X.; Hu, X.; Peng, Y. *Eur. Polym. J.* **2007**, *43*, 762-772.
65. Zhang, C.; Wängler, B.; Morgenstern, B.; Zentgraf, H.; Eisenhut, M.; Untenecker, H.; Krüger, R.; Huss, R.; Seliger, C.; Semmler, W.; Kiessling, F. *Langmuir* **2007**, *23*, 1427-1434.
66. Currie, E.; Van De Belt, R. *WO2010046030 (A2)* **2010**.
67. Schönafinger, E.; Deigner, P.; Ohlinger, M.; Jakusch, H.; Amort, J.; Nestler, H.; Seiler, C.-D.; Ambros, O. *US4271234* **1981**.
68. Delaite, C.; Flesch, C.; Dumas, P.; Duguet, E.; Bourgeat-Lami, E. *FR2897064 (B1)* **2006**.
69. Duguet, E.; Mornet, S.; Portier, J. *FR2855315 (A1)* **2004**.
70. Mornet, S. p.; Portier, J.; Duguet, E. *J. Magn. Magn. Mater.* **2005**, *293*, 127-134.
71. Chen, T.; Cao, Z.; Guo, X.; Nie, J.; Xu, J.; Fan, Z.; Du, B. *Polymer* **2011**, *52*, 172-179.
72. Govindaiah, P.; Hwang, T.; Yoo, H.; Kim, Y. S.; Lee, S. J.; Choi, S. W.; Kim, J. H. *J. Colloid Interface Sci.* **2012**, *379*, 27-32.
73. Gu, S.; Onishi, J.; Kobayashi, Y.; Nagao, D.; Konno, M. *J. Colloid Interface Sci.* **2005**, *289*, 419-426.
74. Gu, S.; Shiratori, T.; Konno, M. *Colloid Polym. Sci.* **2003**, *281*, 1076-1081.
75. Sacanna, S.; Kegel, W. K.; Philipse, A. P. *Langmuir* **2007**, *23*, 10486-10492.
76. Sacanna, S.; Kegel, W. K.; Philipse, A. P. *Phys. Rev. Lett.* **2007**, *98*, 158301.
77. Sacanna, S.; Philipse, A. P. *Adv. Mater.* **2007**, *19*, 3824-3826.
78. Sacanna, S.; Philipse, A. P. *Langmuir* **2006**, *22*, 10209-10216.
79. Guo, Z.; Lei, K.; Li, Y.; Ng, H. W.; Prikhodko, S.; Hahn, H. T. *Compos. Sci. Technol.* **2008**, *68*, 1513-1520.
80. Flesch, C.; Unterfinger, Y.; Bourgeat-Lami, E.; Duguet, E.; Delaite, C.; Dumas, P. *Macromol. Rapid Commun.* **2005**, *26*, 1494-1498.
81. Brinker, C. J.; Scherer, G. W., *Sol-Gel Science, the physics and Chemistry of Sol-Gel Processing*. **1990**.
82. Posthumus, W.; Magusin, P. C. M. M.; Brokken-Zijp, J. C. M.; Tinnemans, A. H. A.; van der Linde, R. *J. Colloid Interface Sci.* **2004**, *269*, 109-116.
83. Abboud, M.; Turner, M.; Duguet, E.; Fontanille, M. *J. Mater. Chem.* **1997**, *7*, 1527-1532.
84. Stöber, W.; Fink, A.; Bohn, E. *J. Colloid Interface Sci.* **1968**, *26*, 62-69.
85. Lucas, I. T.; Durand-Vidal, S.; Dubois, E.; Chevalet, J.; Turq, P. *J. Phys. Chem. C* **2007**, *111*, 18568-18576.
86. Miomandre, F.; Audebert, P., *Procédé sol-gel de polymérisation*. Editions T.I., **2005**.
87. Jubb, A. M.; Allen, H. C. *ACS Appl. Mater. Interfaces* **2010**, *2*, 2804-2812.
88. Martin, G. A. *Rev. Phys. Appl. (Paris)* **1981**, *16*, 181-191.
89. Bruce, I. J.; Taylor, J.; Todd, M.; Davies, M. J.; Borioni, E.; Sangregorio, C.; Sen, T. *J. Magn. Magn. Mater.* **2004**, *284*, 145-160.
90. Queiroz, J. R. C.; Benetti, P.; Özcan, M.; de Oliveira, L. F. C.; Bona, A. D.; Takahashi, F. E.; Bottino, M. A. *Dent. Mater.* **2012**, *28*, 189-196.
91. Herrera, N. N.; Letoffé, J.-M.; Reymond, J.-P.; Bourgeat-Lami, E. *J. Mater. Chem.* **2005**, *15*, 863-871.
92. Berendsen, G. E.; Galan, L. d. *J. Liq. Chromatogr.* **1978**, *1*, 561-586.

Chapitre 3

Synthèse de particules de latex magnétiques



Sommaire du chapitre 3

I. Polymérisation radicalaire en milieu dispersé	103
I.1. Généralités sur la polymérisation radicalaire.....	103
I.2. La polymérisation en dispersion	104
I.3. La polymérisation en émulsion et miniémulsion	106
II. Définition des critères de caractérisation des particules magnétiques	110
II.1. Taux de particules magnétiques	110
II.2. Taille et dispersion de taille des particules magnétiques.....	111
II.3. Taux d'oxyde de fer dans les particules magnétiques et non magnétiques	112
II.4. Magnétisation à saturation	112
III. Encapsulation par polymérisation en dispersion.....	113
III.1. Polymérisation en dispersion du styrène en milieu hydro-alcoolique	113
III.2. Tests de stabilité des oxydes de fer en milieu hydro-alcoolique	117
III.3. Polymérisation en dispersion en milieu hydro-alcoolique en présence d'oxydes de fer.....	121
III.4. Conclusion	130
IV. Encapsulation par polymérisation en émulsion.....	131
IV.1. Nécessité d'une modification de surface	132
IV.2. Polymérisation en émulsion du styrène en présence d'oxydes de fer modifiés MPS.....	133
IV.3. Polymérisation en émulsion du MMA.....	141
V. Encapsulation par polymérisation en miniémulsion.....	153
V.1. Influence de la diminution de la concentration en CTAB	155
V.2. Augmentation de la concentration en oxyde de fer modifié	158
V.3. Augmentation de la taille des gouttelettes en utilisant un autre procédé de dispersion des oxydes de fer	160
V.4. Conclusion sur l'encapsulation par polymérisation en miniémulsion	161
VI. Résumé des différentes polymérisations du MMA.....	163
VII. Conclusions du chapitre 3	164
 <i>Références du chapitre 3.....</i>	 <i>166</i>

L'objectif de l'étude présentée dans ce chapitre est d'élaborer des latex magnétiques pour des applications de séparation magnétique. Ces particules devront pouvoir être séparées d'un milieu complexe en présence d'un aimant en moins de 30 secondes. Nous avons vu dans le Chapitre 1 (partie II.1.) que la vitesse de séparation magnétique est proportionnelle au carré du rayon des particules, mais aussi à la magnétisation à saturation des particules, et donc au taux d'oxyde de fer des particules magnétiques. L'objectif est donc d'obtenir des particules de latex riches en oxydes de fer ayant un diamètre d'au moins 300 nm, idéalement proche de 500 nm.

Pour ce faire, nous avons choisi d'encapsuler les nanoparticules d'oxyde de fer par polymérisation en milieu dispersé, en nous intéressant plus particulièrement aux procédés de polymérisation en dispersion, en émulsion et en miniémulsion. En effet, ces procédés permettent d'obtenir des particules dans la gamme de taille désirée puisque la polymérisation en dispersion permet d'obtenir des diamètres compris entre 200 nm et 20 μm , tandis que les procédés de polymérisation en émulsion et miniémulsion permettent d'atteindre des diamètres compris entre 50 et 600 nm (cf. Chapitre 1, Tableau 2).

Pour favoriser l'encapsulation des oxydes de fer, nous avons modifié leur surface par le greffage du 3-méthacryloxypropyltriméthoxysilane ou MPS, comme décrit dans le Chapitre 2. Deux protocoles ont été utilisés : un procédé hydro-alcoolique et un procédé aqueux. Les deux protocoles conduisent à une densité de greffage d'environ 3,5 $\mu\text{mol m}^{-2}$ et les oxydes de fer modifiés sont redispersés soit dans de l'éthanol, soit dans de l'eau en fonction du procédé de polymérisation choisi.

Après une brève description de la polymérisation radicalaire en milieu dispersé et la définition des critères de caractérisation magnétique utilisés dans cette étude, les procédés de polymérisation en dispersion, en émulsion et en miniémulsion seront successivement utilisés pour tenter d'encapsuler les oxydes de fer modifiés. Différents paramètres tels que la nature et la concentration du monomère, le type d'amorceur ou de stabilisant, la concentration initiale des oxydes de fer ou le mode d'émulsification, ont été étudiés afin d'obtenir les particules magnétiques définies par le cahier des charges.

I. Polymérisation radicalaire en milieu dispersé

I.1. Généralités sur la polymérisation radicalaire

La polymérisation radicalaire repose généralement sur les quatre étapes suivantes :

- l'amorçage, qui conduit à la formation des radicaux (R^\bullet),
- la propagation, qui permet d'obtenir des chaînes de polymère en croissance ou macroradicaux (RM^\bullet),
- la terminaison (par combinaison ou par dismutation), qui met fin à la polymérisation en formant des chaînes mortes,

- le transfert du centre actif d'une chaîne en croissance à une autre molécule (amorceur, monomère, solvant, agent de transfert...), qui affecte la valeur des masses molaires.

Les réactions de terminaison par combinaison ont lieu lorsque deux macroradicaux se rencontrent pour ne former plus qu'une chaîne de polymère. Dans le cas d'une terminaison par dismutation, deux macroradicaux se rencontrent pour former deux chaînes : l'une terminée par une insaturation et l'autre étant saturée. Les réactions chimiques entrant en jeu sont résumées dans la Figure 1.

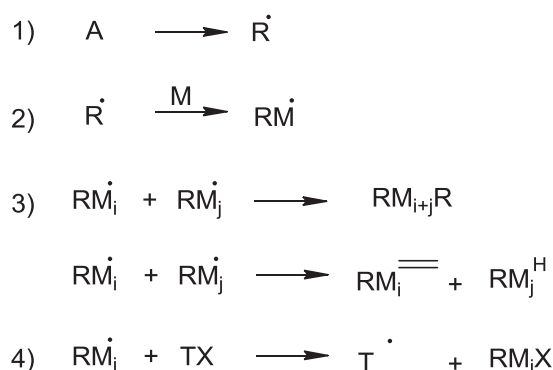


Figure 1 : Réactions chimiques des quatre étapes d'une polymérisation radicalaire : (1) l'amorçage, (2) la propagation, (3) la terminaison par combinaison ou dismutation et (4) le transfert

Nous allons à présent voir comment ces réactions chimiques se déroulent en milieu dispersé en fonction des procédés de polymérisation choisis.

I.2. La polymérisation en dispersion

La polymérisation en dispersion¹ a été développée par Osmond et al. dans les années 1960² et permet de former des particules monodisperses proches de 500 nm de diamètre, puisque la gamme couverte par ce procédé est de 200 nm à 20 µm, en fonction des formulations adoptées. Les mécanismes de polymérisation en dispersion ont notamment été étudiés par Lok et al.³ et Paine et al.⁴ qui se sont basés sur la polymérisation du styrène en milieu polaire pour élaborer leur mécanisme.

La polymérisation débute dans un milieu homogène contenant le monomère, l'amorceur, le stabilisant et le solvant (Figure 2). La décomposition de l'amorceur libère des radicaux (R^{\bullet}), qui eux-mêmes réagissent sur des unités de monomère pour former des oligoradicaux ou macroradicaux (RM_n^{\bullet}). Lorsque ceux-ci atteignent une longueur critique, ils précipitent dans le milieu pour former des particules primaires instables, il s'agit de l'étape de nucléation. Ces particules primaires peuvent ensuite soit incorporer le stabilisant par des réactions de transfert⁵, soit coaguler pour former des particules primaires de taille plus importante. Celles-ci peuvent à leur tour incorporer le stabilisant. La coagulation cesse lorsque la surface des particules primaires est entièrement recouverte de stabilisant, conduisant à la formation de particules mures gonflées de monomère. Les oligoradicaux présents

dans le milieu peuvent alors être captés par les particules matures ou alors précipiter pour former de nouvelles particules primaires.

Une fois toutes les particules matures formées, la phase de nucléation laisse place à la phase de croissances des particules. Celle-ci peut s'effectuer dans les particules gonflées de monomère ou dans la phase continue, où les oligoradicaux se rencontrent pour donner naissance à des chaînes mortes et précipiter sur les particules préexistantes.

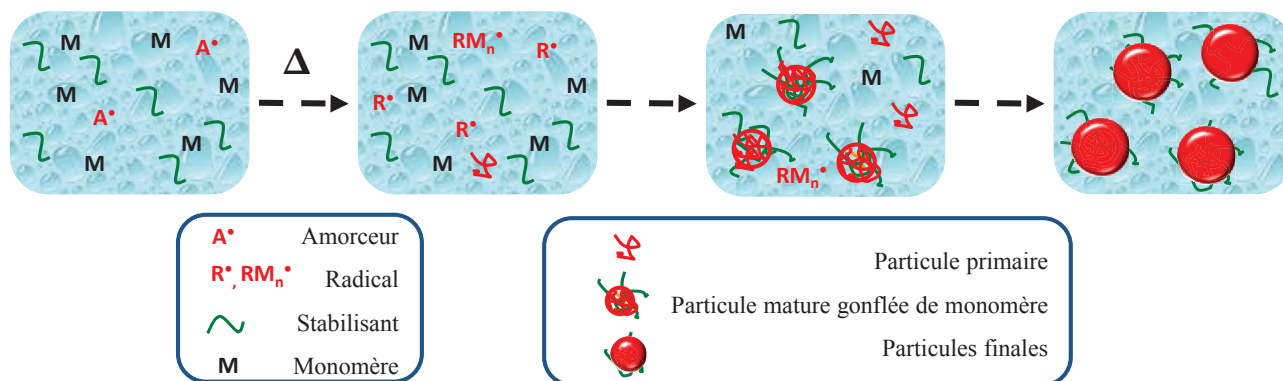


Figure 2 : Mécanisme de la polymérisation en dispersion

Dans notre étude, nous nous intéresserons uniquement à la polymérisation du styrène en milieu hydro-alcoolique, qui est le milieu privilégié pour les polymérisations en dispersion en présence d'oxydes de fer (cf. Chapitre 1). En effet ce milieu permet une dispersion homogène de différents types d'oxydes de fer (stabilisés par des polymères ou des charges).⁶⁻¹¹

Dans ce milieu, l'un des stabilisants couramment employés est la poly(*N*-vinylpyrrolidone) (PVP, Figure 3) de différentes masses molaires, qui s'incorpore aux chaînes en croissance par des réactions de transfert. Selon la longueur de la chaîne de PVP, la taille des particules finales varie. Globalement, plus la chaîne de PVP est longue, plus les tailles de particules sont faibles.¹² Une autre alternative consiste à utiliser une macromolécule portant une fonction polymérisable, également appelée stabilisant réactif. Dans ce cas, le stabilisant est incorporé aux oligoradicaux par réaction de copolymérisation et non par des réactions de transfert. Le plus courant est le méthacrylate de poly(éthylène glycol) (PEGMA).¹³

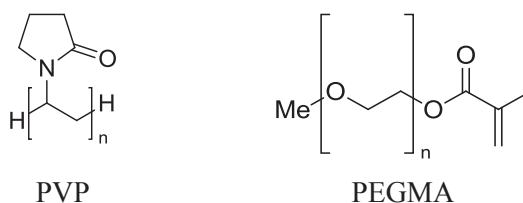


Figure 3 : Formules chimiques des stabilisants PVP et PEGMA

I.3. La polymérisation en émulsion et miniémulsion

Contrairement à la polymérisation en dispersion, la polymérisation en émulsion débute dans un milieu non homogène contenant une phase aqueuse (ou phase continue) et une phase organique (ou phase dispersée). Cette dernière est composée de gouttelettes de monomère couvertes par du tensioactif, qui constituent des réservoirs de monomère. La phase aqueuse est composée d'eau, de quelques molécules de monomère solubilisées et de l'amorceur hydrosoluble. Elle peut également contenir des micelles de tensioactifs gonflées de monomère, si la concentration en tensioactif est supérieure à sa concentration micellaire critique (CMC).

I.3.1. Les différentes étapes d'une polymérisation en émulsion

Le mécanisme de la polymérisation en émulsion comporte trois étapes d'après la théorie de Smith-Ewart : la nucléation des particules, une période stationnaire correspondant à la croissance des particules et enfin l'étape terminale.¹⁴

I. L'étape de nucléation des particules

Dans cette étape, l'amorceur hydrosoluble se décompose (par voie thermique, ou via des réactions d'oxydo-réduction s'il s'agit d'un couple redox) pour produire des radicaux R^\bullet (Figure 4). Ces radicaux vont réagir avec le monomère solubilisé dans l'eau pour former des oligoradicaux, puis des particules selon différents mécanismes détaillés dans la partie suivante (I.3.2). Lors de cette étape, la vitesse de réaction augmente puis se stabilise lorsque la nucléation cesse (Figure 5). Cette étape s'achève généralement pour une conversion proche de 10 % (selon la nature du monomère).¹⁵

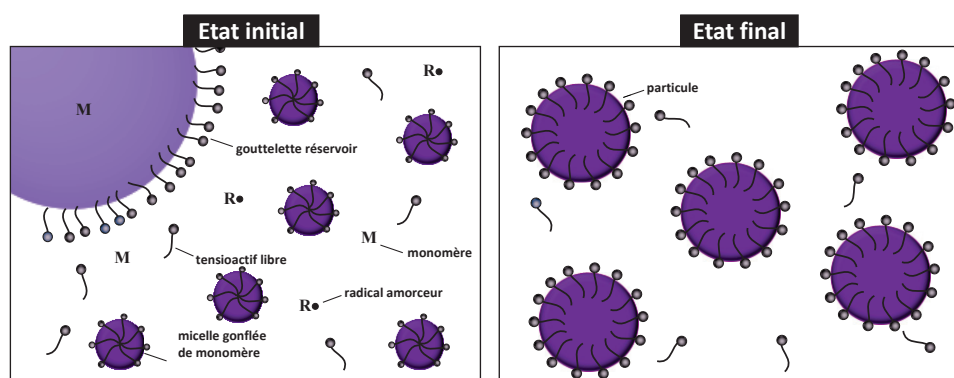


Figure 4 : Schéma de l'état initial lors d'une polymérisation en émulsion (à gauche) et de l'état final (à droite) pour une concentration en tensioactif $> CMC$

II. Croissance des particules - période stationnaire

Durant cette période, le monomère se trouvant dans les gouttelettes réservoirs diffuse vers les particules de polymère. Celles-ci sont alors gonflées de monomère, ce qui permet leur croissance. Durant cette période, la vitesse de polymérisation est constante. Lorsque toutes les gouttelettes de

monomère sont épuisées, ce qui correspond à une conversion se situant généralement entre 10 et 40 %, alors cette période stationnaire s'achève.

III. Fin de la polymérisation

Le monomère restant après la période stationnaire est alors localisé dans les particules de polymère. La vitesse de polymérisation décroît et la polymérisation se poursuit dans les particules jusqu'à épuisement du monomère. Cette étape s'étale généralement de 40 à 100 % de conversion.

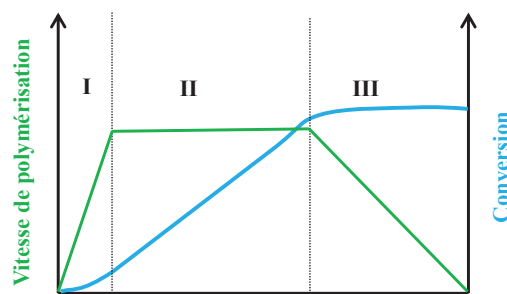


Figure 5 : Evolution de la vitesse de polymérisation et de la conversion en fonction du temps au cours des trois étapes de la polymérisation en émulsion

I.3.2. Les mécanismes de nucléation

Les mécanismes de nucléation dépendent fortement des conditions expérimentales (concentration de tensioactif notamment) et de la solubilité du monomère dans le milieu. Les mécanismes généralement acceptés pour décrire la formation des particules sont : la nucléation hétérogène ou micellaire, la nucléation homogène et coagulative et la nucléation dans les gouttelettes de monomère.

- Nucléation hétérogène ou micellaire

Cette nucléation implique la présence de micelles de tensioactifs et donc une concentration en tensioactif supérieure à sa CMC. Dans ce mécanisme proposé par Harkins et al.,¹⁶ les oligoradicaux croissent jusqu'à atteindre une longueur critique z_{crit} à partir de laquelle ils deviennent suffisamment hydrophobes pour pouvoir entrer dans une micelle gonflée de monomère. Une fois l'oligoradical capturé par la micelle, la polymérisation se poursuit à l'intérieur de celle-ci.

- Nucléation homogène et coagulative

Ce mécanisme de nucléation a particulièrement été étudié par Roe et al.¹⁷ Dans ce cas, l'oligoradical croît dans la phase continue, jusqu'à atteindre une longueur critique j_{crit} ($> z_{crit}$) pour laquelle il devient insoluble et précipite pour former des particules primaires. Ces particules primaires ont alors deux

possibilités : elles peuvent se gonfler de monomère pour continuer leur croissance ou elles peuvent coaguler avec d'autres particules primaires pour former des particules de tailles plus importantes et diminuer ainsi leur énergie de surface.

- Nucléation dans les gouttelettes de monomère

Ce type de nucléation est similaire à la nucléation micellaire, à l'exception que l'oligoradical pénètre dans une gouttelette de monomère et non dans une micelle. Cette nucléation est souvent ignorée en raison de sa faible probabilité. En effet, lors d'une polymérisation en émulsion, il est couramment admis que le nombre de gouttelettes de monomère est d'environ $6 \cdot 10^{11} \text{ L}^{-1}$ et donc largement inférieur à celui des micelles qui est d'environ 10^{20} L^{-1} (Tableau 1).² D'autre part, si on considère que la taille des gouttelettes de monomère est de l'ordre du micromètre, et que celle des micelles de l'ordre du nanomètre, la surface offerte par les gouttelettes de monomère devient alors négligeable par rapport à celle des micelles.

Tableau 1 : Récapitulatif du nombre et de la taille des gouttelettes et des micelles présentes lors d'une polymérisation en émulsion. La taille des gouttelettes et des micelles ont été arbitrairement fixées à 5 μm et 4 nm respectivement pour le calcul de surface et du nombre d'objets.

	Gouttelettes	Micelles
Nombre d'objets. L^{-1}	$6 \cdot 10^{11}$	10^{20}
Rayon (nm)	5 000	4
Surface (m^2)	30	1 600

Il existe cependant une exception à cette règle : lorsque la taille des gouttelettes de monomère diminue fortement, alors la nucléation dans les gouttelettes de monomère n'est plus négligeable. C'est sur ce concept que repose la polymérisation en miniémulsion, qui a été mise en évidence pour la première fois par Ugelstad en 1973.¹⁸

I.3.3. Polymérisation en miniémulsion

La polymérisation en miniémulsion donne accès à des particules de taille équivalentes à celles obtenues par polymérisation en émulsion, i.e. 50-500 nm, mais par des mécanismes différents. En effet, le milieu est initialement divisé en gouttelettes de taille nanométrique (< 300 nm) et aucune micelle de tensioactif n'est en principe présente afin de défavoriser la nucléation micellaire et favoriser la nucléation dans les gouttelettes de monomère (Figure 6). Idéalement, chacune des gouttelettes constitue un « nanoréacteur » dans lequel se déroule la polymérisation, permettant de transformer chaque gouttelette en une particule de polymère, mais ceci est rarement observé expérimentalement.

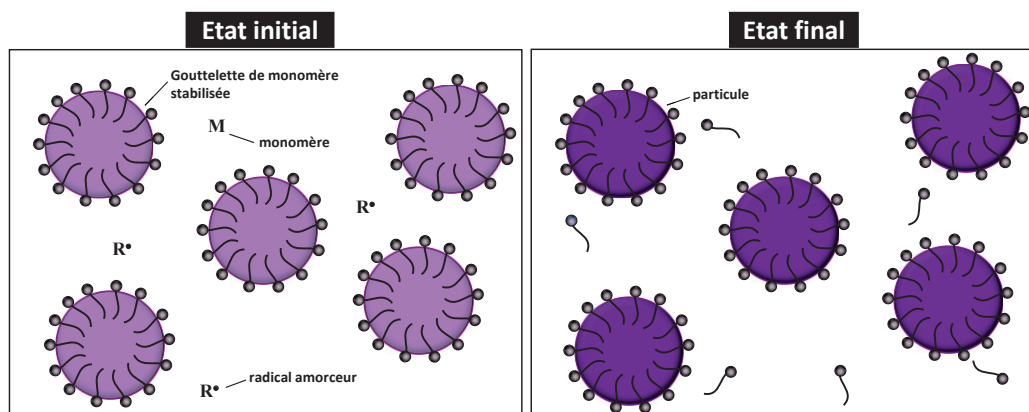


Figure 6 : Schéma de l'état initial lors d'une polymérisation en miniémulsion (à gauche) et de l'état final (à droite)

Les gouttelettes de miniémulsion sont formées sous fort cisaillement à l'aide de disperseurs à haute énergie, tels qu'une sonde à ultrasons, une sonde UltraTurrax® ou encore des homogénéisateurs à haute pression, et sont thermodynamiquement instables. Les deux principales causes de l'instabilité des miniémulsions sont la coalescence et le mûrissement d'Ostwald.

La *coalescence* a lieu lors de la collision de deux gouttelettes, celles-ci fusionnant pour former une gouttelette plus grande. Ce type de déstabilisation peut être limité par l'utilisation de tensioactifs ioniques ou non ioniques.

Le *mûrissement d'Ostwald* désigne quant à lui la migration du monomère des petites gouttelettes vers les plus grandes et a pour conséquence une augmentation de la taille moyenne des gouttelettes. Ce phénomène peut être limité par l'ajout d'un agent très hydrophobe, ou agent de pression osmotique, ayant une très faible solubilité dans l'eau. Il s'agit généralement d'un alcane à longue chaîne présentant ou non une fonction polymérisable ou d'un acide gras. Celui-ci va créer une pression osmotique à l'intérieur des gouttelettes qui limite la diffusion du monomère hors de la gouttelette. Cette pression osmotique (Π) dépend de la température (T), de la concentration en hydrophobe (C) et de sa masse molaire (M): $\Pi = RTC/M$.¹⁹ Pour qu'une miniémulsion atteigne son état d'équilibre il faut que la pression osmotique à l'intérieur des gouttelettes soit supérieure à la pression de Laplace (i.e. la différence de pression entre deux fluides séparés par une interface commune).¹⁹⁻²²

La miniémulsion est un procédé de choix pour l'encapsulation de composés organosolubles mais aussi de solides inorganiques,^{20, 22-24} puisque ceux-ci sont distribués de manière homogène dans les gouttelettes de monomère et qu'idéalement chaque particule est la copie des gouttelettes initiales.

Actuellement, l'inconvénient majeur de ce procédé de polymérisation reste l'étape de formation des gouttelettes de monomère, qui nécessite des homogénéisateurs à haute énergie très peu adaptés pour une production industrielle, même si de nouvelles approches basées sur des mélangeurs statiques semblent prometteuses.²⁵

II. Définition des critères de caractérisation des particules magnétiques

L'objectif de l'étude effectuée dans ce chapitre est d'obtenir des particules magnétiques stables et présentant une réponse à l'aimant la plus élevée possible. Dans le chapitre 1, nous avons vu que la taille et la magnétisation à saturation des particules étaient deux critères importants pour obtenir une bonne réponse magnétique (équation 3-1). Tout au long de notre étude, nous nous sommes attachés à déterminer la taille et la dispersion de taille des latex magnétiques obtenus, mais aussi leur taux d'oxyde de fer, dont dépend la magnétisation à saturation des particules.

$$v \propto r^2 \cdot M_S \quad (\text{éq. 3-1})$$

Les latex magnétiques obtenus par polymérisation en milieu dispersé en présence d'oxydes de fer ne sont pas toujours homogènes dans leur composition²⁶, c'est-à-dire qu'il est possible d'obtenir des nanoparticules d'oxyde de fer non encapsulées ou des particules de polymère dépourvues d'oxyde de fer. Les paragraphes suivants explicitent le protocole de séparation adopté pour isoler les particules magnétiques, la définition et la détermination du taux de particules magnétiques. Nous décrirons également succinctement les techniques utilisées pour caractériser la partie magnétique en terme de taille, distribution de taille, taux d'oxyde de fer et magnétisation à saturation.

II.1. Taux de particules magnétiques

L'un des impératifs du cahier des charges posé dans le cadre de cette thèse porte sur le temps de séparation magnétique qui ne doit pas être supérieur à 30 secondes. Pour isoler les particules répondant à ce critère, des lavages magnétiques sont effectués sur les latex après synthèse. Typiquement, une petite fraction du latex (environ 1 g) est introduite dans un eppendorf et mis à proximité d'un aimant. La réponse magnétique peut varier en fonction de la distance à l'aimant et de sa puissance. Pour éviter des erreurs dues à ces aléas, nous avons utilisé un rack magnétique, commercialisé par *Invitrogen* et également utilisé au CEA pour obtenir des résultats comparables à leurs standards. Le temps de contact à l'aimant, ou temps de séparation magnétique, est de 30 secondes, puis le surnageant est retiré et les particules sont redispersées dans le milieu dispersant (mélange d'éthanol et d'eau pour les latex obtenus par polymérisation en dispersion, ou eau pour les latex obtenus par polymérisation en (mini)émulsion) (Figure 7). Ces étapes sont renouvelées trois fois. Les particules magnétiques ainsi isolées constituent la fraction magnétique du latex.

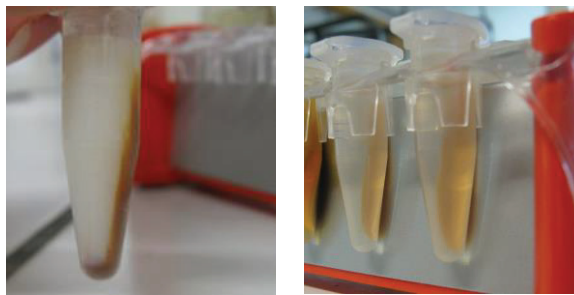


Figure 7 : Photos des séparations magnétiques effectuées sur un rack magnétique. Au premier lavage (à gauche), la séparation entre la fraction magnétique et non magnétique du latex s'observe clairement. Après trois lavages (à droite), le surnageant est complètement limpide et ne contient plus de particules de latex non magnétiques

Cependant, lorsque la réponse magnétique est faible, c'est-à-dire qu'il n'est pas possible d'observer de fraction magnétique après 30 secondes, les lavages magnétiques sont effectués avec un temps de séparation de 5 minutes, afin de pouvoir isoler une fraction magnétique suffisante pour pouvoir être analysée. Si 5 minutes ne suffisent toujours pas à isoler de fraction magnétique, le latex est alors caractérisé dans sa totalité.

Dans le cas où il est possible d'isoler une fraction magnétique, le taux de particules magnétiques (%PM) est déterminé expérimentalement par le rapport de la masse des particules magnétiques sèches (m_{magn}) sur la masse totale des particules sèches (m_{totale}) (équation 3-2).

$$\%PM (\%) = \frac{m_{\text{magn}}}{m_{\text{totale}}} \times 100 \quad (\text{éq. 3-2})$$

II.2. Taille et dispersion de taille des particules magnétiques

Les diamètres visés dans cette étude sont de l'ordre de 500 nm. Les méthodes de caractérisation choisies pour déterminer la taille et la dispersion de taille sont la diffusion dynamique de la lumière (DDL) et la microscopie électronique à transmission (MET). La DDL permet d'accéder au diamètre hydrodynamique D_h , qui est calculé à partir du mouvement brownien des particules. Ce diamètre est proche des diamètres réels à condition que les particules soient monodisperses, qu'elles ne soient pas trop denses pour éviter la sédimentation et qu'elles aient un diamètre inférieur à 500 nm. Ces différentes hypothèses ne sont pas toujours vérifiées, c'est pour cela que les tailles des particules (D_n) et dispersions de taille ($D_d = D_w/D_n$) ont été le plus souvent déterminées par analyse des clichés obtenus par MET. Les différentes méthodes et les équations utilisées sont détaillées dans l'Annexe C (partie IV).

II.3. Taux d'oxyde de fer dans les particules magnétiques et non magnétiques

Le taux d'oxyde de fer dans les particules magnétiques (%OF_{magn}) est aisément accessible par analyse thermogravimétrique (ATG), qui permet de déterminer le pourcentage d'inorganique dans le matériau. Cependant, il faut une quantité minimale de fraction magnétique (5 mg) pour pouvoir effectuer une ATG. C'est la raison pour laquelle cette donnée ne sera pas toujours indiquée par la suite.

Le taux d'oxyde de fer dans l'ensemble du latex a également été déterminé (%OF) et comparé au taux d'oxyde de fer de la partie magnétique. Cela permet de vérifier l'homogénéité du latex, ou au contraire d'observer l'hétérogénéité de composition du latex lorsque %OF_{magn} ≠ %OF.²⁶

Par ailleurs, le taux d'oxyde de fer du latex peut également être comparé au taux d'oxyde de fer théorique. Le calcul du taux d'oxyde de fer théorique (%OF_{th}) prend en compte la masse d'oxyde de fer (m_{OF introduit}, en g), la masse de styrène (m_{Styrène}, en g) introduits dans le système et la conversion obtenue par gravimétrie sur le latex en sortie de réacteur (Annexe C, partie IV.1). Il est donné par l'équation 3-3.

$$\%OF_{th} = \frac{m_{OF \text{ introduit}}}{m_{OF \text{ introduit}} + m_{Styrène \text{ introduit}} \times \frac{\text{conversion}}{100}} \times 100 \quad (\text{éq. 3-3})$$

La comparaison entre le taux d'oxyde de fer théorique et expérimental permet de « quantifier » l'instabilité du latex lorsque celle-ci est importante. En effet, elle permet par exemple de renseigner un dépôt d'oxydes de fer ou de coagulum sur les parois et au fond du réacteur.

II.4. Magnétisation à saturation

La réponse magnétique est directement proportionnelle à la magnétisation à saturation (M_S) du matériau. Dans le cas de particules de latex magnétiques, seuls les oxydes de fer possèdent une magnétisation à saturation. La magnétisation à saturation des particules de latex magnétiques dépend alors du taux d'oxyde de fer contenus dans les particules. Celle-ci a été mesurée pour quelques latex présentant de bons résultats en termes de taux de particules magnétiques, de taux d'oxyde de fer dans les particules magnétiques et/ou de taille et dispersion de taille des particules. Les résultats ont été comparés à la magnétisation à saturation des particules commerciales Adembeads, qui est proche de 40 emu g⁻¹.^a

^a Cette valeur est fournie dans les notices des particules Adembeads. Les caractéristiques de ces particules sont décrites dans le Chapitre 1, Partie II.3.

III. Encapsulation par polymérisation en dispersion

Cette partie décrira l'encapsulation de nanoparticules d'oxyde de fer par polymérisation en dispersion du styrène en milieu hydro-alcoolique en présence de deux types de stabilisants : la PVP et le PEGMA. Dans le cas de la PVP, différentes masses molaires sont disponibles mais nous nous concentrerons sur deux masses molaires : $40\,000\text{ g mol}^{-1}$ (PVP K30) et $360\,000\text{ g mol}^{-1}$ (PVP K90). Le PEGMA est également commercialisé avec différentes masses molaires et nous avons choisi de travailler avec un PEGMA de masse molaire $1\,100\text{ g mol}^{-1}$.

Avant de décrire les résultats obtenus en présence d'oxydes de fer, nous allons tout d'abord nous intéresser à l'influence de la polarité du milieu dispersant sur la polymérisation en dispersion du styrène en l'absence d'oxyde de fer. Nous étudierons ensuite la stabilité des oxydes de fer en milieu hydro-alcoolique en présence de PVP, puis de PEGMA. Enfin nous étudierons l'influence de différents paramètres sur la polymérisation en dispersion du styrène en présence d'oxydes de fer, à savoir l'influence de leur modification de surface, de la nature du stabilisant et de l'amorceur, de la concentration en styrène et de l'utilisation d'un agent réticulant.

Les oxydes de fer utilisés tout au long de ces études sont soit "nus" (sans modification de surface), soit modifiés par du MPS. La modification de surface a été effectuée selon le protocole de greffage hydro-alcoolique en milieu acide décrit dans le Chapitre 2 (partie III.1.1). Pour rappel, le greffage est réalisé dans un milieu éthanol/eau à 50/50 en masse à $\text{pH} = 4,5$. Les oxydes de fer modifiés sont lavés et redispersés dans de l'éthanol absolu et la densité de greffage du MPS est de $3,5\text{ }\mu\text{mol m}^{-2}$.

III.1. Polymérisation en dispersion du styrène en milieu hydro-alcoolique

Cette étude a pour but de déterminer les conditions expérimentales permettant d'obtenir des particules de latex monodisperses de diamètre compris entre 500 nm et 1 μm .

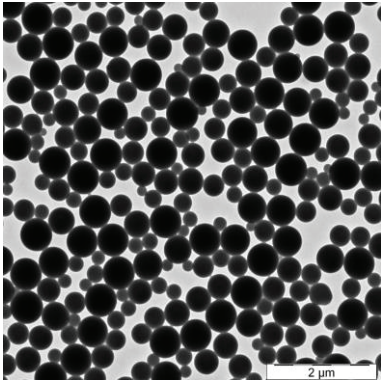
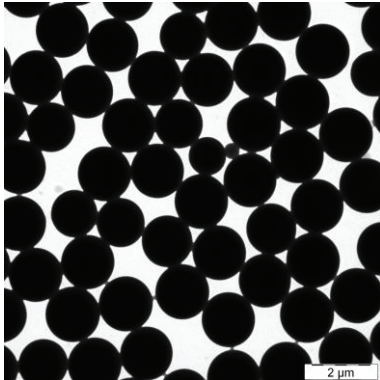
Nous avons choisi de travailler avec le styrène car la polymérisation en dispersion de ce monomère a été très étudiée et que les rapports de réactivité entre le méthacrylate de l'organosilane et du styrène sont proches ($r_{\text{styrène}} = 0,53$; $r_{\text{MMA}} = 0,45$).

De nombreux paramètres permettent de contrôler la taille et la distribution de taille des particules obtenues par polymérisation en dispersion. La polarité du milieu est un paramètre primordial puisque le principe de la polymérisation en dispersion est basé sur les propriétés de solubilisation du monomère et de précipitation du polymère.^{3, 27-29} La concentration en monomère, la concentration en stabilisant ainsi que sa masse molaire et l'utilisation d'un agent réticulant sont également des paramètres influençant la taille et la distribution de taille des particules.^{4, 12, 27, 30} D'après l'étude de Bamnolker et al.¹² portant sur la polymérisation en dispersion du styrène dans des solvants polaires, la dispersion de taille est améliorée lorsque la longueur du stabilisant (PVP de 10 à 360 kg mol^{-1} dans cette étude) est élevée. De même une distribution de taille étroite est obtenue lorsque la concentration en stabilisant est élevée (jusqu'à 3 % en poids par rapport au milieu dispersé).

III.1.1. Polymérisation en dispersion avec un stabilisant de type PVP

La polymérisation a été effectuée dans 100 g de dispersant avec une concentration en styrène de 100 g L⁻¹. La concentration en stabilisant PVP K30 est de 2 % massique par rapport au milieu dispersant et la concentration en amorceur 2,2'-AzobisIsoButyroNitrile (AIBN) est de 1% par rapport au monomère. Le protocole expérimental est détaillé dans l'Annexe B, partie III. Deux compositions ont été testées : une composition à 70/30 en masse d'éthanol/eau et une composition à 90/10. Les résultats obtenus pour ces polymérisations sont décrits dans le Tableau 2.

Tableau 2 : Résultats des polymérisations en dispersion du styrène en présence de PVPK30. Etude de l'influence de la composition du milieu dispersant.*

	CC73	CC81
Proportion massique éthanol/eau	70/30	90/10
Durée de polymérisation	23 h	21 h 15
Conversion (%)	100	87
D_n (nm)	490	1799
D_d	1,19	1,01
Cliché MET		

* Les polymérisations ont été effectuées à 70 °C sous une agitation mécanique à 200 trs min⁻¹ sur 100 g de dispersant, [Styrène] = 100 g L⁻¹, [PVP K30] = 20 g L⁻¹, [AIBN] = 1 g L⁻¹.

On constate très nettement que les particules obtenues par polymérisation en dispersion dans un mélange éthanol/eau de composition massique 90/10 (CC81) sont de taille plus importante que celles obtenues dans un mélange de composition 70/30 (CC73). Par ailleurs, la distribution de taille des particules du latex CC81 est plus étroite que celle du latex CC73.

Ces résultats sont en accord avec les résultats décrits dans la littérature sur la polymérisation en dispersion du styrène en milieu hydro-alcoolique.^{3, 31} En effet, en augmentant la quantité d'eau, on augmente la polarité du solvant, ce qui a pour effet de diminuer la longueur de chaîne critique j_{crit} de précipitation des oligoradicaux. Le nombre de nucléi formés sera plus important et les particules

finales seront donc plus petites. Par ailleurs la valeur de j_{crit} étant plus faible, la concentration en oligoradicaux est plus importante et la nucléation secondaire est alors plus importante, d'où la dispersion de taille plus importante.

Par ailleurs, les particules de latex formées dans un milieu à 70/30 en éthanol/eau étant plus petites, leur surface spécifique est alors plus importante, ce qui augmente la probabilité de capture des oligoradicaux. La cinétique est donc plus rapide dans le milieu éthanol/eau à 70/30 (Figure 8).

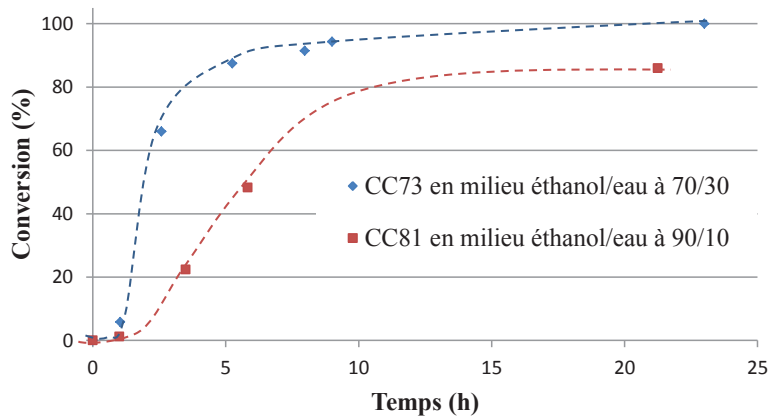


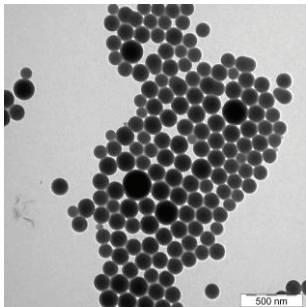
Figure 8 : Effet de la composition du milieu sur la cinétique de polymérisation en dispersion du styrène en présence de PVP K30. CC73 : milieu éthanol/eau à 70/30 en masse et CC81 : milieu éthanol/eau à 90/10

Bien que la polymérisation soit plus lente dans un milieu éthanol/eau à 90/10 en masse en présence de PVP K30, la dispersité de tailles de particules obtenues est plus faible. Par la suite, les polymérisations en présence de PVP seront donc réalisées en milieu éthanol/eau de composition 90/10 en masse.

III.1.2. Polymérisation en dispersion avec un stabilisant PEGMA

La même étude a été effectuée pour le PEGMA, mais celui-ci est introduit à 1 % en masse par rapport au milieu dispersant. En effet, Kobayashi et al.^{31,32} ont montré que les stabilisants réactifs étaient déjà performants à faibles concentrations. Tout comme précédemment, nous avons fait varier la composition du milieu afin d'étudier son influence sur la taille et la distribution de taille des particules. Les résultats des polymérisations sont décrits dans le Tableau 3.

Tableau 3 : Résultats des polymérisations en dispersion du styrène en présence de PEGMA (1100 g mol⁻¹). Etude de l'influence de la composition du milieu dispersant.*

	CC32	CC31
Proportion massique éthanol/eau	70/30	90/10
Durée de polymérisation	18 h	< 1h
Conversion (%)	100	/
D_n (nm)	170	/
D_d	1,03	/
Cliché MET		/

*Les polymérisations ont été effectuées à 70 °C sous agitation mécanique à 200 trs min⁻¹ sur 100 g de dispersant [Styrène] = 100 g L⁻¹, [PEGMA] = 10 g L⁻¹, [AIBN] = 1 g L⁻¹.

Dans le cas de la polymérisation en dispersion dans un milieu éthanol/eau à 90/10 en masse, une déstabilisation est rapidement observée. Le pouvoir stabilisant dépend fortement de la solubilité du stabilisant dans le milieu de polymérisation et les structures peignes formées par le PEGMA ont une meilleure solubilité dans l'eau que dans l'éthanol.³³ Les polymérisations conduites en présence de PEGMA nécessitent donc une quantité d'eau plus importante que celles conduites en présence de PVP. En effet, les études portant sur la composition du milieu en présence de PEGMA s'effectuent souvent entre 10 à 40 % en masse d'eau avec une distribution de taille optimale pour 30% d'eau.^{13, 30, 31}

Dans le cas où la polymérisation a été réalisée dans un milieu éthanol/eau à 70/30, les particules finales sont petites : $D_n = 170$ nm et la distribution de taille est relativement faible (Tableau 3). Par conséquent, la cinétique est rapide (Figure 9) avec une conversion de 80 % après 5 heures de polymérisation et une conversion de 100 % après 15 heures de réaction. Les polymérisations en dispersion du styrène avec du PEGMA en tant que stabilisant s'effectueront donc toujours dans un mélange éthanol/eau 70/30.

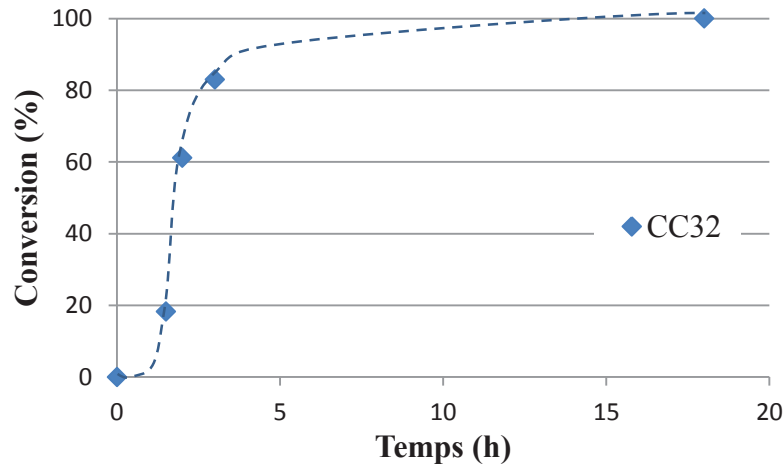


Figure 9 : Cinétique de polymérisation en dispersion du styrène en présence de PEGMA (1100 g mol^{-1}) dans un milieu éthanol/eau à 70/30

Nous avons déterminé la composition du milieu la mieux adaptée à la polymérisation en dispersion du styrène en présence de PVP et de PEGMA en l'absence d'oxyde de fer. Nous allons à présent nous intéresser à la stabilité des particules d'oxydes de fer, modifiés ou non, dans ces différents milieux de polymérisation.

III.2. Tests de stabilité des oxydes de fer en milieu hydro-alcoolique

III.2.1. Stabilité en présence de PVP

Des solutions hydro-alcooliques d'éthanol/eau à 90/10 en masse (milieu de polymérisation) contenant 2 % en masse de stabilisant PVP K30 ou PVP K90 et 1 % d'oxyde de fer ont été préparées. Typiquement pour les oxydes de fer non modifiés : 0,2 g de stabilisant sont dissous dans 9 g d'éthanol et 0,1 g d'eau. 1 g de nanoparticules d'oxyde de fer à 10 % massique dans l'eau (ferrofluide) sont ensuite ajoutés pour obtenir le mélange désiré.

Lorsque les oxydes de fer sont stables dans le milieu, leur taille a été mesurée par DDL, les résultats sont décrits dans le Tableau 4.

Tableau 4 : Résultats des tailles mesurées par DDL des oxydes de fer nus et modifiés MPS dans un milieu hydro-alcoolique éthanol/eau à 90/10 en masse, contenant ou non différentes PVP

Milieu dans lequel est effectuée la mesure	Oxydes de fer nus		Oxydes de fer modifiés MPS	
	D_h (nm)	PDI	D_h (nm)	PDI
Ethanol/eau	32	0,18	95	0,17
Ethanol/eau/PVP K30 ^a	/	/	116	0,13
Ethanol/eau/PVP K90 ^a	/	/	216	0,25

^aLa PVP est introduite à hauteur de 2 % en masse par rapport au milieu hydro-alcoolique

- Stabilité des oxydes de fer nus

Les oxydes de fer nus sont stables dans le milieu éthanol/eau à 90/10 puisque les tailles obtenues par DDL sont similaires à celles mesurées dans l'eau (i.e. $D_h = 30$ nm). En revanche, lorsque le milieu contient de la PVP, les oxydes de fer sont déstabilisés. En effet, pour le mélange contenant de la PVP K30, des petits agrégats sont visibles sur les parois et au fond du flacon (Figure 10). Des agrégats de taille plus importante sont visibles dans le cas de la PVP K90. Les agrégats étant visibles à l'œil nu, aucune analyse DDL n'a été effectuée sur ces dispersions d'oxyde de fer.



En présence de PVP K30



En présence de PVP K90

Figure 10 : Nanoparticules d'oxydes de fer nus dispersées dans un milieu éthanol/eau 90/10 en présence de PVP K30 (à gauche) et de PVP K90 (à droite)

La présence de PVP dans le milieu hydro-alcoolique déstabilise donc le système. Des interactions entre la PVP et des cations ferreux et ferriques³⁴ ou des oxydes métalliques^{35, 36} ont déjà été reportées dans la littérature. Par ailleurs, la PVP est connue pour s'adsorber à la surface de certains oxydes métalliques (silice, alumine ou même oxyde de fer).³⁷⁻⁴² D'après ces différentes études, cette adsorption est due à des interactions de complexation entre les cations métalliques (acide de Lewis faible) et le groupement carbonyle de la PVP (base de Lewis) et/ou à des interactions par liaison hydrogène entre les groupements hydroxyle de surface et le groupement carbonyle de la PVP.

Par ailleurs, il a été également reporté que la PVP pouvait induire la déstabilisation de nanoparticules de silice cationiques en milieu aqueux.⁴³ Deux mécanismes de déstabilisation ont été évoqués en fonction de la concentration en nanoparticules et en stabilisant : il peut s'agir d'une déstabilisation par déplétion ou par pontage.

Bien que ces phénomènes soient évoqués dans la littérature, Horak et al.⁶ ont utilisé de la PVP K30 pour encapsuler des oxydes de fer non modifiés par polymérisation en dispersion sans soulever ce problème d'agrégation. Toutefois aucun cliché MET des particules obtenues n'est disponible et le taux d'oxyde de fer dans les particules ne dépasse pas 7 % en masse.

Lorsque l'oxyde de fer n'est pas modifié, le stabilisant semble donc interagir fortement avec celui-ci, entraînant sa déstabilisation. Cette déstabilisation est d'autant plus visible que la masse molaire de la PVP est élevée.

- Stabilité des oxydes de fer modifiés

Les nanoparticules d'oxydes de fer greffées MPS sont quant à elles stables en milieu hydro-alcoolique contenant ou non de la PVP. Les mesures de taille par DDL montrent que les particules sont dans tous les cas légèrement agrégées (Tableau 4).

Le diamètre des particules d'oxyde de fer greffé est supérieur à celui des particules nues suggérant que de petits agrégats d'oxydes de fer modifiés ont été formés lors du greffage ($D_h = 95$ nm).

Alors que les oxydes de fer nus sont totalement déstabilisés en présence de PVP K30, celle-ci n'influence pas de manière significative l'état de dispersion des oxydes de fer modifiés en milieu hydro-alcoolique. En effet, la taille des agrégats est de 116 nm en présence de PVP K30 (Tableau 4). Ces différences sont négligeables étant donnée la dispersion de taille (PDI compris entre 0,13 et 0,17).

En revanche, la présence de PVP K90 provoque une nette augmentation du diamètre hydrodynamique et du PDI, indiquant la formation d'agrégats d'oxyde de fer d'environ 200 nm de diamètre.

En résumé, les oxydes de fer nus ne peuvent être utilisés en polymérisation en dispersion à cause d'une agrégation importante, résultant vraisemblablement d'interactions entre les particules d'oxyde de fer et la PVP (complexe de coordination, liaisons hydrogène) entraînant la déstabilisation du système. La présence de MPS sur les oxydes de fer modifiés limite ces interactions et les oxydes de fer modifiés sont donc stables dans le milieu de polymérisation, bien qu'ils soient sous forme d'agrégats de 100 à 200 nm de diamètre en fonction du type de PVP utilisé.

III.2.2. Tests de stabilité des oxydes de fer en présence de PEGMA

Des tests similaires ont été effectués avec le stabilisant PEGMA ($1\ 100\ \text{g mol}^{-1}$), dans un mélange éthanol/eau 70/30 en masse correspondant au milieu de polymérisation. Les rapports massiques des autres composants sont conservés : 2 % de stabilisant et 1% d'oxyde de fer nus par rapport au milieu dispersé. Les résultats des tests de stabilité avec et sans modification de surface sont résumés dans le Tableau 5.

Tableau 5 : Résultats des tailles mesurées par DDL des oxydes de fer nus et modifiés MPS dans un milieu hydro-alcoolique éthanol/eau à 70/30 en masse, contenant ou non du PEGMA

	Oxydes de fer nus		Oxydes de fer modifiés MPS	
	D_h (nm)	PDI	D_h (nm)	PDI
Ethanol/eau	24	0,22	90	0,15
Ethanol/eau/PEGMA ^a	36	0,41	101	0,19

^aLe PEGMA est introduit à hauteur de 2 % en masse par rapport au milieu hydro-alcoolique

Dans le cas des oxydes de fer nus, la différence entre les PDI avec et sans PEGMA est importante. En observant la distribution de taille donnée par la DDL, une distribution bimodale est visible lorsque les oxydes de fer sont dispersés en présence de PEGMA. La première population (80 %^b) correspond à la taille des oxydes de fer en milieu hydro-alcoolique (i.e. 24 nm) tandis que le deuxième pic (20 %^b) correspond à une population de taille plus importante (environ 350 nm) (Figure 11), ce qui indique la formation de petits agrégats d'oxyde de fer/PEGMA.

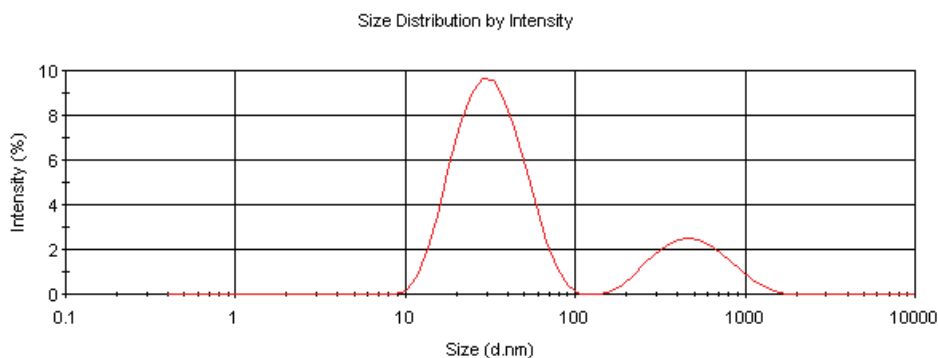


Figure 11 : Distribution de taille en intensité obtenue par DDL des oxydes de fer nus en présence de PEGMA en milieu hydro-alcoolique

Lorsque l'oxyde de fer est modifié par le MPS, il n'y a pas de différence notable entre les tailles de particules ou leur distribution de taille en présence et en absence de PEGMA.

Bien que dans ce cas l'oxyde de fer nu soit stable en présence du stabilisant, la présence de PEGMA induit la formation d'une petite quantité d'agrégats d'environ 350 nm de diamètre. La modification de surface par le MPS permet à nouveau de limiter les interactions entre les oxydes de fer et le PEGMA, puisque dans ce cas la taille des agrégats est la même en présence ou non de PEGMA (100 nm). Ces résultats sont donc similaires à ceux obtenus pour la PVP. Ces observations sont en accord avec l'étude de McFarlane et al.⁴³, dans laquelle il a été montré que le PEGMA (de masses molaires 35 et 400 kg mol⁻¹) entraînait une déstabilisation moins importante que la PVP (de masses molaires 55 et 360 kg mol⁻¹) dans le cas de nanoparticules de silice cationiques en suspension dans l'eau.

- **Conclusion des tests de stabilité**

Les oxydes de fer nus ne peuvent être utilisés en polymérisation en dispersion en présence de PVP à cause d'une agrégation importante. Ceci résulte vraisemblablement d'interactions de complexation fortes entre les groupements carbonyle de la PVP (base de Lewis) et les cations Fe²⁺ et Fe³⁺ présents à la surface des particules d'oxyde de fer (acide de Lewis faible). Il est également possible que la PVP forme des liaisons hydrogène avec les groupements hydroxyle de surface. La présence de MPS à la surface des particules inorganiques limite ces interactions et les oxydes de fer modifiés sont donc stables dans le milieu de polymérisation, même si le greffage du MPS induit un léger phénomène d'agrégation.

^b Pourcentage en intensité donné par l'appareil DDL

La présence de PEGMA induit également une légère agrégation des oxydes de fer nus, qui restent néanmoins stables dans le milieu de polymérisation. Tout comme pour la PVP, le PEGMA n'a pas d'influence sur l'oxyde de fer modifié, qui est sous forme d'agrégats d'environ 100 nm après greffage du MPS.



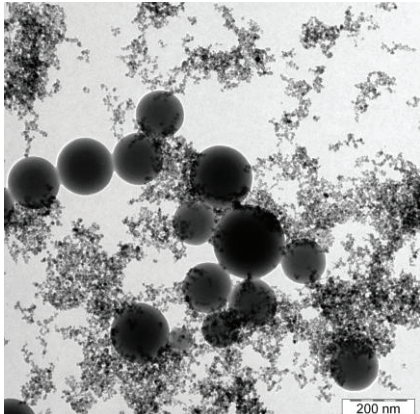
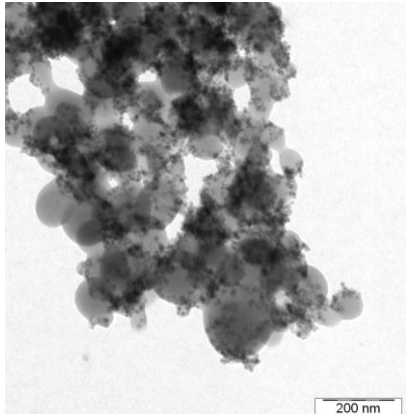
III.3. Polymérisation en dispersion en milieu hydro-alcoolique en présence d'oxydes de fer

Nous avons vu que les oxydes de fer non modifiés étaient stables uniquement en présence de PEGMA, tandis que les oxydes de fer modifiés pouvaient être utilisés avec les deux stabilisants. Nous allons à présent étudier l'influence de différents paramètres sur la polymérisation en dispersion du styrène en présence d'oxydes de fer, à savoir l'influence de la modification de surface, de la nature du stabilisant et de l'amorceur, de la concentration en monomère et de l'utilisation d'un agent réticulant.

III.3.1. *Influence de la modification de surface*

Le PEGMA a été choisi pour cette étude car il s'agit du seul stabilisant testé n'induisant pas de déstabilisation des oxydes de fer nus, bien qu'il induise une légère agrégation. Les polymérisations en dispersion ont donc été effectuées dans un milieu éthanol/eau à 70/30 en présence d'oxydes de fer non modifiés (CC33) et en présence d'oxydes de fer modifiés (CC92). Le stabilisant est tout d'abord solubilisé dans un mélange d'éthanol et d'eau. Après solubilisation complète du stabilisant, les oxydes de fer sont ajoutés dans le milieu. Les quantités de styrène et d'AIBN sont les mêmes que pour les polymérisations sans oxyde de fer. La quantité de stabilisant a été fixée à 10 g L⁻¹ pour les oxydes de fer nus pour limiter les phénomènes d'agrégation (CC33) et à 20 g L⁻¹ pour les oxydes de fer modifiés (CC92). Les résultats des deux polymérisations sont résumés dans le Tableau 6.

Tableau 6 : Influence de la modification de surface des oxydes de fer (nus ou modifiés MPS) lors de la polymérisation en dispersion du styrène conduite en présence de PEGMA. Milieu dispersant : éthanol/eau, 70/30 en masse.

	CC33	CC92
Type d'OF	Nus	Modifiés MPS
Durée de polymérisation	23 h	14 h 30
Conversion (%)	100	83
Aspect macroscopique		
Cliché MET ^a		

* Les polymérisations ont été effectuées à 70 °C, avec une agitation mécanique à 200 trs min⁻¹ et [Styrène] = 100 g L⁻¹, [OF modifiés] = 10 g L⁻¹, [Stabilisant] = 10 ou 20 g L⁻¹ et [AIBN] = 1 g L⁻¹.

^a Il s'agit de clichés MET du latex total pour CC33 et de la partie magnétique pour CC92. La partie magnétique est obtenue après 3 lavages magnétiques avec un temps de séparation de 5 minutes.

Les latex finaux sont d'aspect homogène, mais celui obtenu en présence d'oxydes de fer non modifiés sédimente après une nuit (Figure 12). La partie magnétique du latex CC92 a été isolée après 3 lavages magnétiques avec un temps de séparation de 5 minutes, tandis que le latex CC33, ne permettant pas une séparation magnétique nette, a été analysé dans sa totalité.



Figure 12 : Latex final CC33 directement après la polymérisation (a) et après une nuit (b)

Les clichés MET du latex CC33 montrent que l'oxyde de fer se trouve en dehors des particules, comme s'il avait été spectateur durant la polymérisation. Aucune affinité particulière entre les oxydes de fer nus et le polystyrène n'a été observée.

En revanche les clichés MET de la partie magnétique du latex CC92 montrent clairement une certaine affinité entre les oxydes de fer modifiés et les particules de polymère. Bien que le latex soit d'aspect homogène, les clichés MET suggèrent que les particules de latex magnétiques sont agrégées, provoquant un plafonnement de la conversion à 80 %. Les clichés MET montrent également que les nanoparticules semblent plutôt localisées à l'interface des particules de polymère. Même après la modification de surface des oxydes de fer, il semblerait que le stabilisant soit adsorbé sur les nanoparticules d'oxyde de fer, augmentant ainsi leur hydrophilie et les expulsant vers la surface des particules. Elles semblent néanmoins ancrées en surface et donc partiellement enterrées dans les particules comme schématisé sur la Figure 13. Ces deux expériences montrent donc qu'une modification de surface des oxydes de fer est nécessaire pour l'incorporation des oxydes de fer dans les particules de latex. Toutefois le latex obtenu ne présente qu'une faible réponse magnétique (temps de séparation de 5 minutes) et la fraction magnétique est composée de petites particules agrégées. Nous allons donc étudier l'influence de différents paramètres pour tenter de remédier à ces inconvénients.

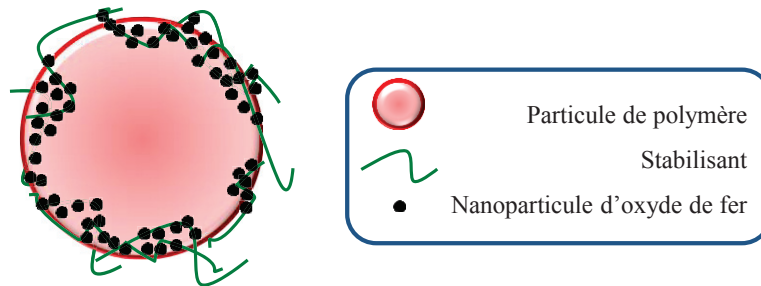



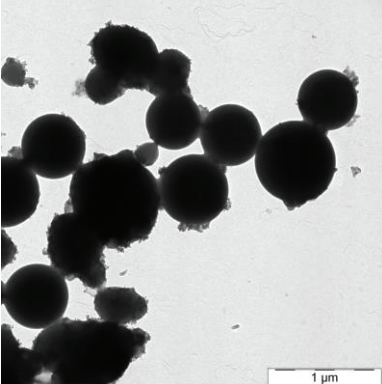
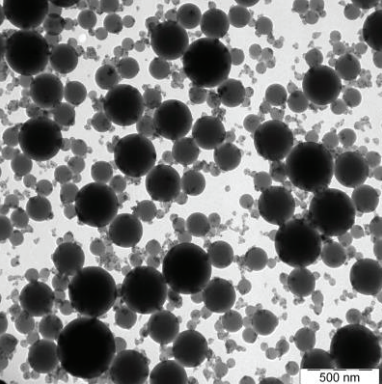
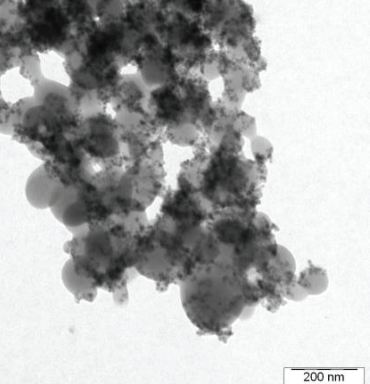


Figure 13 : Représentation schématique d'une particule de latex magnétique avec les oxydes de fer en forte interaction avec le stabilisant et par conséquent proches de la surface des particules de polymère

III.3.2. Influence de la nature du stabilisant

Une série d'expériences a été effectuée en faisant varier la nature du stabilisant et en conservant par ailleurs les mêmes conditions, i.e. 100 g d'un mélange éthanol/eau avec [Styrène] = 100 g L⁻¹, [OF modifiés] = 10 g L⁻¹, [Stabilisant] = 20 g L⁻¹ et [AIBN] = 1 g L⁻¹. Les résultats obtenus pour ces synthèses sont résumés dans le Tableau 7.

Tableau 7 : Influence de la nature du stabilisant lors de la polymérisation en dispersion du styrène conduite sur 100 g d'un milieu dispersant constitué d'un mélange d'éthanol et d'eau, dont la composition massique dépend de la nature du stabilisant.*

	CC113	CC93	CC92
Stabilisant	PVP K30	PVP K90	PEGMA
Rapport éthanol/eau	90/10	90/10	70/30
Durée de polymérisation	17 h 20	14 h 30	14 h 30
Conversion (%)	^b	48	83
Aspect du latex			
D_n (nm)	690	270 ^c	/
D_d	1,06	1,30 ^c	/
Cliché MET ^a			

* Les polymérisations ont été réalisées à 70 °C, avec une agitation mécanique à 200 trs min⁻¹. [Styrène] = 100 g L⁻¹, [OF modifiés] = 10 g L⁻¹, [Stabilisant] = 20 g L⁻¹ et [AIBN] = 1 g L⁻¹.

^a Les clichés MET ont été réalisés sur les fractions magnétiques des latex obtenues après 3 lavages magnétiques avec un temps de séparation de 5 minutes, sauf pour le cas de CC93 où la séparation magnétique était trop lente. ^b La conversion n'est pas fiable étant donné l'état d'agrégation des latex. ^c Dans ce cas, seules les particules ayant un diamètre supérieur à 90 nm ont été prises en compte dans la détermination du diamètre moyen et de la dispersité de taille.

L'aspect macroscopique du latex à la sortie du réacteur varie beaucoup d'un échantillon à l'autre. Celui stabilisé par la PVP K30 contient de nombreux agrégats et le latex est nettement séparé en deux parties : une partie laiteuse a priori sans oxyde de fer et une partie plus foncée, contenant des oxydes de fer. Dans le cas de la PVP K90 et du PEGMA, les deux latex sont d'aspect macroscopique homogène. Ces deux stabilisants semblent donc mieux convenir pour assurer la stabilité des particules de latex.

Afin d'observer uniquement la partie magnétique de ces trois latex en MET, des séparations magnétiques ont été effectuées. Les réponses magnétiques varient beaucoup d'une expérience à l'autre. Pour les expériences conduites en présence de PEGMA et de PVP K30 (respectivement CC92 et CC113), la réponse magnétique est relativement bonne et une séparation magnétique à 5 minutes a pu être effectuée. Cependant la masse de particules magnétiques est faible et ne permet pas une

détermination du taux d'oxyde de fer. Dans le cas de la PVP K90 (CC93), la séparation magnétique est beaucoup plus lente et les analyses MET ont finalement été effectuées sur l'ensemble du latex.

Dans les trois cas, la surface des particules n'est pas régulière et des petites particules contenant des oxydes de fer sont visibles à leur surface. Ceci s'explique d'une part par la nature hydrophile du stabilisant, qui est localisé à la surface des particules et d'autre part par l'interaction entre le stabilisant et les oxydes de fer. Le stabilisant étant adsorbé sur les nanoparticules d'oxyde de fer, il provoque la migration des oxydes de fer vers la surface comme décrit précédemment dans le cas du PEGMA.

Dans le cas de l'utilisation de la PVP K30 (CC113), des agrégats visibles à l'œil nu sont présents dans le latex, indiquant une faible stabilité de la suspension. Les observations MET confirment la présence d'agrégats macroscopiques, mais montrent également l'existence de particules individuelles de l'ordre du micron ($D_n = 1380$ nm). La présence d'oxydes de fer modifiés dans le milieu de polymérisation a donc un impact non négligeable sur la stabilité des particules obtenues car en l'absence d'oxyde de fer, le latex obtenu (CC81) était stable avec des particules de 1800 nm de diamètre.

Pour la polymérisation en dispersion conduite en présence de PEGMA, de plus petites particules agrégées sont obtenues, mais du fait de leur agrégation, leur taille n'a pas pu être déterminée.

Pour rappel, la vitesse de séparation magnétique dépend du diamètre et de la magnétisation à saturation des particules (Chapitre 1, page 110, équation 1-1). C'est donc la présence d'agrégats dans ces deux cas, qui induit une réponse magnétique en 5 minutes. La PVP K30 et le PEGMA ne semblent donc pas offrir une stabilisation suffisante.

En revanche, en présence de PVP K90, aucune agrégation n'a été observée. En raison de l'absence de séparation magnétique, les clichés MET montrent la présence à la fois de grosses particules ($D_n = 690$ nm) et de plus petites ne contenant pas ou peu d'oxyde de fer.. La PVP K90 permet l'obtention d'un latex stable, mais n'ayant pas de réponse magnétique.

En résumé, le PEGMA conduit à des particules de latex de petite taille (< 200 nm) et fortement agrégées. Il ne sera donc pas retenu pour la suite de l'étude. L'utilisation de la PVP K90 permet l'obtention d'un latex stable avec des tailles de particules d'environ 270 nm, mais aux propriétés magnétiques faibles. Enfin, la PVP K30 permet d'obtenir des particules de 1400 nm de diamètre, présentant une réponse magnétique acceptable mais le latex est instable. Nous allons à présent essayer d'améliorer la stabilité de ce latex via l'utilisation d'un amorceur chargé.

III.3.3. Influence de la nature de l'amorceur

L'amorceur chargé étudié dans cette partie est le 2,2'-Azobis(2-méthylpropionamide) ou AIBA (Figure 14). Il peut apporter une stabilisation électrostatique aux particules en plus de la stabilisation stérique offerte par la PVP K30. Les conditions de la polymérisation amorcée par l'AIBA (CC117) sont similaires^c à celles de la polymérisation amorcée par l'AIBN (CC113) et les résultats obtenus sont comparés à CC113 dans le Tableau 8.

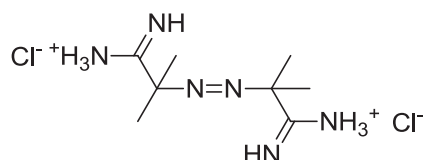
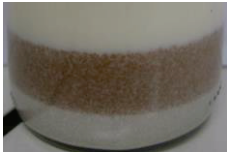

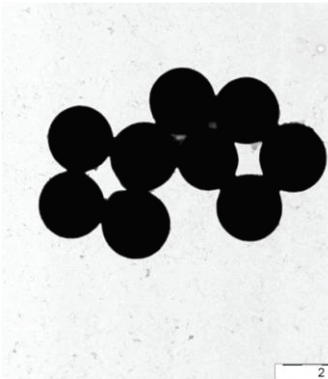
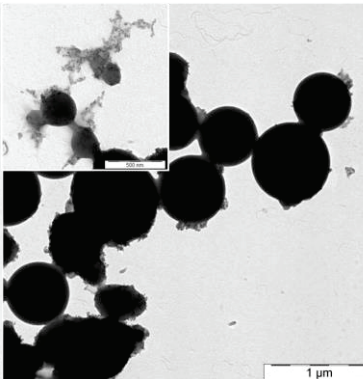


Figure 14 : Formule chimique de l'amorceur AIBA

Tableau 8 : Influence de la nature de l'amorceur lors de la polymérisation en dispersion du styrène en présence d'oxydes de fer modifiés par le MPS et de PVP K30.*

	CC117, avec AIBA	CC113, avec AIBN
Durée de polymérisation	17 h	17 h 20
Conversion (%)	^a	^a
Aspect Macroscopique		
D_n^b (nm)	1380	690
D_d^b	1,01	1,06
Clichés MET ^b		

* Les polymérisations ont été effectuées à 70 °C sur 100 g d'un milieu dispersant constitué d'un mélange d'éthanol et d'eau à 90/10 en masse. [Styrène] = 100 g L⁻¹, [OF modifié MPS] = 10 g L⁻¹, [PVP K30] = 20 g L⁻¹.

^a Les conversions ne sont pas fiables étant donné l'état d'agrégation des latex. ^b Les clichés MET ont été réalisés sur les fractions magnétiques des latex obtenues après 3 lavages magnétiques avec un temps de séparation de 5 minutes.

^c Il existe quelques différences entre les deux protocoles expérimentaux puisque dans le cas de l'AIBA, celui-ci ne peut pas être dissout dans le styrène. L'AIBA est donc dissout dans l'eau et introduit après le monomère (cf. Annexe B, partie III.)

L'utilisation d'AIBA n'a pas permis d'améliorer la stabilité du latex (Tableau 8). Les conversions et le taux de particules magnétiques n'ont pas été déterminés étant donné le fort état d'agrégation du latex. Cependant, sur les clichés MET de CC117, la surface des particules semble plus lisse. Afin d'obtenir davantage d'informations sur la morphologie des particules, des coupes ultraminces ont été préparées après inclusion de ces dernières dans une résine, puis observées par MET (Figure 15).

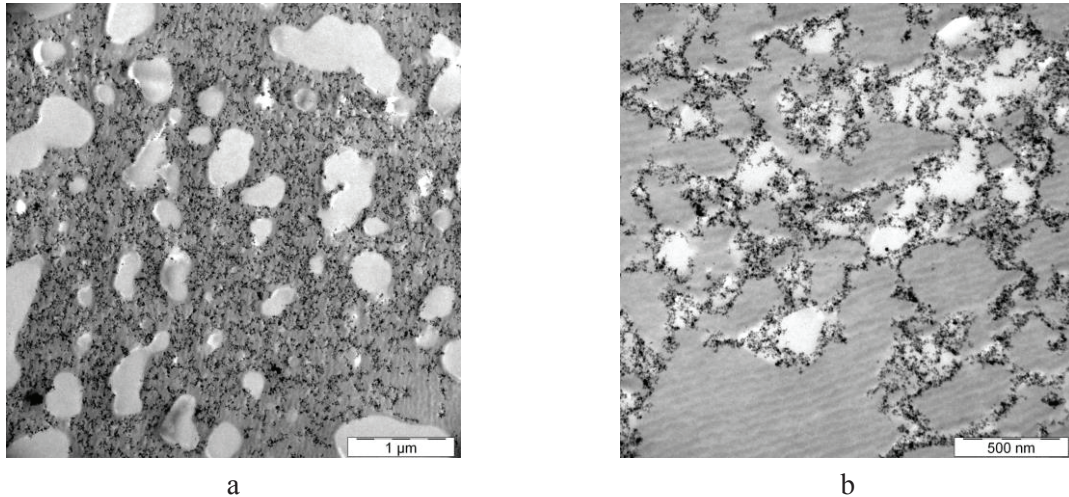


Figure 15 : Clichés MET de coupes ultraminces de la partie magnétique des latex obtenus à l'issue de la polymérisation en dispersion du styrène amorcée par de l'AIBA (a) et de l'AIBN (b). La partie magnétique a été obtenue après 3 lavages magnétiques avec un temps de séparation de 5 minutes

Les parties en gris clair correspondent aux particules de PS, et les parties grises un peu plus foncées et striées correspondent à la résine époxy dans laquelle les particules ont été enrobées. Enfin, les petits points noirs sont les nanoparticules d'oxyde de fer. Dans le cas de l'utilisation de l'AIBA, tout l'oxyde de fer se trouve à l'extérieur des particules de PS. Nous supposons qu'il y a eu répulsion électrostatique entre les charges de l'amorceur et celles de l'oxyde de fer, mais cette hypothèse n'a pas été vérifiée.

Pour les polymérisations amorcées par l'AIBN, les nanoparticules semblent effectivement incluses dans les particules de PS, bien qu'elles soient plutôt localisées vers la surface des particules, ce qui confirme l'hypothèse précédemment avancée (Figure 13).

Dans la suite de cette étude, toutes les polymérisations en dispersion seront donc effectuées avec de l'AIBN comme amorceur. La PVP K30 ne permettant pas l'obtention d'un latex stable, le stabilisant utilisé dans la suite de l'étude sera la PVP K90. L'objectif est à présent d'augmenter la réponse magnétique du latex obtenu en présence de PVP K90 et également d'encapsuler les oxydes de fer au cœur des particules.

III.3.4. Influence de la concentration en styrène

La polymérisation en présence de PVP K90 n'a pas permis l'obtention d'une fraction magnétique quantifiable (CC93). Le but de cette étude est donc d'augmenter le taux de particules magnétiques en augmentant la quantité d'oxyde de fer par rapport au styrène. En effet, il est a priori possible d'augmenter le taux d'oxyde de fer dans les particules magnétiques soit en diminuant la quantité de monomère, soit en augmentant la quantité d'oxyde de fer. Nous avons choisi la première option afin de limiter les problèmes de stabilité liés à une augmentation de la concentration en oxyde de fer. Une polymérisation en dispersion a donc été effectuée dans les conditions suivantes (CC143) : 100 g d'un mélange éthanol/eau à 90/10 en masse, avec [Styrène] = 50 g L⁻¹, [OF modifiés] = 10 g L⁻¹, [PVP K90] = 20 g L⁻¹ et [AIBN] = 0,5 g L⁻¹. La concentration en amorceur est légèrement inférieure à celle utilisée précédemment pour conserver le rapport [Styrène]/[AIBN] = 10.

Après 14 heures de réaction, la conversion n'est que de 2 %. L'expérience a été reconduite en doublant la concentration d'AIBN (1 g L⁻¹) mais sans succès. Il semblerait donc que la concentration en styrène soit trop faible pour permettre la formation de particules de latex. Cette « inhibition » de la polymérisation pourrait être due à la quantité importante de stabilisant utilisée par rapport au monomère, qui est respectivement de 2 g pour 5 g. Il est possible que les oligoradicaux en croissance réagissent essentiellement avec le stabilisant par réaction de transfert, prévenant ainsi la formation de particules. Les polymérisations en dispersion étant rarement conduites à des concentrations en styrène aussi faibles, il est difficile de trouver des exemples dans la littérature. En effet les études portant sur l'influence de ce paramètre démarrent généralement à partir de 10 % en volume de monomère,^{3, 4, 12, 44} Seuls Paine et al.⁴ ont étudié l'influence de la concentration en monomère lors de la polymérisation en dispersion du styrène avec la PVP K30 en présence d'un co-stabilisant de type tensioactif (AOT et Triton N-57^d). Lorsque des taux de solide faibles sont visés (i.e. environ 5 % en volume, comme dans notre cas), les tailles des particules obtenues fluctuent beaucoup : deux populations de particules sont observables mais avec des tailles non reproductibles. Par ailleurs, nous nous trouvons dans des conditions moins favorables puisque nous travaillons avec de la PVP K90, qui possèdent une masse molaire quasiment quatre fois plus élevée que la PVP K30 et à des concentrations également plus élevées (20 g L⁻¹ au lieu de 15,6 g L⁻¹).

La diminution de la concentration en styrène dans le but d'augmenter le taux de particules magnétiques n'est donc pas une solution viable. Nous nous sommes alors intéressés à l'incorporation des nanoparticules d'oxyde de fer au cœur des particules plutôt qu'en surface, qui est un critère essentiel pour l'application visée. De plus, cette incorporation au cœur des particules permettrait d'augmenter le taux d'oxyde de fer dans les particules magnétiques et diminuer ainsi le temps de réponse magnétique. Nous avons donc voulu piéger physiquement les oxydes de fer dans les particules et pour cela, nous nous sommes donc intéressés à l'influence de l'ajout d'un agent réticulant.

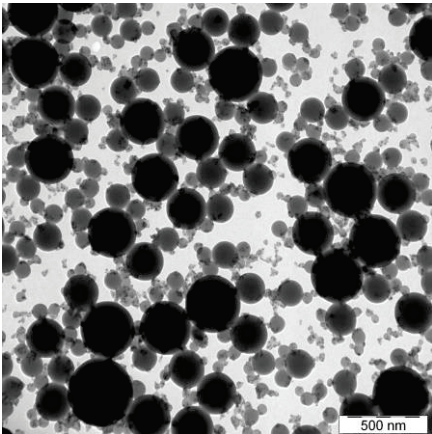
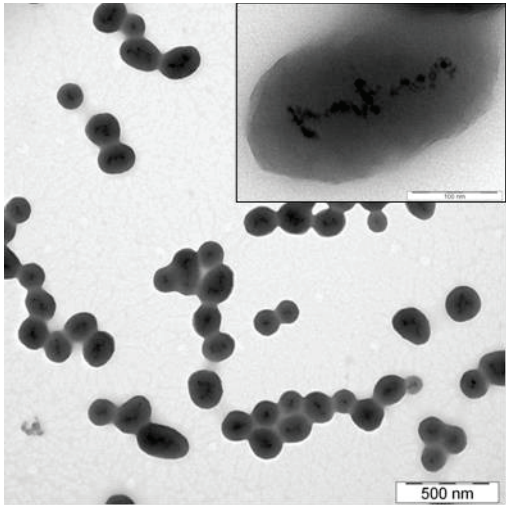
^d AOT est le non commercial d'un tensioactif anionique correspond à un dioctyle sulfococinate de sodium et le Triton N-57 correspond à un tensioactif non ionique de type éthoxylate de nonylphénol.

III.3.5. Influence d'un réticulant

Dans l'étude de Xu et al.⁴⁵ portant sur l'encapsulation de clusters d'oxydes de fer d'environ 180 nm, (obtenus par voie solvothermale), deux paramètres ont été étudiés pour parvenir à encapsuler ces agrégats par polymérisation en émulsion et former ainsi des particules présentant différentes morphologies. Ces paramètres sont le rapport [OF modifiés MPS]/[Styrène] et la concentration en réticulant, le divinylbenzène (DVB). Par ailleurs, des modifications de la morphologie des particules de polystyrène obtenues par polymérisation en dispersion ont également été reportées en faisant varier ces mêmes paramètres.^{28,44} Le rapport [OF modifiés MPS]/[Styrène] ne pouvant être aisément modifié dans le cas de la polymérisation en dispersion, nous avons choisi d'étudier l'influence du réticulant DVB.

Les résultats des polymérisations en dispersion avec et sans DVB sont résumés dans le Tableau 9.

Tableau 9 : Polymérisations en dispersion du styrène conduites avec et sans réticulant DVB.*

	CC93	CC205
DVB	/	5 g L ⁻¹
Durée de polymérisation	14 h 30	21 h 40
Conversion (%)	48	100
D_n (nm) ^a	273	180
D_d ^a	1,30	1,07
Cliché MET ^a		

*Les polymérisations ont été conduites sur 100 g de dispersant éthanol/eau à 90/10 en masse avec [Styrène] = 100 g L⁻¹, [OF modifiés] = 10 g L⁻¹, [PVP K90] = 20 g L⁻¹ et [AIBN] = 1 g L⁻¹.

^aDans le cas de CC93, l'analyse porte sur le latex total, tandis que dans le cas de CC205, l'analyse porte sur la fraction magnétique du latex, obtenue après 3 lavages magnétiques avec un temps de séparation de 5 minutes.

Les clichés MET du Tableau 9 montrent que l'utilisation de DVB a une influence importante sur la morphologie, la taille et la distribution de taille des particules formées. Celles-ci sont plus petites et plus homogènes en taille. Par ailleurs, on observe une quantité non négligeable de particules fusionnées (par 2 ou 3 ou des chaînes de particules). Enfin, les nanoparticules d'oxyde de fer sont localisées au cœur des particules. Cela provient vraisemblablement du fait que le DVB diminue la

mobilité moléculaire par des réactions de réticulation de chaînes, empêchant ainsi l'oxyde de fer de migrer vers la surface des particules à cause de son interaction avec le stabilisant. Cependant il y a peu de nanoparticules d'oxyde de fer au cœur des particules. En effet, d'après l'analyse ATG, le taux d'oxyde de fer dans les particules n'est que de 12 %, ce qui conduit à une réponse magnétique trop faible (5 minutes de temps de séparation).

Néanmoins l'utilisation de DVB apparaît être une voie prometteuse permettant l'encapsulation de nanoparticules au cœur des particules de latex par polymérisation en dispersion en présence d'oxydes de fer modifiés MPS.

III.4. Conclusion

Une étude préliminaire sur la polymérisation en dispersion du styrène en présence de PVP K30 et de PEGMA a permis de déterminer la composition du milieu dispersant conduisant à l'obtention de particules monodisperses dans la gamme de tailles désirée. Comme attendu, la taille des particules diminue avec la polarité du milieu dans le cas de la PVP K30, tandis que la distribution de taille des particules augmente avec la teneur en eau. Un mélange éthanol/eau de composition 90/10 en masse semble donc mieux adapté pour former des particules de taille micronique de faibles dispersités en présence de PVP. Les particules obtenues dans ces conditions ont un diamètre d'environ 1800 nm et une dispersité de taille de 1,01. En revanche dans le cas du PEGMA, il est nécessaire d'augmenter la teneur en eau dans le milieu afin d'obtenir un latex stable probablement en raison du faible pouvoir stabilisant des polymères de structure peigne générés *in situ* en présence d'une forte teneur en éthanol. Les polymérisations seront donc effectuées par la suite dans un mélange éthanol/eau de composition 70/30 en masse. Les particules formées dans ces conditions possèdent un diamètre de 170 nm et un D_d de 1,03.

Les études de stabilité en présence de la PVP K30 ou de la PVP K90 ont permis de mettre en évidence une forte interaction du stabilisant avec la surface des oxydes de fer. Ces interactions conduisent à la formation d'agrégats macroscopiques lorsque les oxydes de fer ne sont pas modifiés. La modification de surface par du MPS permet de limiter ce phénomène et d'obtenir des oxydes de fer stables dans le milieu de polymérisation. L'étude de stabilité conduite avec le PEGMA a montré que les interactions stabilisant/oxydes de fer étaient moins fortes dans ce cas et que la polymérisation en dispersion pouvait donc être effectuée en présence d'oxydes de fer nus ou modifiés.

Une expérience préliminaire effectuée en présence d'oxydes de fer nus a clairement mis en évidence que le polymère en croissance n'avait pas d'affinité pour la surface des particules d'oxyde de fer lorsque celles-ci ne sont pas modifiées. En revanche, après modification de surface par le MPS, l'oxyde de fer se trouve partiellement encapsulé, localisé proche de la surface des particules de latex. En effet, la copolymérisation des fonctions méthacrylate du MPS avec le styrène permet l'incorporation des oxydes de fer dans les particules. Toutefois l'adsorption du stabilisant sur les oxydes de fer conduit ces derniers à se situer vers la surface des particules.

En faisant varier la nature du stabilisant (PVP versus PEGMA), nous avons constaté que l'utilisation de PEGMA conduisait à la formation de petites particules agrégées. L'utilisation de PVP K90 a permis l'obtention d'un latex stable, avec des particules bien définies, mais ne présentant pas de réponse magnétique. L'utilisation de PVP K30 a quant à elle permis l'obtention de particules de taille importante, mais le latex était instable.

L'utilisation d'un amorceur chargé (AIBA) afin d'améliorer la stabilité du latex obtenu avec la PVP K30 a conduit à l'expulsion des oxydes de fer vers la phase continue, et n'a pas permis par ailleurs d'améliorer la stabilité du latex. Ce phénomène peut être dû à une répulsion électrostatique entre l'amorceur et les oxydes de fer, mais cette hypothèse n'a pas été vérifiée.

Après avoir choisi de travailler avec la PVP K90 et l'AIBN, la concentration en monomère a ensuite été diminuée afin d'augmenter la réponse magnétique du latex. Mais une diminution importante de la concentration en monomère favorise vraisemblablement la réaction des oligoradicaux avec le stabilisant, empêchant ainsi une nucléation efficace des particules.

Enfin l'utilisation du réticulant DVB a été étudiée pour permettre l'incorporation des oxydes de fer au cœur des particules. En effet, nous espérons ainsi diminuer la mobilité des chaînes, et prévenir l'expulsion des oxydes de fer vers la surface. Des particules de latex magnétiques stables ont effectivement été synthétisées, mais la réponse magnétique reste faible car elles ne contiennent que 12 % d'oxydes de fer. Cependant, cette voie mérite d'être explorée si l'on désire obtenir des particules magnétiques par polymérisation en dispersion.

D'une manière générale la polymérisation en dispersion en présence d'oxydes de fer n'est pas propice à l'obtention de particules magnétiques riches en oxydes de fer, notamment à cause des interactions entre le stabilisant et les oxydes de fer. Nous avons par conséquent orienté notre étude vers un procédé d'encapsulation sans stabilisant stérique : la polymérisation en émulsion.

IV. Encapsulation par polymérisation en émulsion

Cette étude comporte trois volets : nous montrerons tout d'abord l'intérêt d'une fonctionnalisation de surface des oxydes de fer pour leur encapsulation par polymérisation en émulsion. Nous étudierons ensuite la polymérisation en émulsion du styrène en présence d'oxydes de fer modifiés et nous présenterons l'influence de différents paramètres, tels que le type et la concentration en tensioactif ainsi que la concentration en styrène, sur la taille, la dispersion de taille et le taux de particules magnétiques des latex obtenus. Nous terminerons notre étude par la polymérisation en émulsion du méthacrylate de méthyle (MMA) en étudiant l'influence de la concentration en tensioactif et en monomère ainsi que l'influence du procédé de dispersion des oxydes de fer dans le milieu de

polymérisation sur la taille et dispersion de taille des particules, ainsi que sur la réponse magnétique du latex et sa fraction magnétique.

IV.1. Nécessité d'une modification de surface

Comme dans le cas de la polymérisation en dispersion, une première expérience de polymérisation en émulsion a été conduite en présence d'oxydes de fer non modifiés (CC126) afin de mettre en évidence la nécessité d'une modification de surface des oxydes de fer par du MPS. Nous avons choisi de travailler avec du styrène comme monomère hydrophobe. L'amorceur (AIBA) et le tensioactif (CTAB) utilisés sont cationiques pour éviter des interactions électrostatiques avec l'oxyde de fer cationique (Figure 16). La formulation de cette polymérisation est décrite dans le Tableau 10.

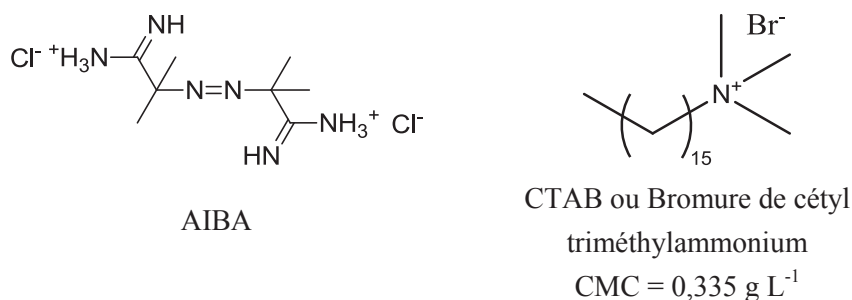


Figure 16 : Formules chimiques de l'amorceur cationique AIBA et du tensioactif cationique CTAB utilisés dans le cadre de cette étude

Tableau 10 : Formulation de la polymérisation en émulsion du styrène conduite en présence d'oxydes de fer non modifiés (CC126)

Réactifs	Concentration (g L ⁻¹)
Styrène	100
OF non modifiés	10
CTAB	2
AIBA	1

Les oxydes de fer non modifiés sont initialement dispersés dans l'eau (ferrofluide cationique). Ils sont introduits dans un mélange d'eau et de CTAB auquel le monomère est ensuite ajouté. Ce mélange est stable et est introduit dans le réacteur. L'amorceur est dissout dans une petite quantité d'eau et est introduit dans le réacteur lorsque le mélange atteint 70 °C. Après 6 heures de polymérisation, la conversion est de 91 % et le latex présente un aspect macroscopique homogène. Les clichés MET effectués sur le latex brut (sans séparation magnétique) montrent que les particules d'oxyde de fer se situent à proximité des particules de latex mais qu'elles ne sont pas encapsulées. Les particules de latex brut ont un diamètre (D_h) de 76 nm et une dispersion de taille (PDI) de 0,06.

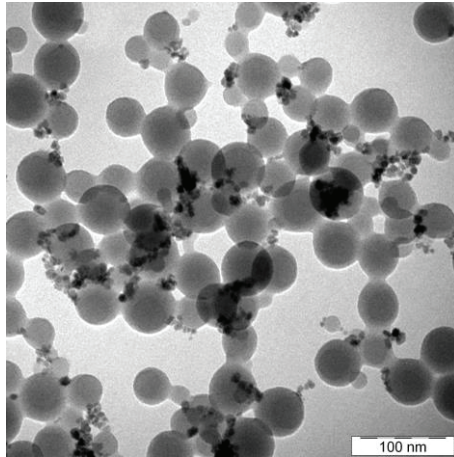


Figure 17 : Cliché MET du latex obtenu à l'issue de la polymérisation en émulsion du styrène en présence d'oxydes de fer non modifiés (CC126)

Bien que les oxydes de fer se situent à proximité de la surface des particules de latex, ils ne sont pas encapsulés. Une modification de leur surface semble donc nécessaire, comme dans le cas de la polymérisation en dispersion, pour envisager de les encapsuler au cœur de particules de latex.

IV.2. Polymérisation en émulsion du styrène en présence d'oxydes de fer modifiés MPS

Les oxydes de fer modifiés MPS utilisés dans cette étude sont les mêmes que ceux décrits précédemment pour la polymérisation en dispersion à la seule différence qu'ils sont redispersés dans l'eau à l'issue du greffage. Cependant, il est important de noter que les oxydes de fer modifiés MPS ne sont pas stables dans l'eau (Figure 18) et qu'ils sédimentent rapidement. Cette déstabilisation est induite par la densité de greffage élevée ($3,5 \mu\text{mol m}^{-2}$) qui confère un caractère hydrophobe aux particules d'oxyde de fer.



Figure 18 : Photo d'une suspension d'oxydes de fer modifiés MPS par le procédé hydro-alcoolique puis redispersés dans l'eau

En gardant à l'esprit le fait que les oxydes de fer modifiés MPS ne se redispersent pas dans l'eau, nous allons à présent étudier l'influence de la nature du stabilisant sur la formation des particules magnétiques et sur la stabilité des latex obtenus. L'objectif étant d'obtenir des particules d'environ 500 nm de diamètre avec un taux de particules magnétiques important, nous étudierons par la suite

l'influence de la concentration en tensioactif sur la taille et la distribution de taille des particules, et l'influence de la concentration en monomère sur le taux de particules magnétiques.

IV.2.1. Influence de la nature du tensioactif

Les particules d'oxyde de fer en suspension dans l'eau étant chargées positivement, le tensioactif peut être soit de nature cationique, soit non ionique. Notre choix s'est porté sur le tensioactif cationique CTAB ayant une CMC^e de 0,335 g L⁻¹ et le tensioactif non ionique nonylphényle éther de poly(éthylèneglycol), ayant une CMC de 0,13 g L⁻¹.⁴⁶ Ce dernier est commercialisé sous le nom *Synperonic® NP30* et sera noté NP30 (Figure 19) par la suite. Nous nous sommes également intéressés à l'effet d'un co-monomère cationique (MADQUAT®) sur la stabilisation électrostatique des latex.

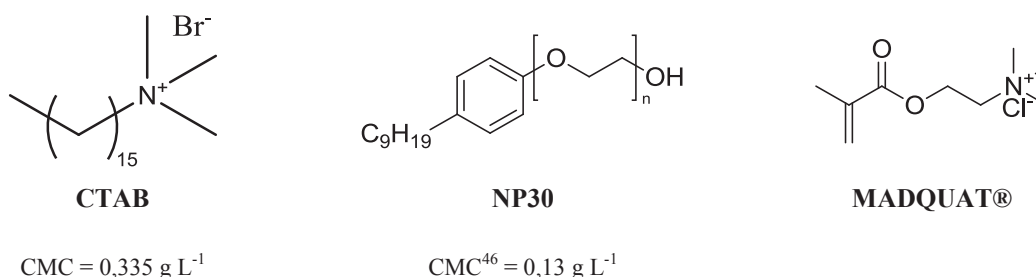





Figure 19 : Formules chimiques du tensioactif cationique CTAB, du tensioactif non ionique NP30 et du co-monomère MADQUAT®. Valeurs de la concentration micellaire critique (CMC) des tensioactifs

Nous avons conservé les mêmes conditions de polymérisation que celles utilisées en présence d'oxydes de fer non modifiés (CC126, IV.1) à l'exception des concentrations en tensioactif et en MADQUAT®, qui dépendent de la nature de ces derniers. Le tensioactif est dissout dans de l'eau, puis les oxydes de fer modifiés et le monomère sont ajoutés. Le mélange obtenu n'est pas homogène car les oxydes de fer modifiés MPS étaient déjà dans un état fortement agrégé. Il est donc nécessaire d'utiliser un bain à ultrasons pendant 5 minutes pour permettre l'homogénéisation des oxydes de fer modifiés dans un mélange d'eau/tensioactif/monomère. Dans le cas du MADQUAT®, celui-ci est ajouté au monomère avant son introduction dans le milieu de polymérisation. L'amorceur est dissout dans une petite quantité d'eau et est introduit dans le réacteur lorsque le mélange est à 70 °C. Les résultats des polymérisations sont rassemblés dans le Tableau 11.

^e CMC du CTAB donnée par la notice Sigma Aldrich

Tableau 11 : Polymérisations en émulsion du styrène conduites en présence d'oxydes de fer modifiés par le MPS et de différents types de stabilisants ou d'un comonomère cationique.*

	CC118	CC123	CC134
Tensioactif/co-monomère	CTAB	NP30	MADQUAT®
Concentration (g L ⁻¹)	2	3	5
Durée de polymérisation	8 h	4 h	15 h
Conversion (%)	62	Non mesurable ^a	Non mesurable ^a
Aspect macroscopique			
D _n de la PM ^b (nm)	150	/	/
D _d de la PM ^b (nm)	1,23	/	/
%PM ^b (%)	7	/	/

* Les polymérisations ont été conduites à 70 °C sous agitation mécanique à 300 trs min⁻¹ avec 100 g d'eau, [Styrène] = 100 g L⁻¹, [OF modifiés] = 10 g L⁻¹ et [AIBA] = 1 g L⁻¹. Le mélange eau/CTAB/monomère/oxydes de fer modifiés a été homogénéisé avant polymérisation à l'aide d'un bain à ultrasons pendant 5 minutes.

^a D'importants dépôts sont visibles sur les parois et au fond du réacteur. ^b La fraction magnétique est obtenue après 3 lavages avec un temps de séparation de 5 minutes.

Les deux tensioactifs CTAB et NP30 (CC118 et CC123, respectivement) ont été tous les deux utilisés au-dessus de leur CMC pour favoriser la stabilisation des particules formées. On constate toutefois que la polymérisation en présence de NP30 n'a pas permis la formation de particules de latex magnétiques stables (CC123). Les stabilisants dérivés du polyéthylène glycol sont connus pour avoir un point de trouble. Celui-ci est proche de 65-75 °C dans le cas du NP30.⁴⁷ Au-dessus du point de trouble, le NP30 devient partiellement hydrophobe et voit sa solubilité dans l'eau diminuer fortement. Il ne joue alors plus efficacement son rôle de tensioactif et une partie peut même être solubilisée dans les gouttelettes de monomère. La quantité de NP30 disponible est alors insuffisante pour permettre la stabilisation des particules de latex.⁴⁷

L'utilisation du co-monomère chargé MADQUAT® en absence de tensioactif (CC134) n'a pas permis non plus l'obtention d'un latex magnétique stable. La stabilisation obtenue par un co-monomère chargé étant en général plus faible que celle obtenue en présence de tensioactifs, ce résultat n'est pas étonnant.

Seule l'utilisation d'un stabilisant cationique (CTAB) a mené à un latex final (CC118) homogène et stable, qui possède une réponse magnétique. Après trois lavages magnétique avec un temps de séparation de 5 minutes, une analyse MET a été effectuée sur le surnageant (non magnétique) et la partie magnétique (Figure 20).

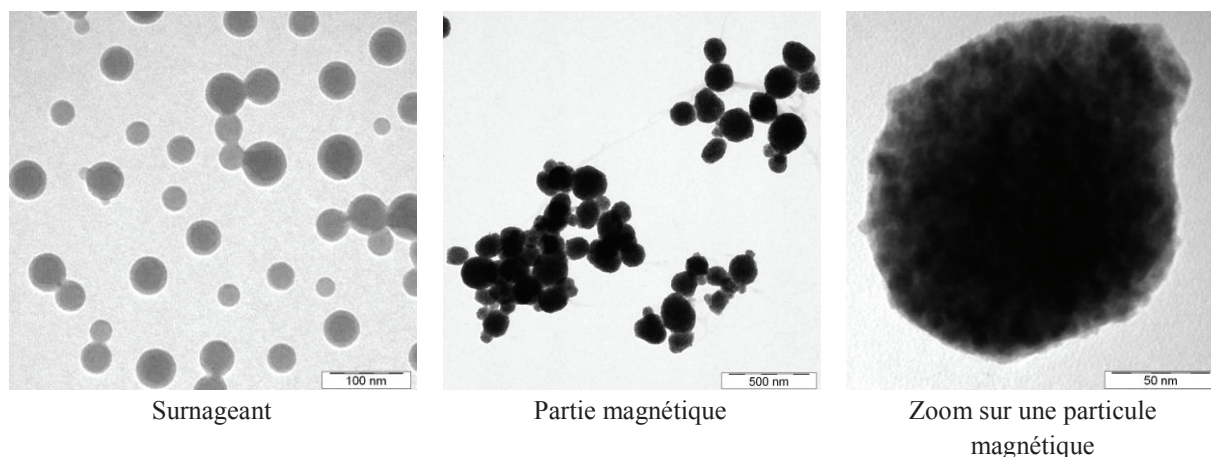


Figure 20 : Clichés MET des différents composants du latex CC118 obtenu par polymérisation en émulsion du styrène avec $[CTAB] = 2 \text{ g L}^{-1}$. La partie non magnétique à gauche (le surnageant lors des lavages magnétiques), la partie magnétique au centre et un zoom d'une particule magnétique à droite

Comme dans l'étude de Kniajanski et al.⁴⁸ qui porte sur la synthèse de particules de polymère magnétiques par polymérisation en émulsion en présence d'oxydes de fer fonctionnalisés^f, des particules ne contenant pas d'oxyde de fer et de petite taille ($D_n = 46 \text{ nm}$, $D_d = 1,12$) ont été observées dans le surnageant. Leur formation peut provenir d'une nucléation secondaire et/ou d'une nucléation de micelles de tensioactifs ne contenant pas d'oxyde de fer. La partie magnétique est composée de particules de taille plus importante : $D_n = 150 \text{ nm}$ et $D_d = 1,23$ et riches en oxydes de fer. Ces particules ne sont pas toutes parfaitement sphériques. De plus, le fait qu'elles aient entraîné avec elle une petite fraction de particules de latex libres non magnétiques suggère une légère agrégation des particules obtenues. Ce phénomène d'agrégation pourrait expliquer également que la conversion ne soit pas totale mais limitée à 62 % après 8 heures de polymérisation.

A ce stade, il est possible de décrire le système de la façon suivante : les oxydes de fer modifiés précipitent dans l'eau. Après ajout de monomère et de tensioactif, suivie d'une homogénéisation à l'aide d'un bain à ultrasons, il se forme des gouttelettes de monomère chargées en oxydes de fer modifiés et stabilisées par du tensioactif (Figure 21). Des oxydes de fer modifiés peuvent également se trouver à l'intérieur de quelques micelles gonflées de monomère ou dans les gouttelettes-réservoirs de monomère.

^f Dans cette étude, les oxydes de fer sont fonctionnalisés par de l'acide oléique et du méthacrylate de (2-acétoacétoxy)éthyle.

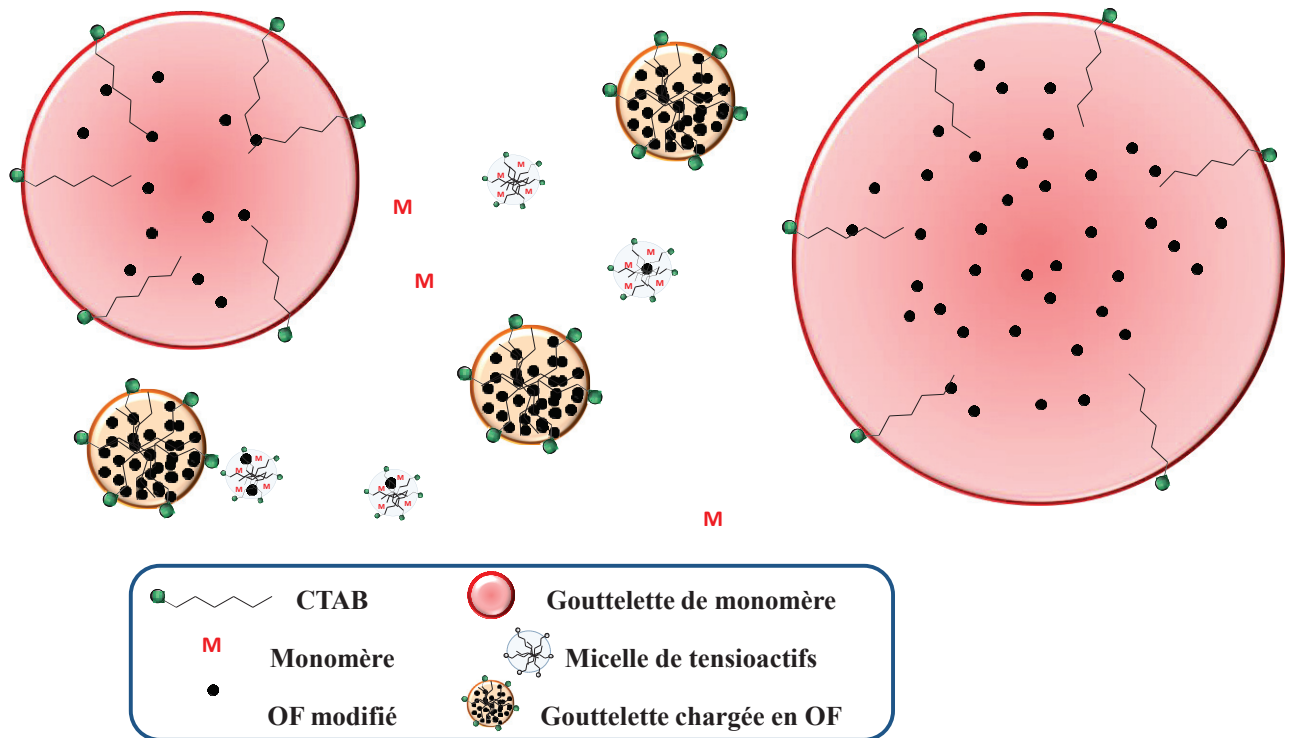



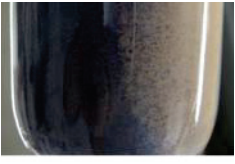
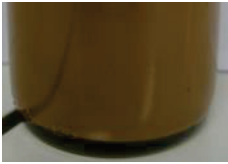
Figure 21 : Schéma de l'état initial d'une polymérisation en émulsion en présence d'oxydes de fer et de CTAB après l'étape d'homogénéisation par le bain à ultrasons et avant l'introduction de l'amorceur

En résumé, seule l'utilisation d'un tensioactif cationique permet d'obtenir un latex stable (CC118), mais le temps de séparation magnétique est trop long (5 minutes au lieu de 30 secondes comme requis par le cahier des charges). Par ailleurs, le taux de particules magnétiques obtenus après 5 minutes de temps de séparation est très faible, puisqu'il n'est que de 7 %. Pour diminuer le temps de réponse magnétique d'une part, et augmenter la taille et le taux de particules magnétiques d'autre part, nous allons jouer sur deux paramètres : i) la concentration en tensioactif afin de former des particules plus grosses, et ii) le rapport [OF modifiés]/[Styrène] afin d'augmenter la teneur en oxyde de fer.

IV.2.2. Influence de la concentration en tensioactif

Cette étude a pour but d'améliorer la réponse magnétique en augmentant la taille des particules. Pour cela deux concentrations en CTAB inférieures à 2 g L^{-1} ont été testées ($0,5$ et 1 g L^{-1} , CC129 et CC136, respectivement). En réduisant la quantité de tensioactif, nous espérons également limiter la nucléation secondaire et augmenter par conséquent le taux de particules magnétiques. Les conditions et les résultats de ces polymérisations sont reportés dans le Tableau 12.

Tableau 12 : Polymérisations en émulsion du styrène conduites en présence d'oxydes de fer modifiés par le MPS pour différentes concentrations en CTAB.*

	CC129	CC136	CC118
[CTAB] (g L ⁻¹)	0,5	1	2
Durée de polymérisation	4 h	3 h	8 h
Conversion (%)	Non mesurable ^a	Non mesurable ^a	62
Aspect macroscopique			
D _n de la PM ^b	/	/	150
D _d de la PM ^b	/	/	1,23
%PM ^b	/	/	7

* Les polymérisations ont été conduites à 70 °C sous agitation mécanique à 300 trs min⁻¹ sur 100 g d'eau avec [Styrène] = 100 g L⁻¹, [OF modifiés] = 10 g L⁻¹ et [AIBA] = 1 g L⁻¹. Le mélange eau/CTAB/monomère/oxydes de fer modifiés a été homogénéisé avant polymérisation à l'aide d'un bain à ultrasons pendant 5 minutes.

^aLes dépôts au fond et sur les parois du réacteur sont trop importants pour pouvoir mesurer la conversion par gravimétrie. ^bLa partie magnétique est obtenue après 3 lavages avec un temps de séparation de 5 minutes.



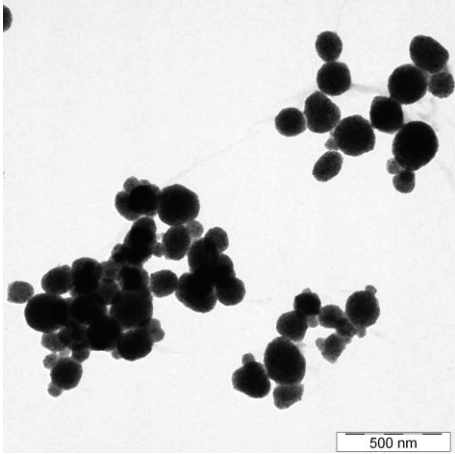
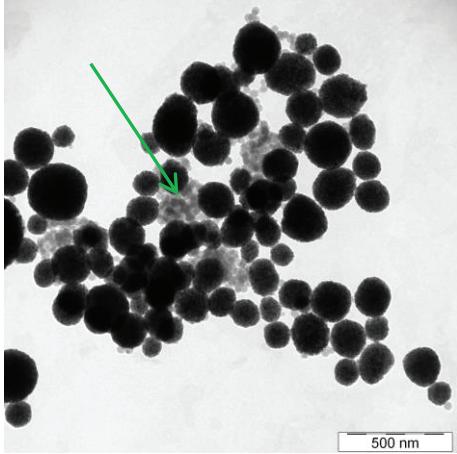
Lorsque la concentration en CTAB est de 0,5 g L⁻¹ (CC129), le latex obtenu ne contient pas d'oxyde de fer, car celui-ci a été expulsé sur les parois du réacteur lors de la polymérisation. Lorsque la concentration en CTAB est de 1 g L⁻¹ (CC136), l'oxyde de fer se situe à la fois sur les parois du réacteur et dans le latex sous forme d'agrégats macroscopiques visibles à l'œil nu. La diminution de la concentration en CTAB ne permet donc pas d'atteindre les objectifs fixés puisque dans les deux cas, la stabilité du latex n'est pas assurée. Une quantité minimale de CTAB semble donc nécessaire pour stabiliser l'émulsion initiale et le latex final, même si nous n'avons pas cherché à établir pour l'instant de lien entre les deux.

Afin d'augmenter la vitesse de séparation magnétique, nous allons à présent nous intéresser au rapport [OF modifiés]/[Styrène]. Dans une approche similaire à celle adoptée lors de notre étude sur la polymérisation en dispersion, (III.3.4), ce rapport va être augmenté afin d'augmenter la quantité d'oxyde de fer par particule de latex. Nous avons choisi pour cela de diminuer la concentration en styrène.

IV.2.3. Influence de la concentration en styrène

Afin d'augmenter le nombre de nanoparticules d'oxyde de fer encapsulées et d'améliorer ainsi la réponse magnétique, nous avons diminué la quantité de styrène (CC135 avec [Styrène] = 50 g L⁻¹). Lorsque la concentration en styrène est diminuée, celle de l'AIBA l'est également pour conserver le rapport entre le monomère et l'amorceur constant. Les résultats sont comparés à ceux obtenus pour [Styrène] = 100 g L⁻¹ (CC118) dans le Tableau 13.

Tableau 13 : Polymérisations en émulsion du styrène conduites en présence d'oxydes de fer modifiés par le MPS pour deux concentrations différentes en styrène.*

	CC118	CC135
[Styrène] (g L ⁻¹)	100	50
Durée de polymérisation	8 h	3 h
Conversion (%)	62	63
Aspect macroscopique		
Clichés MET de la PM		
D_n de la PM	150 ^a	210 ^b
D_d de la PM	1,23 ^a	1,52 ^b
%PM	7 ^a	9,7 ^b

* Les polymérisations ont été conduites à 70 °C sous agitation mécanique à 300 trs min⁻¹ sur 100 g d'eau avec [CTAB] = 2 g L⁻¹, [OF modifiés] = 10 g L⁻¹, [AIBA] 0,5 ou 1 g L⁻¹ et [Styrène] = 50 ou 100 g L⁻¹. L'AIBA est introduit à 1 % en masse par rapport au monomère. Le mélange eau/CTAB/monomère/oxydes de fer modifiés a été homogénéisé avant polymérisation à l'aide d'un bain à ultrasons pendant 5 minutes.

^{a,b} La partie magnétique a été obtenue après trois lavages magnétiques avec ^aun temps de séparation de 5 minutes pour l'expérience CC118 et ^bun temps de séparation de 30 secondes pour l'expérience CC135.

Contrairement à la polymérisation en dispersion où la diminution de la concentration en styrène avait entraîné une limitation de la conversion, la diminution de la concentration en styrène en polymérisation en émulsion ne semble pas affecter la conversion puisqu'elle est d'environ 60 % dans les deux cas.

On constate cependant qu'à conversion égale, la taille des particules obtenues à 50 g L⁻¹ de styrène (CC135) est plus importante : 210 nm au lieu de 150 nm. Par ailleurs, en observant les histogrammes de taille (Figure 22), la distribution de taille pour CC135 montre la présence d'une deuxième population de taille plus élevée. La diminution de la concentration en monomère a induit une augmentation du nombre de particules d'oxyde de fer par particule de latex et donc la formation de particules magnétiques plus denses et plus difficiles à stabiliser, d'où les tailles plus élevées en MET et la présence d'une deuxième population sur l'histogramme.

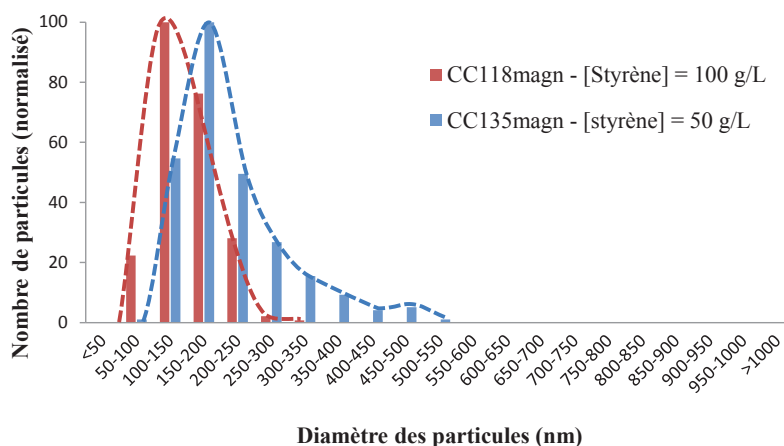


Figure 22 : Distribution de taille sur 200 particules magnétiques des latex CC118 et CC135, obtenue après 3 lavages magnétiques avec un temps de séparation de 5 minutes pour CC118 et de 30 secondes pour CC135. Les diamètres sont mesurés à partir des clichés de MET. Le nombre de particules est normalisé pour pouvoir comparer les deux distributions de taille.

Comme dans le cas de CC118, des particules non magnétiques d'environ 50 nm de diamètre constituent la partie non magnétique du latex. Cependant, la diminution de la concentration en styrène a permis l'obtention d'un latex ayant une meilleure réponse magnétique, puisque les lavages magnétiques ont pu être effectués avec une durée de 30 secondes seulement au lieu de 5 minutes. D'autre part, le taux de particules magnétiques est plus élevé puisque il est de 9,7 % après des lavages magnétiques à 30 secondes contre 7 % après des lavages magnétiques à 5 minutes. Cette augmentation est due en partie à une taille de particules magnétiques légèrement plus élevée (210 au lieu de 150 nm), mais surtout à la présence de petits agrégats de particules non magnétiques d'environ 50 nm de diamètre (indiqués par la flèche verte, Cliché MET du Tableau 13) accolées aux particules magnétiques, qui augmentent artificiellement le taux de particules magnétiques. .

En conclusion, il est possible de diminuer le temps de réponse magnétique et d'augmenter le taux de particules magnétiques en diminuant la quantité de monomère. Cette amélioration de la réponse magnétique est due à une augmentation de la taille des particules, accompagnée d'une augmentation du taux d'oxyde de fer par particule mais également de la formation de petits agrégats visibles en MET.

IV.2.4. Conclusion sur la polymérisation en émulsion du styrène

Nous avons vu dans cette étude que l'oxyde de fer modifié MPS n'est pas stable en un milieu aqueux. Une étape d'homogénéisation du mélange oxydes de fer modifiés/CTAB/styrène au bain à ultrasons est suffisante pour obtenir une émulsion initiale homogène. Dans cette émulsion initiale, les oxydes de fer se trouvent vraisemblablement dans des petites gouttelettes de monomère chargées en oxydes de fer et couvertes de tensioactif. Une quantité minimale de tensioactif est donc nécessaire pour assurer à la fois la stabilité de l'émulsion et celle des particules de latex.

La polymérisation en émulsion du styrène permet l'obtention de particules magnétiques de 150 à 210 nm de diamètre, à condition d'introduire un tensioactif cationique (CTAB) en quantité suffisante, i.e. 2 g L⁻¹. En effet, sans tensioactif, il n'est pas possible d'obtenir des particules de latex magnétiques stables, même en présence d'un co-monomère cationique chargé, et l'utilisation d'un tensioactif non ionique ne permet pas non plus d'obtenir des particules de latex stables.

La diminution de la concentration en monomère de 100 g L⁻¹ à 50 g L⁻¹ impacte fortement la réponse magnétique du latex final, puisqu'elle permet de réduire significativement le temps de réponse magnétique, via la formation de particules de tailles plus élevées et plus riches en oxydes de fer. Le latex obtenu dans ces conditions contient 9,7 % de particules magnétiques. Toutefois les clichés MET montrent que des particules non magnétiques ont été entraînées dans la fraction magnétique, indiquant que des phénomènes d'agrégation ont eu lieu durant la polymérisation.

Une étape d'homogénéisation étant obligatoire pour obtenir un état initial stable, il est intéressant d'étudier un monomère plus polaire, qui sera plus facile à émulsionner. Nous avons donc décidé de travailler avec le méthacrylate de méthyle (MMA), qui devrait permettre d'obtenir des gouttelettes plus faciles à stabiliser. En effet, la tension de surface est plus faible entre le MMA et l'eau qu'entre le styrène et l'eau (14,3 mN m⁻¹ et 35,5 mN m⁻¹, respectivement).⁸ Par ailleurs, les particules formées sont également plus faciles à stabiliser car la surface occupée par une molécule de tensioactif (A_s) est généralement plus élevée sur une particule de PMMA que sur une particule de PS. Par exemple, dans le cas du tensioactif dodécylbenzène sulfonate de sodium, les valeurs de la surface occupée par une molécule de tensioactif sont respectivement $A_s = 131 \text{ \AA}^2 \text{ molécule}^{-1}$ et $A_s = 53 \text{ \AA}^2 \text{ molécule}^{-1}$ pour une surface de PMMA et de PS.⁴⁹ Cette tendance est respectée dans le cas du SDS : 79 à 130 $\text{\AA}^2 \text{ molécule}^{-1}$ pour le PMMA contre 41 à 49 $\text{\AA}^2 \text{ molécule}^{-1}$ pour le PS.^{50, 51} Autrement dit, on a besoin de moins de tensioactif pour stabiliser une particule de PMMA qu'une particule de PS. Les tensioactifs cationiques ont été moins étudiés et les valeurs pour le CTAB ne sont pas disponibles dans la littérature.^{52, 53,h}

IV.3. Polymérisation en émulsion du MMA

Tout comme précédemment dans le cas du styrène, nous avons étudié l'influence de la concentration en CTAB. Les polymérisations ont été conduites dans des conditions identiques à celles décrites précédemment pour le styrène. Les oxydes de fer utilisés sont également les mêmes (modifiés par le procédé hydro-alcoolique, et redispersés dans l'eau).

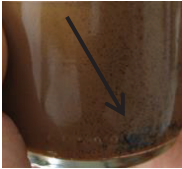

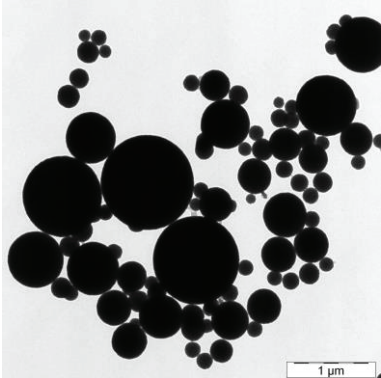
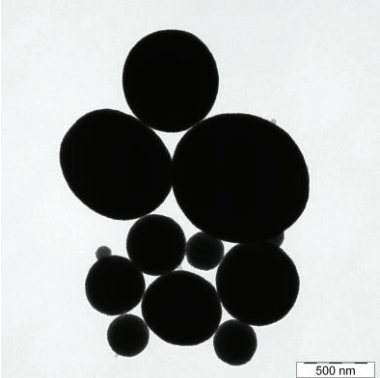
⁸ Les valeurs de tension de surface proviennent de la base de données de *CAMEO Chemicals*, disponible sur le site <http://cameochemicals.noaa.gov/>

^h Pour le CTAB sur une surface de PS, la valeur A_s est de 80 $\text{\AA}^2 \text{ molécule}^{-1}$.

IV.3.1. Influence de la concentration en CTAB

La concentration en CTAB a été augmentée progressivement jusqu'à l'obtention d'un latex magnétique stable en fin de polymérisation. Les résultats obtenus pour ces polymérisations sont rassemblés dans le Tableau 14.

Tableau 14 : Polymérisations en émulsion du MMA conduites en présence d'oxydes de fer modifiés par le MPS, à deux concentrations en CTAB.*

	CC133	CC141
[CTAB] (g L ⁻¹)	0,5	1
Durée de polymérisation	15 h	4 h
Conversion (%)	Non mesurable ^a	97
Aspect macroscopique		
Clichés MET de la PM		
D_n de la PM ^b	350	325
D_d de la PM ^b	2,71	2,54
%PM ^b	2,5	2,5

* Les polymérisations ont été conduites à 70 °C sous agitation mécanique à 300 trs min⁻¹ sur 100 g d'eau avec [MMA] = 100 g L⁻¹, [OF modifiés] = 10 g L⁻¹, [AIBA] = 1 g L⁻¹ [CTAB] = 0,5 ou 1 g L⁻¹. Le mélange eau/CTAB/monomère/oxydes de fer modifiés a été homogénéisé avant polymérisation à l'aide d'un bain à ultrasons pendant 5 minutes.

^a Les dépôts au fond et sur les parois du réacteur sont trop importants pour pouvoir mesurer la conversion par gravimétrie. ^b La partie magnétique est obtenue après 3 lavages magnétiques avec un temps de séparation de 5 minutes.

La quantité de CTAB nécessaire pour l'obtention d'un latex de PMMA stable est bien inférieure à celle nécessaire pour le PS, puisque la stabilité du latex est assurée dès 1 g L⁻¹ (contre 2 g L⁻¹ pour le PS). Par ailleurs, une concentration en tensioactif de 0,5 g L⁻¹ permet déjà l'obtention d'un latex magnétique, même si celui-ci contient des agrégats (pointés par la flèche noire sur la photo présentée dans le Tableau 14). Toutefois, les deux latex obtenus ne possèdent que 2,5 % de particules magnétiques après 5 minutes de séparation magnétique.

Dans les deux cas, la partie non magnétique contenue dans le surnageant est quant à elle constituée de petites particules de latex ne contenant pas ou peu d'oxyde de fer (Figure 23). Le diamètre de ces

particules n'est pas déterminable par MET classique car le PMMA a tendance à dépolymériser rapidement sous le faisceau, mais il est possible d'observer ces particules à froid. Ces observations étant plus longues à effectuer et l'intérêt des particules non magnétiques étant faible, l'étude du surnageant ne sera quasiment plus décrite par la suite.

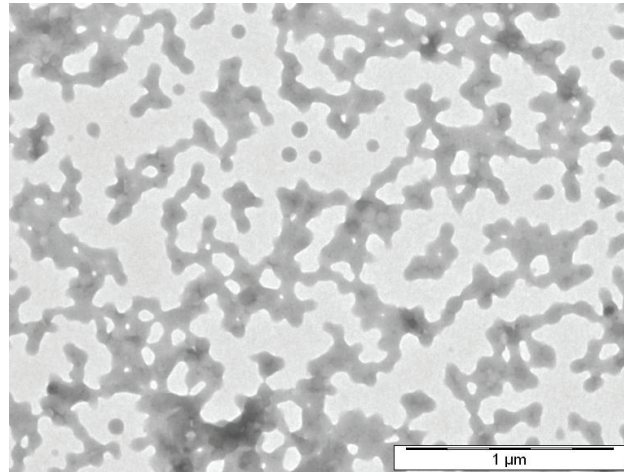


Figure 23 : Cliché MET d'une fraction du latex CC133 ne contenant pas de particules magnétiques

Quelle que soit la concentration initiale de CTAB (0,5 ou 1 g L⁻¹), les particules magnétiques obtenues possèdent un diamètre similaire d'environ 325 – 350 nm et une dispersité d'environ 2,6. Ces tailles sont plus importantes que celles obtenues à l'issue de la polymérisation en émulsion du styrène. Toutefois, ces tailles ne sont pas directement comparables puisque la conversion n'était pas totale lors de la polymérisation du styrène (62 %), contrairement à la polymérisation du MMA.

Les histogrammes de taille de particules (Figure 24) indiquent dans les deux cas une distribution large ainsi que la présence d'une quantité non négligeable (10 %) de particules ayant des tailles supérieures à 1 µm. Cette gamme de taille n'est pas courante pour le procédé de polymérisation en émulsion et peut indiquer des phénomènes de coagulation. En effet, la polarité du MMA peut favoriser la nucléation homogène et la formation de nombreux nucléi par nucléation secondaire. Ces nucléi ne contiennent pas ou peu d'oxyde de fer et forment principalement la partie non magnétique du latex. Toutefois, ces nucléi peuvent également précipiter sur des particules en croissance gonflées de monomère pour conduire *in fine* à cette fraction de particules magnétiques de taille élevée.

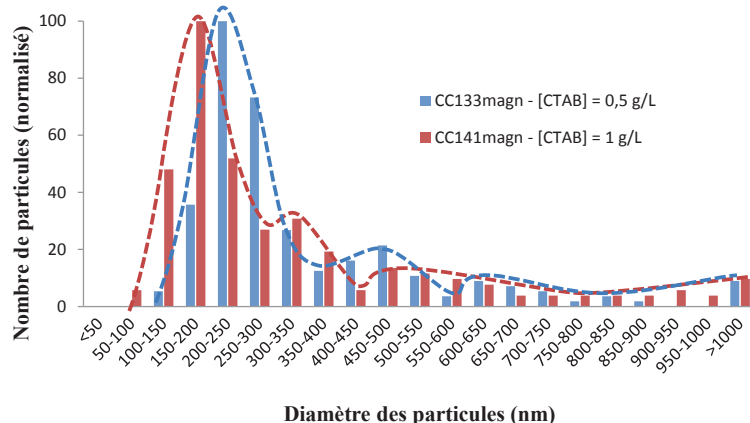


Figure 24 : Distribution de taille de 200 particules magnétiques des latex CC133 et CC141, obtenus après 3 lavages magnétiques avec un temps de séparation de 5 minutes. Les diamètres sont obtenus à partir des mesures des clichés MET. Le nombre de particules est normalisé pour pouvoir comparer les deux distributions de taille.



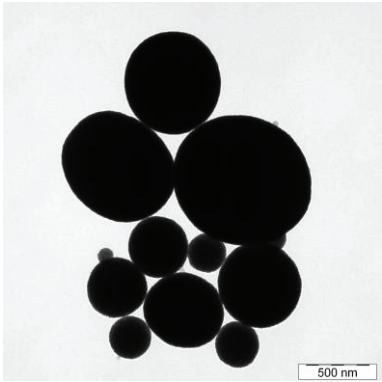
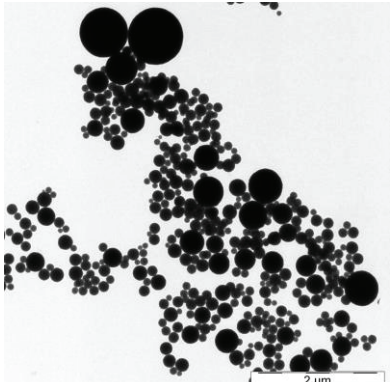
En résumé, l'utilisation du MMA permet effectivement de former des particules magnétiques stables avec une quantité de tensioactif inférieure à celle requise dans le cas du styrène. Toutefois, la séparation magnétique reste lente (5 minutes de séparation à l'aimant) et le taux de particules magnétiques faible (2,5 %). Nous allons donc diminuer la concentration en monomère en vue d'augmenter le taux de particules magnétiques.

Dans un souci de simplification du procédé, les greffages s'effectueront à présent en milieu aqueux avec une concentration en MPS de $10 \mu\text{mol m}^{-2}$. Les densités de greffage en milieux hydro-alcoolique et aqueux étant équivalentes (cf. Chapitre 2, partie III.2), cette modification ne devrait pas impacter le procédé d'encapsulation et la morphologie des particules finales. Aucune influence n'a d'ailleurs été observée sur l'état initial de l'émulsion. Enfin, ce changement de procédé de greffage permet d'éliminer les étapes intermédiaires de lavages entre le greffage et la polymérisation et de gagner ainsi un temps précieux (une demi-journée à une journée).

IV.3.2. Influence de la concentration en MMA

Nous avons vu précédemment que la concentration en styrène pouvait être diminuée en polymérisation en émulsion sans que la conversion n'en soit affectée (IV.2.3). Afin d'augmenter le rapport [OF modifiés]/[Monomère], nous avons diminué la concentration en MMA à 30 g L⁻¹. Lorsque la concentration en MMA est diminuée, la concentration en AIBA l'est également pour conserver le rapport massique entre le monomère et l'amorceur constant (100/1).

Tableau 15 : Polymérisations en émulsion du MMA conduites en présence d'oxydes de fer modifiés par le MPS pour deux concentrations différentes en MMA.*

	CC141	CC170
[MMA] g L ⁻¹	100	30
Durée de polymérisation	4 h	2 h 20
Conversion (%)	97	79
Aspect macroscopique		
Clichés MET de la PM		
D _n de la PM	325 ^a	175 ^b
D _d de la PM	2,54 ^a	2,22 ^b
%PM	2,5 ^a	15,8 ^b
%OF dans la PM ^b	/	83
%OF (et %OF _{th}) ^b	/	29 (30)

*Les polymérisations ont été conduites à 70 °C sous agitation mécanique à 300 trs min⁻¹ sur 100 g d'eau avec [CTAB] = 1 g L⁻¹, [OF modifiés] = 10 g L⁻¹, [AIBA] 0,3 ou 1 g L⁻¹ et [MMA] = 30 ou 100 g L⁻¹. L'AIBA est introduit à 1 % en masse par rapport au monomère. Le mélange eau/CTAB/monomère/oxydes de fer modifiés a été homogénéisé avant polymérisation à l'aide d'un bain à ultrasons pendant 5 minutes. L'oxyde de fer utilisé pour CC141 est un oxyde de fer modifié par le procédé hydroalcoolique et dispersé dans de l'eau. L'oxyde de fer utilisé pour CC170 est un oxyde de fer modifié par le procédé aqueux.

^a La partie magnétique est obtenue après 3 lavages magnétiques avec un temps de séparation de 5 minutes. ^b La partie magnétique est obtenue après 3 lavages magnétiques avec un temps de séparation de 30 secondes.

En comparant la polymérisation en émulsion conduite avec 30 g L⁻¹ de MMA (CC170) à celle avec 100 g L⁻¹ (CC141), on constate que la taille des particules obtenue est plus petite dans le premier cas : 175 nm contre 325 nm tandis les dispersités de taille sont du même ordre de grandeur (Figure 25). La diminution de la concentration en monomère ne semble pas perturber le déroulement de la

polymérisation en émulsion du MMA. En effet, dans tous les cas la conversion est élevée (entre 79 et 100 %). Ces résultats sont similaires à ceux obtenus pour le styrène (IV.2.3), à l'exception du fait que les clichés MET de la partie magnétique ne montrent pas de petits agrégats composés de particules non magnétiques accolées aux particules magnétiques, signe d'un phénomène d'agrégation.

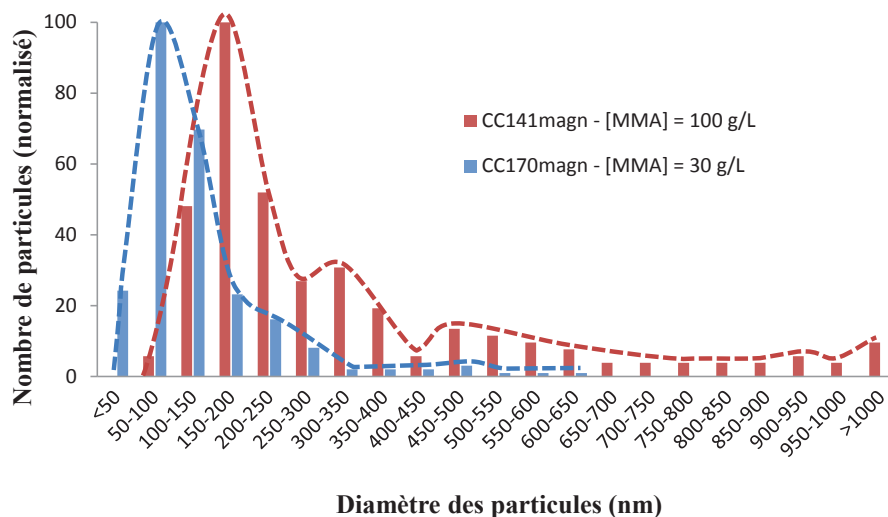


Figure 25 : Distribution de taille sur 300 particules de latex magnétiques CC141 et CC170, obtenus après 3 lavages magnétiques avec un temps de séparation de 5 minutes pour CC141 et de 30 secondes pour CC170. Les diamètres sont mesurés à partir des clichés MET. Le nombre de particules est normalisé pour pouvoir comparer les deux distributions de taille.

La diminution de la concentration en MMA a permis d'obtenir un latex magnétique présentant une réponse magnétique en 30 secondes, conforme au cahier des charges. La quantité de particules magnétiques est suffisante (%PM = 15,8%) pour effectuer une analyse thermogravimétrique. La teneur massique en oxyde de fer (%OF) est de 83 %, alors que le taux d'oxyde de fer dans l'ensemble du latex est de 29 %. Cette valeur, proche de la valeur théorique de 30 %, indique qu'il n'y a pas eu de perte significative des oxydes de fer ou de formation de coagulum durant la polymérisation. En effet, si les valeurs expérimentales s'éloignent des valeurs théoriques, cela signifie qu'à un moment de la polymérisation, il y a eu dépôt d'oxyde de fer (%OF < %OF_{th}) ou de latex (%OF > %OF_{th}) sur les parois ou au fond du réacteur.

La différence entre le taux d'oxyde de fer dans les particules magnétiques (83%) et celui dans le latex total (29%) indique que les latex obtenus sont hétérogènes en composition, i.e. que les oxydes de fer ne sont pas répartis uniformément dans les particules, et qu'un nombre important de particules est dépourvu d'oxyde de fer, ou alors n'en intègre pas suffisamment pour conduire à une réponse magnétique efficace. Cette hétérogénéité est plutôt un avantage, puisqu'elle permet in fine d'incorporer davantage d'oxyde de fer par particule magnétique qu'attendu (%OF_{th} = 30%). En effet, du point de vue de la séparation magnétique, il est plus intéressant d'avoir des particules incorporant 70-90 % d'oxyde de fer, plutôt que des particules n'en contenant que 25-30%.

En résumé, les paramètres du système ($[MMA] = 30 \text{ g L}^{-1}$ et $[CTAB] = 1 \text{ g L}^{-1}$) permettent d'obtenir un latex stable et présentant un taux de particules magnétiques d'environ 16 %. Cependant la distribution de taille des particules est élevée, ce qui est probablement relié à l'état initial de la dispersion des oxydes de fer dans le milieu. Nous allons à présent étudier l'effet de l'état d'agrégation des oxydes de fer dans l'émulsion initiale sur la taille et la dispersion de tailles de particules obtenues par polymérisation en émulsion du MMA. Pour cela, nous allons d'abord nous intéresser à l'état initial des oxydes de fer dans le milieu de polymérisation puis aux différents procédés de dispersion de ces oxydes de fer dans l'émulsion initiale.

IV.3.3. Etude de l'état initial de l'émulsion

Afin de mieux caractériser l'état initial de nos systèmes avant d'effectuer la polymérisation en émulsion du MMA, des mesures de tailles par DDL ont été réalisées sur des dispersions d'oxydes de fer modifiés dans un mélange d'eau et de CTAB avant et après ajout de monomère. Les résultats figurent dans le Tableau 16.

Tableau 16 : Diamètres hydrodynamiques des agrégats d'oxyde de fer modifié en présence de CTAB avant et après ajout de monomère

	D_h	PDI
OF modifiés + CTAB	> 5000	1
OF modifiés + CTAB + 1 minute d'agitation à la sonde à ultrasons ^a	297	0,51
OF modifiés + CTAB + MMA + 5 minutes d'agitation au bain à ultrasons ^b	210	0,27
OF modifiés + CTAB + MMA + 1 minute d'agitation à la sonde à ultrasons ^a	113	0,18

^a La sonde à ultrason a été utilisée à 66 % de sa puissance maximale (de 750 Watts), soit à 500 Watts. ^b Il s'agit des valeurs mesurées pour l'état initial de la polymérisation CC170.

On constate qu'en présence de CTAB, les oxydes de fer modifiés ne sont pas stables et sédimentent en quelques minutes. Ils sont vraisemblablement présents sous forme d'agrégats (même après 1 minute d'agitation à la sonde à ultrasons). L'ajout de CTAB uniquement ne permet donc pas de stabiliser les agrégats d'oxydes de fer modifiés. Après ajout de monomère (correspondant à une concentration de 30 g L^{-1}) et redispersion à l'aide du bain à ultrasons pendant 5 minutes, la taille (210 nm) et la dispersion de taille (0,27) des agrégats diminuent fortement. Nous pensons que le monomère vient dans un premier temps mouiller les agrégats, puis permet dans un deuxième temps la dispersion de ces derniers dans des gouttelettes de monomère d'environ 210 nm riches en oxyde de fer. L'utilisation d'un mode de dispersion plus énergétique (i.e. la sonde à ultrasons) conduit à une dispersion encore plus fine puisque la taille est fortement diminuée (110 nm) et la distribution de taille est plus étroite (0,18).

Pour vérifier qu'il s'agit bien de gouttelettes de monomère riches en oxydes de fer, des clichés de MET ont été effectués (Figure 26) dans le cas de l'utilisation de la sonde à ultrasons. On distingue clairement des agrégats sphériques d'oxydes de fer, confirmant l'existence de gouttelettes de monomères riches en oxydes de fer de diamètres compris entre 50 et 500 nm.

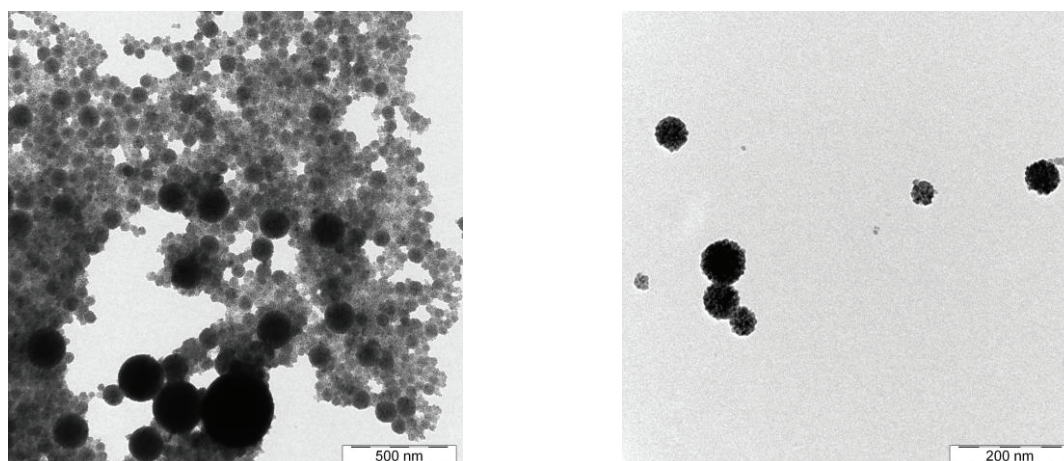


Figure 26 : Clichés MET de gouttelettes de monomère formées à l'état initial avant polymérisation ($[MMA] = 30 \text{ g L}^{-1}$, $[CTAB] = 1 \text{ g L}^{-1}$) et après 2×1 minute d'homogénéisation à la sonde à ultrasons

La stabilité de ces gouttelettes a été étudiée par DDL (Tableau 17) sur une durée de 7 jours. On constate que les gouttelettes sont stables sur 24 h, mais que les tailles et distribution de taille évoluent légèrement après 7 jours. Toutefois les agrégats sont a priori stables durant le temps de la polymérisation.

Tableau 17 : Mesure par DDL de la taille des gouttelettes de monomère chargées en oxyde de fer modifié par le MPS en fonction du temps

	t = 0	t = 1 j	t = 7 j
D_h (nm)	113	106	118
PDI	0,18	0,15	0,23

Ce système devient donc très intéressant puisqu'on peut modifier la taille des gouttelettes chargées en oxyde de fer simplement par le procédé d'homogénéisation. Différents procédés d'homogénéisation vont donc être étudiés par la suite afin d'évaluer l'impact de l'état de dispersion du milieu initial sur la taille et la distribution de taille des particules finales ainsi que sur leurs propriétés magnétiques.

IV.3.4. Influence du procédé de dispersion de l'oxyde de fer

Le procédé de dispersion des oxydes de fer dans le milieu initial de polymérisation étant un paramètre décisif sur la taille des gouttelettes chargées en oxyde de fer, nous allons à présent nous intéresser à différents procédés. Cinq procédés de dispersion des oxydes de fer, de différente intensité en énergie, ont été étudiés : l'utilisation du bain à ultrasons pendant 5 minutes (comme c'était le cas pour les

polymérisations en émulsion jusqu'à présent) ou pendant 30 minutes, l'utilisation de la sonde à ultrasons, l'utilisation de l'agitation mécanique du réacteur et l'utilisation d'une sonde Ultra Turrax.

Les conditions expérimentales et les résultats des différentes polymérisations sont rassemblés dans le Tableau 18. Les clichés MET de la fraction magnétique sont présentés dans la Figure 27.

Tableau 18 : Influence du procédé de dispersion des oxydes de fer modifiés par le MPS dans le milieu de polymérisation initial sur la polymérisation en émulsion du MMA.*

	CC170	CC164	CC158	CC159	CC156
Procédé de dispersion des OF	5 min au bain à ultrasons	30 min au bain à ultrasons	Sonde à ultrasons ^a	Ultra Turrax ^b	Mécanique ^c
D_h à $t = 0$ (nm)	210	163	104	900	/ ^d
PDI	0,27	0,24	0,15	0,29	/ ^d
Durée de polymérisation	2 h 20	4 h	6 h	6 h	3 h 50
Conversion (%)	79	100	100	80	86
D_n^e (nm)	175	240	140	540	650
Gamme de taille ^e (nm)	70 - 655	70 - 620	30 - 870	160 - 2170	75 - 5000
D_d^e	2,22	1,51	3,34	2,51	5,74
% PM	15,8	6,2	2,9	23	37
%OF dans la PM	83	81	67	91	81
%OF (%OF _{th})	29 (30)	29 (25)	29 (25)	36 (29)	28 (28)

*Les polymérisations ont été conduites à 70 °C sous agitation mécanique à 300 trs min⁻¹ sur 100 g d'eau avec [MMA] = 30 g L⁻¹, [OF modifiés] = 10 g L⁻¹, [AIBA] = 0,3 g L⁻¹ et [CTAB] = 1 g L⁻¹.

^a La sonde à ultrasons a été utilisée à une puissance de 500 W pendant 1 minute et l'opération a été renouvelée une fois. ^b L'Ultra Turrax a été utilisé à 1000 trs min⁻¹ pendant 10 min, puis à 1500 trs min⁻¹ pendant 10 minutes.

^c Agitation mécanique au moyen d'une ancre à la vitesse de 500 trs min⁻¹. ^d Les valeurs données par la DDL n'étaient pas exploitables (PDI proche de 1) suggérant la formation de grosses gouttelettes. ^e Les statistiques de tailles sont effectuées sur la partie magnétique du latex, obtenue après 3 lavages magnétiques avec un temps de séparation de 30 secondes.

- **Influence du procédé de dispersion des oxydes de fer sur la taille des gouttelettes**

On constate tout d'abord que le procédé de dispersion des oxydes de fer dans le milieu initial possède une grande influence sur la taille des gouttelettes formées. En effet, la taille des gouttelettes chargées en oxyde de fer varie de 100 nm à > 1 µm en fonction de la puissance du procédé de dispersion : plus l'agitation est énergique, plus la taille et la distribution de taille des gouttelettes sont faibles. Il est

donc possible d'obtenir différentes tailles de gouttelettes en fonction du procédé de dispersion. Cependant la distribution de taille de ces gouttelettes est large : PDI se situant entre 0,15 et 0,29.

D'autre part, on remarque que la conversion est totale lorsque la taille des gouttelettes chargées en oxyde de fer est faible, autrement dit que la surface développée est élevée. Toutefois toutes les polymérisations atteignent une conversion élevée ($\geq 80\%$).

- ***Influence du procédé de dispersion des oxydes de fer sur la taille des particules de latex magnétiques***

La taille des particules magnétiques obtenues varie considérablement en fonction du procédé de dispersion. Leur diamètre moyen en nombre est compris entre 140 et 650 nm (Figure 27), avec encore une fois une dispersion de taille (D_d) élevée comprise entre 1,5 et 5,7.

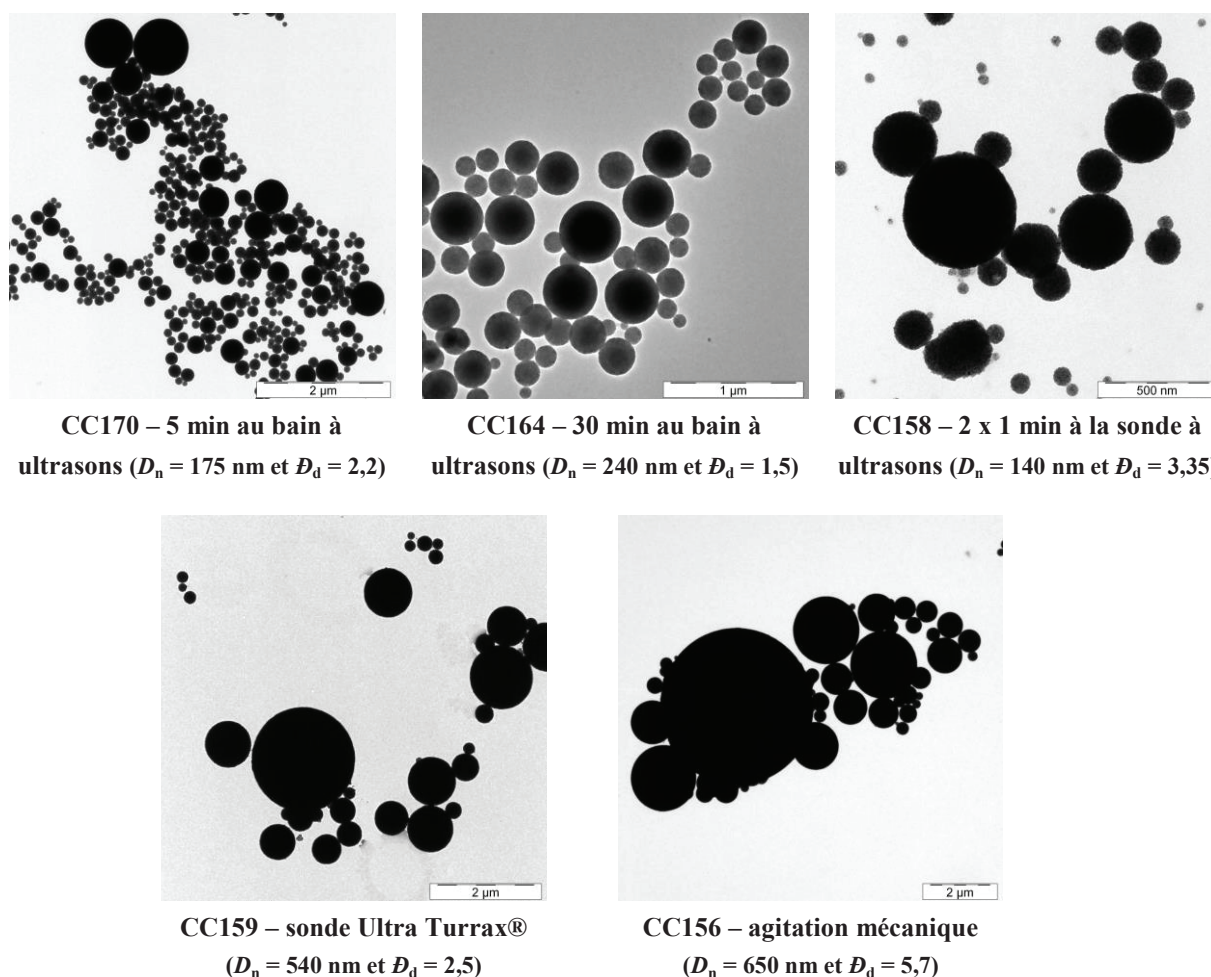


Figure 27 : Clichés MET des particules des parties magnétiques des latex CC170, CC156, CC158, CC159 et CC164. Les parties magnétiques sont obtenues après 3 lavages magnétiques du latex brut, avec un temps de séparation de 30 secondes

La taille des particules finales dépend fortement de la taille des gouttelettes initiales. En effet, globalement, plus le mode de dispersion est énergique, plus les gouttelettes et donc les particules sont petites. La taille des gouttelettes initiales et des particules magnétiques finales ne sont toutefois pas directement comparables. En effet, indépendamment du fait qu'elles ont été obtenues par deux techniques d'analyse différentes (DDL et MET, respectivement), il est important de rappeler que l'analyse MET porte uniquement sur la partie magnétique et non sur le latex total. Une fraction des particules (très variable d'une expérience à l'autre, Tableau 19) est donc totalement ignorée dans cette analyse.

Nous avons comparé sur la Figure 28 la distribution de taille des particules des cinq latex ainsi obtenus.

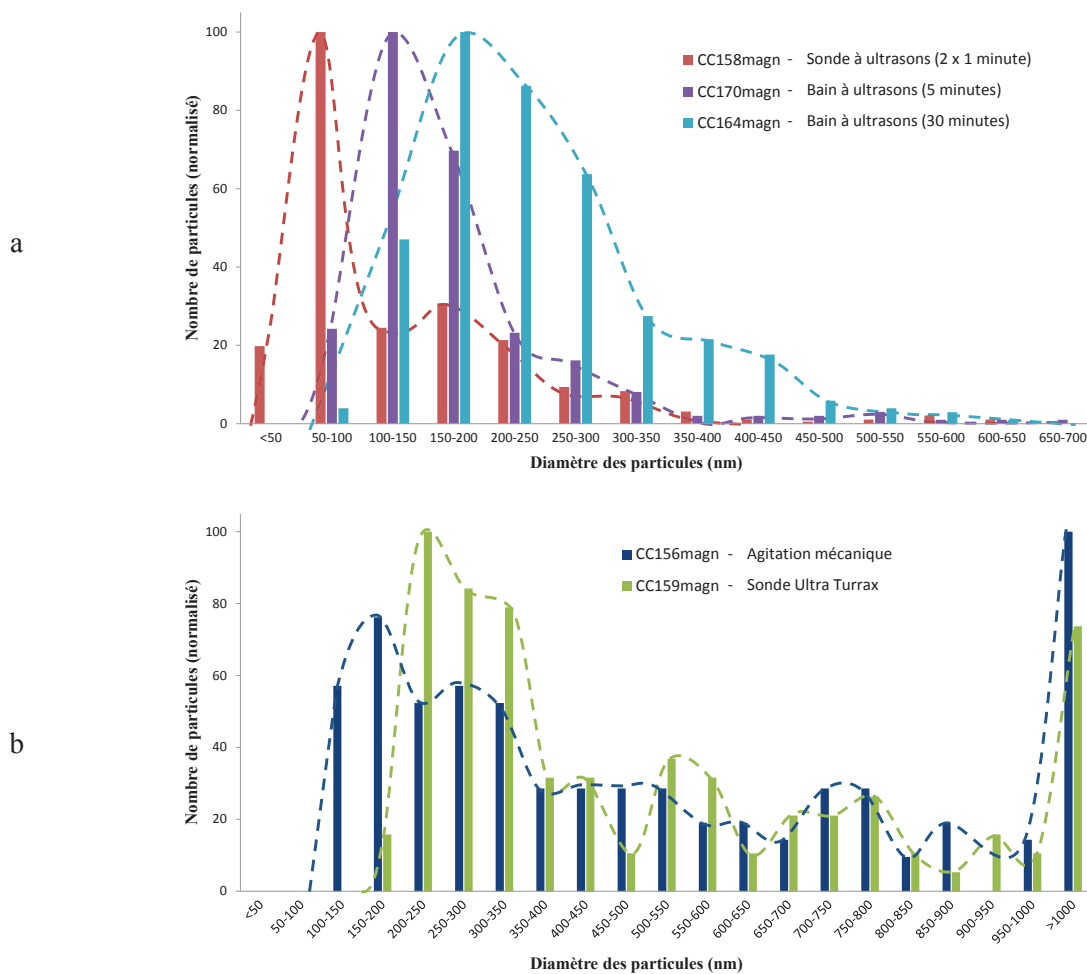


Figure 28 : Distribution de taille sur 150 à 300 particules magnétiques des latex CC158, CC164 et CC170 (a) et des latex CC156 et CC159 (b). Les particules magnétiques ont été obtenues après 3 lavages magnétiques avec un temps de séparation de 30 secondes. Les diamètres sont obtenus à partir des mesures des clichés MET. Le nombre de particules est normalisé pour pouvoir comparer les différentes distributions de taille.

Dans les polymérisations CC158, C170 et CC164 (Figure 28a), utilisant la sonde à ultrasons (CC158) ou le bain à ultrasons (5 min, CC170 et 30 min, CC164), on constate qu'il existe une population de particules majoritaire, centrée respectivement autour de 75, 125 et 175 nm, et dont la distribution

s'élargit à mesure que le procédé de dispersion devient moins énergétique. Dans tous les cas, on note la présence de plusieurs épaulements vers les tailles plus élevées. On ne peut pas complètement écarter l'hypothèse que les gouttelettes initiales puissent subir en début ou pendant la polymérisation des phénomènes de coalescence ou de mûrissement d'Ostwald conduisant à une augmentation de la taille des gouttelettes et donc des particules. Toutefois comme on ne connaît pas la distribution initiale de taille de gouttelettes, il apparaît difficile de discuter davantage ces résultats.

Dans le cas de l'utilisation de l'agitation mécanique (CC156) et de l'Ultra Turrax® (CC159), la distribution de taille des particules magnétiques constituant le latex est multimodale, avec un nombre non négligeable de particules ayant un diamètre supérieur à 1 μm (Figure 28b). Les gouttelettes riches en oxyde de fer obtenues par ces procédés de dispersion ont des tailles variables (jusqu'à 900 nm en DDL). Ces particules de taille élevées peuvent soit provenir directement de la nucléation de gouttelettes de taille équivalente, soit résulter de la précipitation de chaînes en croissance issues de nucléation secondaire ou encore résulter de la coalescence de gouttelette et/ou de particules de tailles inférieures. Une fois de plus, la distribution de taille des gouttelettes initiales est très élevée et il est par conséquent difficile d'avoir une vision claire du mécanisme de nucléation.

- ***Influence du procédé de dispersion des oxydes de fer sur la réponse magnétique***

Dans tous les cas, les latex obtenus possèdent une réponse magnétique élevée, puisque 30 secondes suffisent pour séparer efficacement les particules magnétiques du milieu. En ce qui concerne le taux de particules magnétiques, il varie de 2,9 à 37 % : plus la taille des particules magnétiques est importante, plus le taux de particules magnétiques est élevé (Tableau 18).

La teneur en oxyde de fer (%OF) des particules est comprise entre 67 et 91 % et dépend peu du procédé de dispersion. Il semble donc qu'elle soit déterminée plutôt par la capacité de gonflement des agrégats d'oxydes de fer par le monomère qui dépend vraisemblablement de la densité de greffage en MPS. Enfin, le taux d'oxyde de fer dans l'ensemble du latex est compris entre 28 et 36 % et proche des valeurs théoriques, à l'exception des latex CC158 (sonde à ultrasons), CC159 (sonde Ultra Turrax®) et CC164 (bain à ultrasons, 30 minutes) où le taux d'oxyde de fer est supérieur au taux théorique, en raison d'un dépôt de polymère sur les parois du réacteur.

IV.3.5. Conclusion sur la polymérisation en émulsion du MMA

La surface couverte par un tensioactif étant plus importante pour le PMMA que pour le PS, les particules de PMMA nécessitent une quantité plus faible de tensioactif pour être stabilisées. Il est donc possible de travailler à 1 g L^{-1} de CTAB (au lieu de 2 g L^{-1} pour le styrène).

Par ailleurs, la diminution de la concentration en monomère ne nuit pas au déroulement de la polymérisation et des taux de conversions élevés sont atteints même pour une concentration en MMA de 30 g L^{-1} . A cette concentration en monomère, les latex obtenus possèdent une bonne réponse

magnétique puisqu'ils peuvent être séparés en seulement 30 secondes. Ils contiennent jusqu'à 16 % de particules magnétiques. Ces dernières sont très chargées et peuvent contenir jusqu'à 91 % d'oxyde de fer.

Une étude de l'état initial du système a montré qu'avant ajout de monomère, les oxydes de fer modifiés sont instables dans l'eau, même en présence de tensioactif. En revanche, en présence de monomère, les oxydes de fer initialement agrégés dans l'eau peuvent être redispersés sous la forme de petites gouttelettes de monomère chargées en oxydes de fer et stabilisées par le CTAB, dont la taille varie entre 100 nm et 5 μ m en fonction du procédé d'homogénéisation utilisé pour disperser les oxydes de fer dans le milieu (bain à ultrasons, sonde Ultra Turrax, sonde à ultrasons ou agitation mécanique). Ces gouttelettes riches en oxyde de fer peuvent être également vues comme des agrégats d'oxydes de fer gonflés de monomère. Plus le procédé de dispersion est énergétique, plus la taille des gouttelettes de monomère chargées en oxydes de fer est faible.

Le procédé de dispersion des oxydes de fer modifiés a par conséquent une très forte influence sur la taille des particules finales. En effet, globalement plus la taille des gouttelettes chargées en oxydes de fer est petite, plus la taille des particules finale est faible. Toutefois, la dispersion de taille est élevée dans tous les cas (D_a entre 1,5 et 5,7) avec une distribution multimodale. Cette large distribution de taille peut être attribuée à des phénomènes de déstabilisation des gouttelettes de monomère (coalescence) ou des particules en croissance (coagulation) mais des analyses complémentaires seraient nécessaires afin de confirmer ces hypothèses. Le taux de particules magnétiques dépend fortement de la taille des particules de latex et augmente en général lorsque la taille de ces dernières augmente.

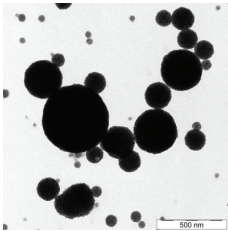
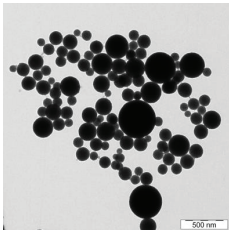
Afin d'améliorer la dispersion de taille des particules magnétiques, nous allons à présent nous intéresser à la polymérisation en miniémulsion. L'utilisation de la sonde à ultrasons a permis d'obtenir un PDI de 0,15 pour les gouttelettes initiales et nous souhaitons conserver cette « faible » dispersité de taille en utilisant un agent hydrophobe, qui permet de prévenir les phénomènes d'instabilité des gouttelettes initiales, tel que le mûrissement d'Ostwald.

V. Encapsulation par polymérisation en miniémulsion

La polymérisation en miniémulsion requiert la présence d'un agent hydrophobe (I.3.3), qui permet de limiter le mûrissement d'Ostwald et de conserver ainsi la stabilité des gouttelettes obtenues à l'issue du procédé de miniémulsification. L'agent hydrophobe utilisé dans cette partie est l'acrylate d'octadécyle (ODA), car il a l'avantage de posséder une fonction méthacrylate, copolymérisable avec le monomère. La polymérisation du MMA a été conduite avec 4 % en masse d'ODA par rapport au monomère (CC174), dans des conditions similaires à celles utilisées lors de l'expérience CC158. Les

résultats obtenus pour CC174 (avec ODA) sont comparés à ceux de CC158 (sans ODA) et sont décrits dans le Tableau 19.

Tableau 19 : Polymérisations en émulsion et en miniémulsion du MMA conduites en présence d'oxydes de fer modifiés par le MPS.*

	CC158, sans ODA	CC174, avec ODA
D_h à $t = 0$ (nm)	104	121
PDI	0,15	0,24
Durée de polymérisation	6 h	3 h 20
Conversion (%)	100	80
Clichés MET de la partie magnétique ^a		
D_n^a (nm)	140	160
Gamme de taille ^a (nm)	30 - 870	40 - 416
D_d^a	3,34	1,49
% PM	2,9	1,6
%OF dans la PM	67	71
%OF (et %OF _{th})	29 (25)	30 (29)

*Les polymérisations ont été conduites à 70 °C sous agitation mécanique à 300 trs min⁻¹ sur 100 g d'eau avec [MMA] = 30 g L⁻¹, [OF modifiés] = 10 g L⁻¹, [AIBA] = 0,3 g L⁻¹ et [CTAB] = 1 g L⁻¹. Le mélange eau/CTAB/monomère/oxydes de fer modifiés a été homogénéisé avant polymérisation à l'aide d'une sonde à ultrasons, utilisée à une puissance de 500 W pendant 2 fois 1 minute. Lorsque l'ODA a été utilisé, il a été introduit dans le monomère à hauteur de 4 % en masse par rapport au monomère.

^a Les statistiques des tailles sont effectuées sur la partie magnétique des latex, obtenue après 3 lavages magnétiques avec un temps de séparation de 30 secondes.

On constate qu'en présence d'ODA, la distribution de taille des particules magnétiques finales est nettement plus étroite ($D_d = 1,5$ au lieu de 3,3), tandis que le diamètre des gouttelettes dans le milieu initial est dans la même gamme de taille que celui obtenu en l'absence d'ODA. Les phénomènes de déstabilisation des gouttelettes ont donc bien pu être limités par l'ajout de l'agent hydrophobe.

En observant les histogrammes de taille pour ces deux polymérisations, on constate que l'utilisation d'ODA a permis l'obtention d'une population unique de particules magnétiques centrée autour de 150

nm, bien que la dispersion de taille soit toujours relativement importante : $D_d = 1,5$ à cause d'un épaulement vers les diamètres élevés (Figure 29).

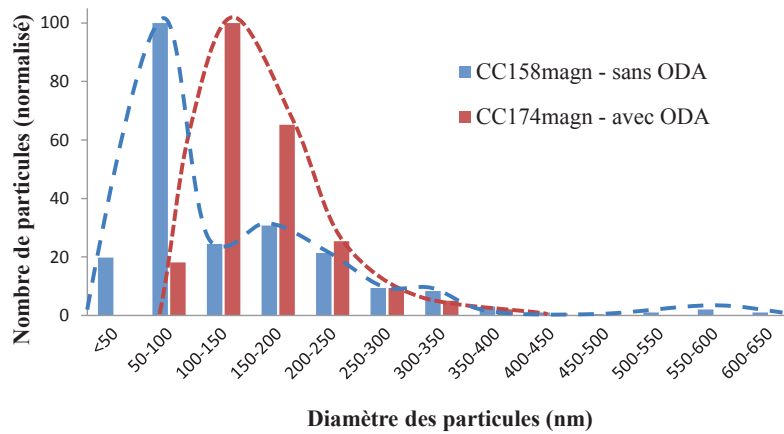


Figure 29 : Distribution de taille sur 300 particules des latex CC158 (sans ODA) et CC174 (avec ODA), obtenues après 3 lavages magnétiques avec un temps de séparation de 30 secondes. Les diamètres sont mesurés à partir des clichés de MET. Le nombre de particules est normalisé pour pouvoir comparer les deux distributions de taille.

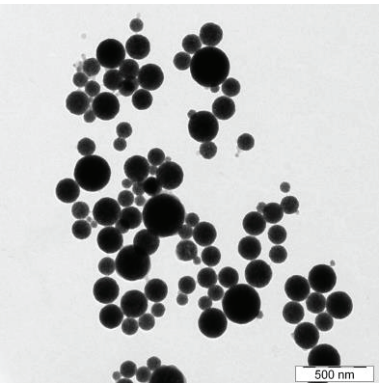
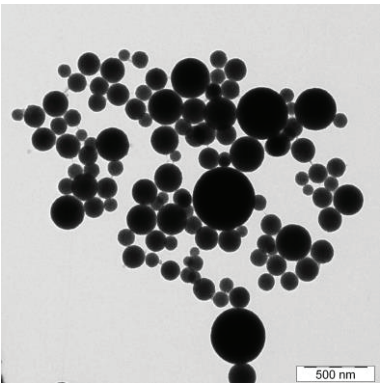
La polymérisation en miniémulsion a permis d'améliorer la distribution de taille des particules obtenues, mais elle a également contribué à mieux distribuer l'oxyde de fer dans l'ensemble des particules. Les particules magnétiques contiennent alors moins d'oxyde de fer en moyenne, d'où une diminution du taux de particules magnétiques ($< 3\%$, Tableau 19). Dans le but d'augmenter ce taux, trois possibilités ont été envisagées :

- La diminution de la concentration en CTAB pour augmenter la taille des gouttelettes
- L'augmentation de la concentration en oxyde de fer modifié afin d'augmenter le rapport [OF modifiés]/[monomère]
- L'utilisation d'un autre procédé de dispersion des oxydes de fer afin d'augmenter la taille des gouttelettes de monomère

V.1. Influence de la diminution de la concentration en CTAB

L'étude portant sur l'influence de la concentration en tensioactif pour la polymérisation en émulsion du MMA a montré qu'avec $0,5 \text{ g L}^{-1}$ de CTAB (CC133, partie IV.3.1), le latex obtenu n'était pas très stable. La polymérisation en miniémulsion s'effectuera donc avec $0,5 \text{ g L}^{-1}$ (CC175) pour vérifier si la présence d'ODA permet une stabilisation suffisante des gouttelettes de monomère pour obtenir un latex stable et a priori de diamètre plus important qu'à 1 g L^{-1} de CTAB (CC174). Les conditions et résultats des polymérisations CC175 et CC174 sont décrits dans le Tableau 20.

Tableau 20 : Polymérisations en miniémulsion du MMA conduites en présence d'oxydes de fer modifiés par le MPS, pour deux concentrations différentes en CTAB.*

	CC175	CC174
[CTAB] (g L ⁻¹)	0,5	1
D _h à t = 0 (nm)	130	121
PDI	0,22	0,24
Durée de polymérisation	3 h 20	3 h 20
Conversion (%)	80	80
Clichés MET de la partie magnétique ^a		
D _n ^a (nm)	190	160
Gamme de taille ^a (nm)	50 – 810	40 - 416
D _d ^a	2,2	1,49
% PM	1,6	1,6
%OF dans la PM	69	71
%OF (et %OF _{th})	27 (29)	30 (29)

* Les polymérisations ont été conduites à 70 °C sous agitation mécanique à 300 trs min⁻¹ sur 100 g d'eau avec [MMA] = 30 g L⁻¹, [OF modifiés] = 10 g L⁻¹ et [AIBA] = 0,3 g L⁻¹. Le mélange eau/CTAB/monomère/oxydes de fer modifiés a été homogénéisé avant polymérisation à l'aide d'une sonde à ultrasons, utilisée à une puissance de 500 W pendant 2 fois 1 minute. L'ODA a été introduit à hauteur de 4 % en masse par rapport au monomère.

^a Les statistiques des tailles ont été effectuées sur la partie magnétique des latex, obtenue après 3 lavages magnétiques avec un temps de séparation de 30 secondes.

La polymérisation en miniémulsion du MMA avec 0,5 g L⁻¹ de CTAB conduit à un latex stable. Une dispersion convenable des oxydes de fer dans le milieu de polymérisation et une stabilisation des gouttelettes par ajout d'ODA permet donc d'augmenter la stabilité colloïdale du milieu, ce qui permet de diminuer la quantité de tensioactif.

L'état initial de ces deux systèmes est similaire (diamètres des gouttelettes proches de 120-130 nm). Dans les deux cas, la conversion est de 80 %. Les particules obtenues pour une concentration de CTAB de 0,5 g L⁻¹ possèdent une taille et une distribution de taille légèrement plus importantes que

celles obtenues avec 1 g L^{-1} de CTAB, en raison notamment de la présence de quelques grosses particules ayant un diamètre d'environ 700 nm (Figure 25). La fraction de particules magnétiques est par ailleurs identique ($\%PM = 1,6$) dans les deux cas, et toujours trop faible. La diminution de la concentration en CTAB n'a donc pas permis d'augmenter la taille des particules, ni le taux de particules magnétiques.

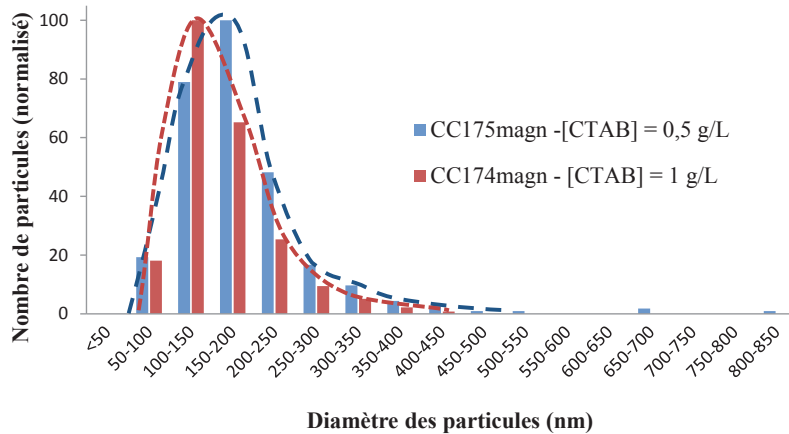


Figure 30 : Distribution de taille sur 300 particules de la fraction magnétique des latex CC175 et CC174, obtenues après 3 lavages magnétiques avec un temps de séparation de 30 secondes. Les diamètres sont mesurés à partir des clichés de MET. Le nombre de particules est normalisé pour pouvoir comparer les deux distributions de taille.

Le but était d'obtenir un taux de particules magnétiques plus élevé en diminuant la quantité de tensioactif, mais cela n'a pas été le cas. Nous avons alors observé l'intégralité du latex au microscope électronique à transmission (Figure 31) afin de comprendre pourquoi le taux de particules magnétiques est faible. Malgré une dépolymérisation des particules de PMMA qui induisent l'observation d'artefacts sur les clichés MET (les particules ne sont plus sphériques), on constate qu'il n'existe quasiment pas de particules de latex sans oxyde de fer dans les deux cas. De nombreuses particules contiennent très peu d'oxyde de fer, contrairement à la polymérisation en émulsion où la majorité des particules du surnageant ne contenait pas d'oxyde de fer.

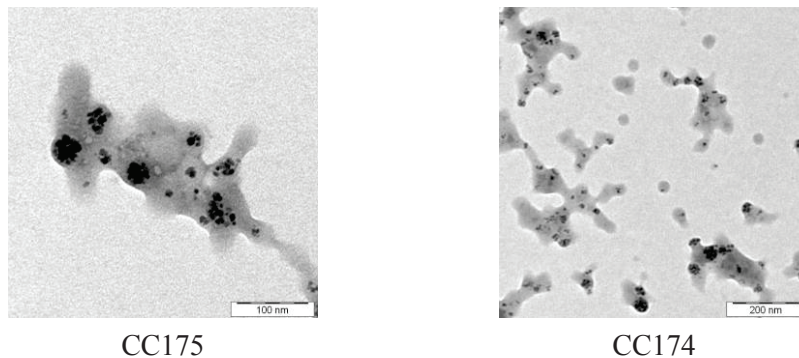


Figure 31 : Clichés MET des latex CC175 et 174 obtenus avec de l'ODA comme agent hydrophobe et une concentration en tensioactif de $0,5 \text{ g L}^{-1}$ et 1 g L^{-1} respectivement.

Paradoxalement l'obtention d'un latex dont toutes les particules contiennent des oxydes de fer n'est pas avantageuse à ce stade. En effet, la répartition « homogène » des oxydes de fer conduit à de nombreuses particules contenant peu d'oxyde de fer, et présentant par conséquent une faible réponse magnétique. En revanche cela devient très intéressant s'il est possible d'augmenter la teneur en oxyde de fer par particule en augmentant la quantité initialement introduite dans le milieu.

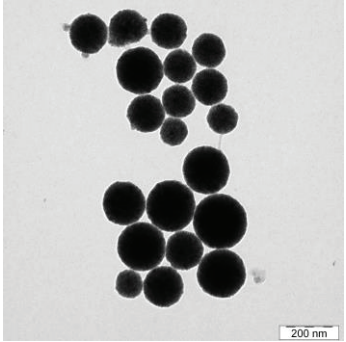
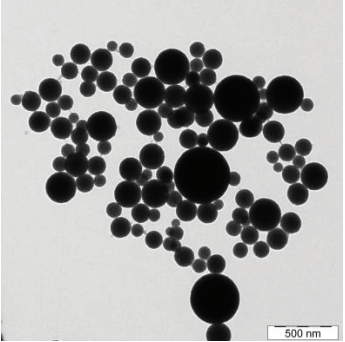
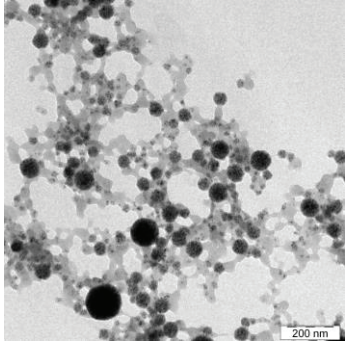
En résumé, la diminution de la concentration en CTAB n'a pas permis d'augmenter la teneur en particules magnétiques. La concentration en CTAB sera donc maintenue à 1 g L^{-1} dans la suite de l'étude. Pour augmenter le taux de particules magnétiques, nous allons donc tenter d'augmenter la concentration en oxyde de fer modifiés introduits dans le milieu pour augmenter globalement la teneur en oxyde de fer dans les particules.

V.2. Augmentation de la concentration en oxyde de fer modifié

La concentration en oxyde de fer, qui était de 10 g L^{-1} auparavant (CC174) a été augmentée à 15 g L^{-1} (CC187). Une polymérisation en l'absence d'ODA (CC176) a également été effectuée dans les mêmes conditions (Tableau 21).

Tableau 21 : Polymérisations en émulsion et miniémulsion du MMA conduites en présence d'oxydes de fer modifiés par le MPS à deux concentrations.*

	CC187	CC174	CC176
[ODA] (g L^{-1})	1,2	1,2	0
[OF modifiés] (g L^{-1})	15	10	15
D_h à $t = 0$ (nm)	158	121	113
PDI	0,25	0,24	0,18
Durée de polymérisation	3 h 30	3 h 20	3 h 10
Conversion (%)	86	80	47

	CC187	CC174	CC176
Clichés MET de la partie magnétique ^a			
D_n^a (nm)	200	160	/
Gamme de taille ^a (nm)	80 – 560	40 - 416	/
D_d^a	1,72	1,49	/
% PM	10,7	1,6	28,9
%OF dans la PM	71	71	38
%OF (et %OF _{th})	33 (37)	30 (29)	40 (51)

*Les polymérisations ont été réalisées à 70 °C sous agitation mécanique à 300 trs min⁻¹ sur 100 g d'eau avec [MMA] = 30 g L⁻¹, [AIBA] = 0,3 g L⁻¹ et [CTAB] = 1 g L⁻¹. Le mélange eau/CTAB/monomère/oxydes de fer modifiés a été homogénéisé avant polymérisation à l'aide d'une sonde à ultrasons, utilisée à une puissance de 500 W pendant 2 fois 1 minute. Lorsque l'ODA est présent, il est introduit dans le monomère à hauteur de 4 % en masse par rapport au monomère.

^a Les statistiques des tailles sont effectuées sur la partie magnétique des latex, obtenue après 3 lavages magnétiques avec un temps de séparation de 30 secondes.

L'augmentation de la concentration en oxyde de fer a bien permis d'augmenter le taux de particules magnétiques, puisqu'en présence d'ODA ce taux passe de 1,6 % à 10,7 %. En absence d'ODA, le taux de particules magnétiques est encore plus élevé (28,9 %). Toutefois cette augmentation provient d'une agrégation des particules magnétiques, qui est observable par i) une différence importante entre le taux d'oxyde de fer théorique et le taux d'oxyde de fer expérimental, dû à un dépôt important d'oxyde de fer sur les parois du réacteur, ii) un taux d'oxyde de fer faible dans les particules magnétiques (38 % uniquement contre 70 % en moyenne) et iii) une conversion faible d'environ 47 %. Les clichés MET confirment par ailleurs la présence d'agrégats de particules dans le latex total.

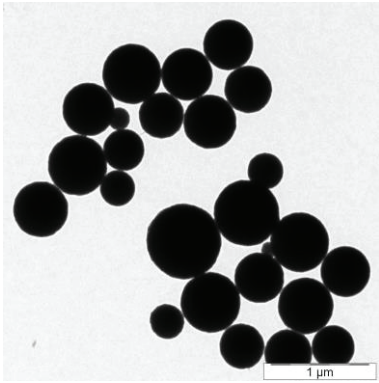
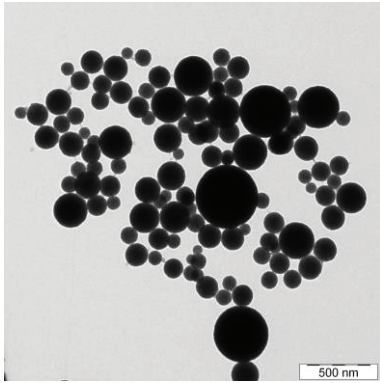
Cette instabilité n'est pas observée pour la polymérisation en présence d'ODA. En effet, ce dernier permet de mieux stabiliser les gouttelettes de monomère et donc les particules magnétiques, dont le diamètre final est d'environ 200 nm. Les particules ont globalement la même composition que celles synthétisées avec 10 g L⁻¹ d'oxydes de fer modifiés, i.e. environ 70 % d'oxyde de fer dans la partie magnétique.

L'augmentation du taux d'oxyde de fer a donc bien permis d'augmenter le taux de particules magnétiques. Toutefois, dans ce cas l'utilisation d'ODA est nécessaire pour stabiliser les gouttelettes de monomère et obtenir un latex stable.

V.3. Augmentation de la taille des gouttelettes en utilisant un autre procédé de dispersion des oxydes de fer

Nous avons vu que l'utilisation de l'Ultra Turrax® permettait d'obtenir des gouttelettes de tailles plus importantes (CC159, Tableau 18, partie IV.3.2, page 145). Dans cette étude, nous allons donc comparer les résultats des polymérisations en (mini)émulsion réalisées à l'aide de deux procédés de dispersion différents : la sonde Ultra Turrax® (CC215) et la sonde à ultrasons (CC175). Les conditions et les résultats sont reportés dans le Tableau 22.

Tableau 22 : Comparaison entre deux procédés de dispersion des oxydes de fer modifiés lors de polymérisation en (mini)émulsion du MMA en présence d'ODA.*

	CC215 Ultra Turrax®	CC174 Sonde à ultrasons
D_h à $t = 0$ (nm)	/ ^a	121
PDI	/ ^a	0,24
Durée de polymérisation	4 h 20	3 h 20
Conversion (%)	100	80
Clichés MET de la partie magnétique ^a		
D_n^a (nm)	410	160
Gamme de taille ^a (nm)	130-830	40 - 416
D_d^a	1,34	1,49
% PM	9,5	1,6
%OF dans la PM	71	71
%OF (et %OF _{th})	14 (25)	30 (29)

*Les polymérisations ont été conduites à 70 °C sous agitation mécanique à 300 trs min⁻¹ sur 100 g d'eau avec [MMA] = 30 g L⁻¹, [OF modifiés] = 10 g L⁻¹, [AIBA] = 0,3 g L⁻¹ et [CTAB] = 1 g L⁻¹. Le mélange eau/CTAB/monomère/oxydes de fer modifiés a été homogénéisé avant polymérisation à l'aide d'une sonde à ultrasons, utilisée à une puissance de 500 W pendant 2 fois 1 minute ou à l'aide d'une sonde Ultra Turrax à 1000 trs min⁻¹ pendant 10 minutes puis à 1500 trs min⁻¹ pendant 10 minutes. L'ODA est introduit dans le monomère à hauteur de 4 % en masse par rapport au monomère.

^a Tailles non mesurées. ^b Les statistiques des tailles sont effectuées sur la partie magnétique des latex, obtenue après 3 lavages magnétiques avec un temps de séparation de 30 secondes.

Dans le cas de l'utilisation de la sonde Ultra Turrax®, on constate un dépôt d'oxyde de fer sur les parois du réacteur, qui se traduit par une teneur en oxyde de fer dans le latex final bien inférieure à la teneur théorique. La sonde Ultra Turrax® permet toutefois l'obtention de particules de tailles plus importantes, puisque le diamètre moyen est de 410 nm au lieu de 160 nm pour la sonde à ultrasons. La dispersité de taille est relativement faible, mais en observant l'histogramme de taille (Figure 32), on constate qu'il s'agit d'une distribution multimodale de particules magnétiques. En comparant ces résultats obtenus avec ceux sans ODA (CC159), on constate que la distribution de taille est tout de même plus resserrée. La distribution de taille obtenue par émulsification avec l'Ultra Turrax reste malgré tout plus large que celle obtenue avec la sonde à ultrasons.

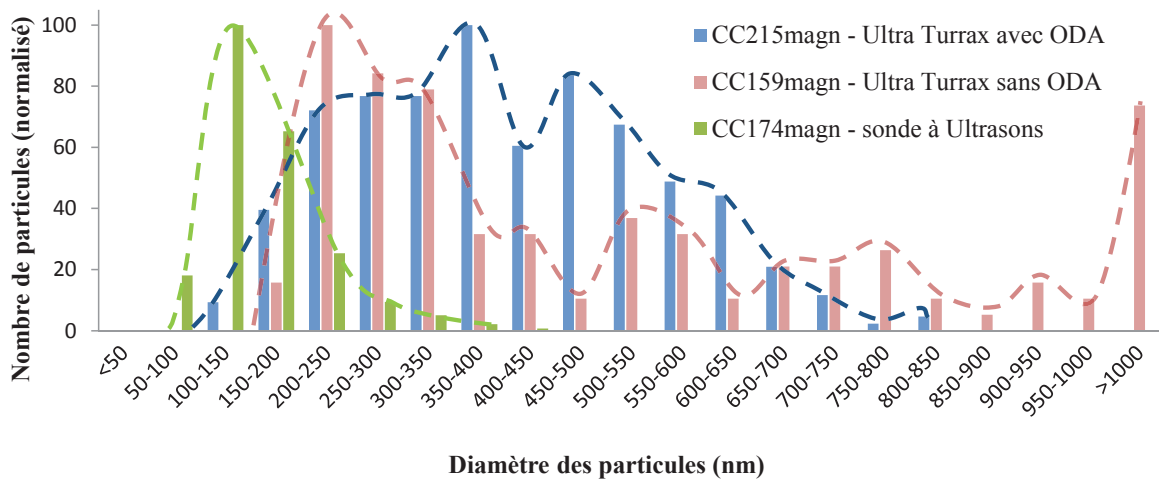


Figure 32 : Distribution de taille de 300 particules magnétiques du latex CC215, CC159 et CC174, obtenues après 3 lavages magnétiques avec un temps de séparation de 30 secondes. Les diamètres sont mesurés à partir des clichés de MET.

Grâce à un diamètre de particules magnétiques plus élevé, la réponse des particules magnétiques est meilleure et de ce fait, le taux de particules magnétiques a augmenté à 9,5 %, alors qu'il était de 1,7 % dans le cas de l'utilisation de la sonde à ultrasons.

V.4. Conclusion sur l'encapsulation par polymérisation en miniémulsion

En résumé, l'utilisation d'un agent hydrophobe permet de maintenir la stabilité des gouttelettes de monomère à l'état initial et cela permet de resserrer fortement la distribution de taille des particules

magnétiques obtenues. La taille des particules dépend directement de la taille initiale des gouttelettes, que l'on peut moduler en fonction du procédé de dispersion des oxydes de fer.

La réponse magnétique est directement reliée à la taille des particules. Les particules ayant un diamètre d'environ 400 nm obtenues avec la sonde Ultra Turrax ont un meilleur taux de particules magnétiques (10 %) que les particules de 160 nm de diamètre obtenues par la sonde à ultrasons (2 %). L'augmentation de la concentration en oxyde de fer de 10 à 15 g L⁻¹ permet également d'obtenir une fraction magnétique plus élevée (respectivement de 2 % et 11 %). En revanche la diminution de la quantité de tensioactif ne permet pas d'augmenter le taux de particules magnétiques mais elle peut affecter la distribution de taille, par un début de coalescence des gouttelettes.

VI. Résumé des différentes polymérisations du MMA

Les différentes polymérisations du MMA permettant l'obtention de latex magnétiques ayant une réponse à l'aimant de 30 secondes et dont les particules finales ne sont pas agrégées sont résumées dans le Tableau 23. Des mesures de magnétisation à saturation ont pu être effectuées pour certains de ces latex et les valeurs obtenues sont rassemblées dans le Tableau 23.

Tableau 23 : Résumés des différentes polymérisations en (mini)émulsion du MMA ayant un temps de réponse à l'aimant inférieur à 30 secondes et ne présentant pas d'agrégats en MET.*

	[OF] (g L ⁻¹)	CTAB (g L ⁻¹)	Présence d'ODA	Procédé de dispersion	%PM (%)	%OF dans PM (%)	D _n (nm)	Đ _d	M _s (emu g ⁻¹)
CC156	10	1	Non	30 min d'agitation mécanique à 500 trs min ⁻¹	37	81	650	5,74	
CC158	10	1	Non	Sonde à ultrasons ^a	2,9	67	140	3,34	
CC159	10	1	Non	Ultra Turrax®	23	91	540	2,51	
CC164	10	1	Non	30 min au bain à ultrasons	6,0	80,7	240	1,51	44,5
CC170	10	1	Non	5 min au bain à ultrasons	16	83	175	2,22	45,9
CC174	10	1	Oui	Sonde à ultrasons	1,6	71	160	1,49	
CC175	10	0,5	Oui	Sonde à ultrasons	1,6	70	190	2,20	
CC187	15	1	Oui	Sonde à ultrasons	11	71,2	200	1,72	48,1
CC215	10	1	Oui	UltraTurrax®	9,5	70,8	410	1,34	45,2

*Les diamètres et dispersion de tailles sont donnés pour les parties magnétiques après 3 lavages magnétiques de 30 secondes. Les polymérisations ont été conduites à 70 °C sous agitation mécanique à 300 trs min⁻¹ sur 100 g d'eau avec [MMA] = 30 g L⁻¹, [AIBA] = 0,3 g L⁻¹. Lorsque l'ODA est présent dans le milieu de polymérisation, il est introduit dans le monomère à hauteur de 4 % en masse par rapport au monomère.

^a La sonde à ultrasons est utilisée 2 fois 1 minute à une puissance de 500 Watts. ^b L'Ultra Turrax® est utilisé 10 minutes à 1 000 trs min⁻¹, puis 10 min à 1 500 trs min⁻¹.

La magnétisation à saturation des particules commerciales Ademtech est de l'ordre de 40 emu g⁻¹, tandis que celles mesurées pour les latex magnétiques synthétisés dans cette étude sont comprises entre 44 et 48 emu g⁻¹. Les différentes particules magnétiques obtenues dans le cadre de cette thèse sont donc utilisables pour des applications de séparation magnétique.

VII. Conclusions du chapitre 3

Au travers de ce chapitre, nous avons vu qu'il était possible d'encapsuler des particules d'oxyde de fer par polymérisations en dispersion, en émulsion ou en miniémulsion. Dans tous les cas, une modification de surface des oxydes de fer par du MPS est nécessaire pour permettre leur encapsulation dans les particules de latex.

Dans le cas de la polymérisation en dispersion, nous avons vu qu'il existait de fortes interactions entre les oxydes de fer et la PVP ou le PEGMA. Celles-ci sont atténuées lorsque les oxydes de fer sont modifiés en surface. Différents paramètres ont été étudiés : nature du stabilisant, nature de l'amorceur et concentration en monomère pour tenter d'obtenir des particules magnétiques répondant à notre cahier des charges. Dans tous les cas, les oxydes de fer sont proches de la surface des particules de latex et non au cœur à cause de l'adsorption du stabilisant sur la surface des oxydes de fer, qui rend ces derniers partiellement hydrophiles et les empêche de s'enterrer au cœur des particules.

Pour encapsuler les oxydes de fer au cœur des particules, l'utilisation d'un agent réticulant (le DVB) est nécessaire afin de diminuer la mobilité moléculaire des chaînes en croissance et empêcher les particules d'oxyde de fer de migrer vers la surface. L'utilisation de DVB est donc une voie prometteuse pour l'encapsulation des oxydes de fer par polymérisation en dispersion et mériterait d'être davantage explorée.

Pour nous affranchir des interactions entre le stabilisant et les oxydes de fer modifiés, nous nous sommes ensuite intéressés à la polymérisation en émulsion du styrène, mais nous nous sommes rapidement heurtés à des problèmes de stabilité colloïdale. En effet, différents stabilisants ont été testés et seul le CTAB a permis l'obtention d'un latex stable. Ce dernier est composé une petite fraction de particules magnétiques et d'une grande fraction de particules non magnétiques contenant peu ou pas d'oxydes de fer, et présente par conséquent une faible réponse magnétique. La partie magnétique est quant à elle composée de particules fortement chargées en oxyde de fer. La composition du latex est donc hétérogène.

La réponse magnétique étant liée à la taille des particules et à leur magnétisation à saturation, l'augmentation du taux de particules magnétiques passe soit par une augmentation de la taille des particules, soit par une augmentation de la teneur en oxyde de fer dans les particules. Toutefois la réponse magnétique ne doit pas être obtenue au détriment de la stabilité des particules. En effet, les agrégats de taille micrométrique possèdent une bonne réponse magnétique mais il n'est pas possible de les utiliser pour des applications de séparation magnétique en raison de leur faible surface spécifique et de leur tendance à sédimenter rapidement.

La concentration en tensioactif cationique a ensuite été diminuée ainsi que la concentration en styrène pour tenter d'obtenir un taux plus élevé de particules magnétiques, mais dans les deux cas, les latex obtenus présentaient des signes de coagulation au cours de la polymérisation. Pour éviter ces problèmes de stabilité, nous avons ensuite choisi de travailler avec du MMA, plus hydrophile et plus facile à émulsionner et à stabiliser.

L'utilisation du MMA a permis de diminuer la concentration en CTAB à 1 g L^{-1} , mais les latex obtenus ont une faible réponse magnétique. Celle-ci est significativement améliorée en diminuant la concentration en MMA. L'influence du procédé de dispersion des oxydes de fer a ensuite été étudiée. Des latex ayant des diamètres variés, compris entre 160 et 540 nm ont été obtenus avec différents dispositifs d'homogénéisation (sonde et bain à ultrasons, agitation mécanique, sonde Ultra Turrax®). Dans tous les cas, la dispersion de taille est relativement importante (entre 1,6 et 5,7). Ces différentes polymérisations et l'étude de l'état initial ont permis de mettre en évidence la présence de gouttelettes de monomère chargées en oxyde de fer modifié, dont la taille dépend du procédé d'émulsification.

Enfin, nous avons étudié la polymérisation en miniémulsion, qui grâce à la présence d'un agent hydrophobe (ODA) permet de prévenir le mûrissement d'Ostwald. La taille des particules magnétiques est donc directement reliée à la taille des gouttelettes chargées en oxyde de fer. La polymérisation en miniémulsion a permis d'obtenir des dispersions de tailles nettement inférieures à celles obtenues par le procédé de polymérisation en émulsion. Cependant la réponse magnétique est également plus faible car les oxydes de fer sont initialement mieux répartis dans les gouttelettes de monomère. De ce fait la majorité des particules de latex contiennent peu d'oxyde de fer, d'où une fraction magnétique faible. Toutefois, ce taux a pu être augmenté en augmentant la concentration en oxyde de fer à 15 g L^{-1} et en augmentant la taille des particules par l'utilisation d'un homogénéisateur de type Ultra Turrax.

L'encapsulation des oxydes de fer par polymérisation en émulsion et en miniémulsion a permis l'obtention de latex magnétiques stables, contenant jusqu'à 23 % de particules magnétiques. Celles-ci contiennent jusqu'à 91 % d'oxyde de fer et leur diamètre est compris entre 160 et 540 nm, selon les conditions de polymérisation. Les mesures de magnétisation à saturation donnent des résultats compris entre 44 et 48 emu g^{-1} , qui sont des résultats tout à fait acceptables pour une application de séparation magnétique. Le meilleur compromis entre un taux de particules magnétiques élevé (15,8 %) et une dispersion de taille étroite ($D_d = 2,2$) est obtenu par une polymérisation en émulsion dans les conditions de CC170 (Tableau 24).

Tableau 24 : Conditions de la polymérisation en émulsion du MMA offrant le meilleur compromis entre un taux de particules magnétiques élevé et une dispersion de taille étroite (CC170).

Réactifs	Concentration (g L^{-1})
MMA	30
OF non modifiés MPS	10
CTAB	1
AIBA	0,3

Le procédé de dispersion des oxydes de fer dans le milieu initial est l'utilisation du bain à ultrasons pendant 5 minutes.

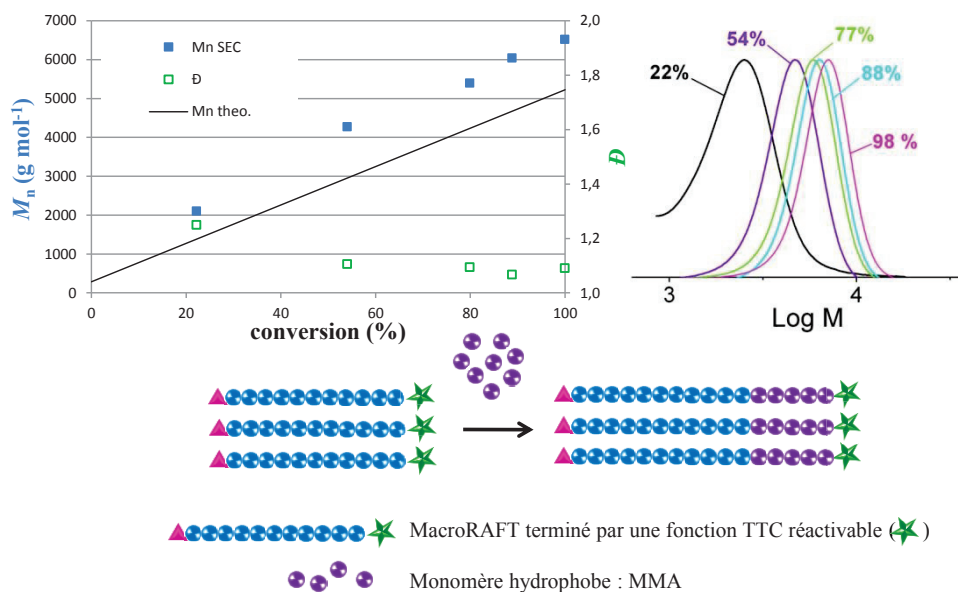
Références du chapitre 3

1. Lacroix-Desmazes, P., Polymérisation en dispersion. dans *Les latex synthétiques. Elaboration, Propriétés, Applications.*, Lavoisier: Paris, **2006**; p 259-288.
2. Daniel, J.-C.; Pichot, C., *Les latex synthétiques. Elaboration, Propriétés, Applications.*Lavoisier, **2006**.
3. Lok, K. P.; Ober, C. K. *Can. J. Chem.* **1985**, *63*, 209-216.
4. Paine, A. J.; Luymes, W.; McNulty, J. *Macromolecules* **1990**, *23*, 3104-3109.
5. Paine, A. J.; Deslandes, Y.; Gerroir, P.; Henrissat, B. *J. Colloid Interface Sci.* **1990**, *138*, 170-181.
6. Horák, D.; Benedyk, N. *J. Polym. Sci., Part A: Polym. Chem.* **2004**, *42*, 5827-5837.
7. Horák, D.; Petrovský, E.; Kapicka, A.; Frederichs, T. *J. Magn. Magn. Mater.* **2007**, *311*, 500-506.
8. Horák, D.; Semenyuk, N.; Lednický, F. *J. Polym. Sci., Part A: Polym. Chem.* **2003**, *41*, 1848-1863.
9. Ding, X. B.; Sun, Z. H.; Wan, G. X.; Jiang, Y. Y. *React. Funct. Polym.* **1998**, *38*, 11-15.
10. Zeng, H.; Lai, Q.; Liu, X.; Wen, D.; Ji, X. *J. Appl. Polym. Sci.* **2007**, *106*, 3474-3480.
11. Niu, M.; Du, M.; Gao, Z.; Yang, C.; Lu, X.; Qiao, R.; Gao, M. *Macromol. Rapid Commun.* **2010**, *31*, 1805-1810.
12. Bamnolker, H.; Margel, S. *J. Polym. Sci., Part A: Polym. Chem.* **1996**, *34*, 1857-1871.
13. Lacroix-Desmazes, P.; Guyot, A. *Polym. Adv. Technol.* **1997**, *8*, 608-615.
14. Smith, V. W.; Ewart, R. H. *J. Chem. Phys.* **1948**, *16*, 592-599.
15. Gilbert, R. G., *Emulsion polymerization, a mechanistic approach.*Academic Press, **1995**, London.
16. Harkins, W. D. *J. Am. Chem. Soc.* **1947**, *69*, 1428-1444.
17. Roe, C. P. *Ind. Eng. Chem.* **1968**, *60*, 20-23.
18. Ugelstad, J.; El-Aasser, M. S.; Vanderhoff, J. W. *J. Polym. Sci. Poly. Lett.* **1973**, *111*, 503-513.
19. Landfester, K. *Macromol. Rapid Commun.* **2001**, *22*, 896-936.
20. Antonietti, M.; Landfester, K. *Prog. Polym. Sci.* **2002**, *27*, 689-757.
21. Asua, J. M. *Prog. Polym. Sci.* **2002**, *27*, 1283-1346.
22. Landfester, K. *Angew. Chem., Int. Ed.* **2009**, *48*, 4488-4507.
23. Weiss, C.; van Herk, A. M.; Landfester, K. *Adv. Polym. Sci.* **2010**, *233*, 185-236.
24. Landfester, K.; Ramirez, L., P. . *Journal of Physics: Condensed Matter* **2003**, *15*, S1345.
25. Ouzineb, K.; Lord, C.; Lesauze, N.; Graillat, C.; Tanguy, P. A.; McKenna, T. *Chemical Engineering Science* **2006**, *61*, 2994-3000.
26. Macková, H.; Králová, D.; Horák, D. *J. Polym. Sci., Part A: Polym. Chem.* **2007**, *45*, 5884-5898.
27. Ober, C. K.; Lok, K. P. *Macromolecules* **1987**, *20*, 268-273.
28. Ober, C. K. *Makromol. Chem. Macromol. Symp.* **1990**, *35-36*, 87-104.
29. Guyot, A.; Tauer, K.; Asua, J. M.; Van Es, S.; Gauthier, C.; Hellgren, A. C.; Sherrington, D. C.; Montoya-Goni, A.; Sjoberg, M.; Sindt, O.; Vidal, F.; Unzue, M.; Schoonbrood, H.; Shipper, E.; Lacroix-Desmazes, P. *Acta Polymerica* **1999**, *50*, 57-66.
30. Chen, M.-Q.; Serizawa, T.; Kishida, A.; Akashi, M. *J. Polym. Sci., Part A: Polym. Chem.* **1999**, *37*, 2155-2166.
31. Lacroix-Desmazes, P.; Guyot, A. *Macromolecules* **1996**, *29*, 4508-4515.
32. Kobayashi, S.; Uyama, H.; Choi, J. H.; Matsumoto, Y. *Polym. Int.* **1993**, *30*, 265-270.
33. Kawaguchi, S.; Winnik, M. A.; Ito, K. *Macromolecules* **1995**, *28*, 1159-1166.
34. Kushchevskaya, N. F.; Shvets, T. M. *Powder Metallurgy and Metal Ceramics* **1996**, *34*, 120-121.

35. Sun, H.; He, J.; Wang, J.; Zhang, S.-Y.; Liu, C.; Sritharan, T.; Mhaisalkar, S.; Han, M.-Y.; Wang, D.; Chen, H. *J. Am. Chem. Soc.* **2013**, *135*, 9099-9110.
36. Pattanaik, M.; Bhaumik, S. K. *Mater. Lett.* **2000**, *44*, 352-360.
37. Bershtein, V. A.; Gun'ko, V. M.; Egorova, L. M.; Guzenko, N. V.; Pakhlov, E. M.; Ryzhov, V. A.; Zarko, V. I. *Langmuir* **2010**, *26*, 10968-10979.
38. Ma, C.; Li, C. *J. Colloid Interface Sci.* **1989**, *131*, 485-92.
39. Ma, C.; Li, C. *Colloids Surf.* **1990**, *47*, 117-23.
40. Lu, X.; Niu, M.; Qiao, R.; Gao, M. *J. Phys. Chem. B* **2008**, *112*, 14390-14394.
41. Rufier, C.; Reufer, M.; Dietsch, H.; Schurtenberger, P. *Langmuir* **2011**, *27*, 6622-6627.
42. Forestier, T.; Ferrié, M.; Ravaine, S. *Colloid Polym. Sci.* **2013**, *291*, 187-192.
43. McFarlane, N. L.; Wagner, N. J.; Kaler, E. W.; Lynch, M. L. *Langmuir* **2010**, *26*, 13823-13830.
44. Tseng, C. M.; Lu, Y. Y.; El-Aasser, M. S.; Vanderhoff, J. W. *J. Polym. Sci., Part A: Polym. Chem.* **1986**, *24*, 2995-3007.
45. Xu, S.; Ma, W.-F.; You, L.-J.; Li, J.-M.; Guo, J.; Hu, J. J.; Wang, C.-C. *Langmuir* **2012**, *28*, 3271-3278.
46. Nguyen, D., Thèse de doctorat intitulée: Etude de la nucléation contrôlée de latex polymère à la surface de nanoparticules d'oxyde pour l'élaboration de colloïdes hybrides structurés, Université Bordeaux 1, **2008**.
47. Lin, S.-Y.; Capek, I.; Hsu, T.-J.; Chern, C.-S. *J. Polym. Sci., Part A: Polym. Chem.* **1999**, *37*, 4422-4431.
48. Kniajanski, S.; Colborn, R. E.; Bales, B. C.; Riccobono, O.; Dulgar-Tulloch, A. J.; Stein, J.; Kandapallil, B. I. *J. Appl. Polym. Sci.* **2013**, *129*, 1726-1733.
49. Paxton, T. R. *J. Colloid Interface Sci.* **1969**, *31*, 19-30.
50. Roose, P.; De Doncker, P. *J. Appl. Polym. Sci.* **2004**, *92*, 3226-3230.
51. Stubbs, J. M.; Durant, Y. G.; Sundberg, D. C. *Langmuir* **1999**, *15*, 3250-3255.
52. Zhao, J.; Brown, W. *Langmuir* **1996**, *12*, 1141-1148.
53. Vale, H. M.; McKenna, T. F. *Colloids Surf., A* **2005**, *268*, 68-72.

Chapitre 4

Fonctionnalisation de la surface des particules de latex magnétiques et tests biologiques



Sommaire du chapitre 4

I. Synthèse de polymères fonctionnels.....	171
I.1. Cahier des charges et choix des polymères fonctionnels.....	171
I.2. Polymérisation radicalaire contrôlée et choix de la voie de synthèse	174
I.3. Choix des conditions de synthèse	176
I.4. Synthèse des polymères fonctionnels.....	176
I.5. Résumé des synthèses de polymères fonctionnels.....	184
II. Fonctionnalisation des particules de latex magnétiques	184
II.1. Fonctionnalisation par des charges de surface	185
II.2. Fonctionnalisation par des macro-RAFTs.....	188
II.3. Conclusion sur la fonctionnalisation	191
III. Etude de la capacité de capture/relargage des polymères fonctionnels	192
III.1. Principe et protocole des tests de capture/relargage par des particules magnétiques	192
III.2. Résultats obtenus sur des particules de silice magnétiques commerciales.....	194
III.3. Résultats sur les polymères adsorbés sur différents supports de silice	194
III.4. Résultats sur les particules magnétiques fonctionnelles	197
IV. Conclusions du chapitre 4	198
 <i>Références du chapitre 4.....</i>	 <i>200</i>

Ce dernier chapitre traite de la fonctionnalisation des particules de latex magnétiques en vue de leur application à la séparation magnétique d'espèces biologiques. Dans cette étude nous avons choisi d'utiliser des interactions électrostatiques pour la capture et le relargage d'espèces biologiques. Les particules de latex magnétiques seront donc fonctionnalisées par des charges positives et/ou négatives. Celles-ci peuvent être localisées directement à la surface des particules via l'utilisation de monomères ou d'amorceurs chargés ou alors introduites dans des chaînes déployées autour des particules. La première partie traite de la synthèse et de la caractérisation de ces chaînes chargées, également appelées polymères fonctionnels. La seconde partie de ce chapitre détaille la fonctionnalisation des particules de latex magnétiques à partir de ces polymères fonctionnels ou de co-monomères chargés. Enfin la dernière partie porte sur l'évaluation de l'efficacité des polymères fonctionnels dans leur application de capture/relargage de cibles biologiques sur des systèmes modèles à base de silice. Pour cela les résultats des polymères synthétisés dans ce chapitre seront comparés aux résultats obtenus pour des particules commerciales.

I. Synthèse de polymères fonctionnels

I.1. Cahier des charges et choix des polymères fonctionnels

De nombreuses études ont été effectuées pour définir l'état de surface de différents microorganismes. Il est cependant difficile de déterminer précisément quels paramètres conduisent à une bonne adhésion ou au contraire à la répulsion des microorganismes sur un matériau.¹ Une étude du potentiel zêta de plusieurs bactéries indique que celles-ci ont généralement un potentiel zêta négatif.² Par ailleurs, les polymères chargés positivement, ou polycations, sont connus pour pouvoir capter de nombreuses cibles biologiques, et l'un des plus utilisés est certainement le poly(éthylène imine) ou PEI. Il permet par exemple, une fois adsorbé sur des particules de latex magnétiques anioniques, de capturer par interaction électrostatique des acides nucléiques ou des oligonucléotides (ODN)^{3, 4} ou encore des virus⁵. Le relargage de ces espèces biologiques n'est cependant pas décrit dans ces études.

Pour favoriser le relargage des cibles biologiques, il serait intéressant d'utiliser des polymères présentant des charges négatives, appelés polyanions, qui permettraient le relargage par des répulsions électrostatiques.⁶⁻⁸ L'idéal pour une application de capture et relargage est donc l'utilisation d'un matériau pouvant présenter des charges positives ou négatives en fonction du pH du milieu. Cette inversion de charge a déjà été utilisée dans l'art antérieur pour capter et relarguer des nanoparticules d'or ou pour capter des brins d'ARN (Figure 1).⁹

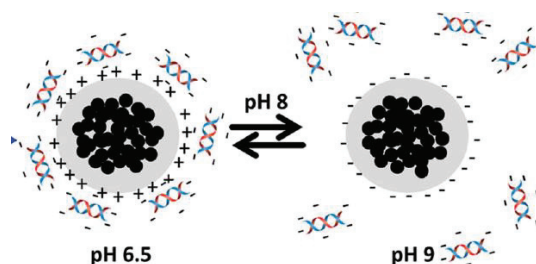


Figure 1 : Schéma représentant un exemple de capture/relargage de brins d'ARN par des particules de latex magnétiques selon Bigall et al.⁹

Dans le cadre de notre étude, nous nous sommes intéressés à des polymères amphotères, également appelés polyampholytes, pour pouvoir développer sur le même polymère les deux types de charges en fonction du pH. Dans le cas de microorganismes, le pH utilisé pour la capture et le relargage doit se situer idéalement entre 3 et 10, avec de préférence une inversion de charge vers un pH de 7 pour préserver au maximum leur intégrité. De nombreux monomères permettent l'obtention de polymères ayant un pKa entre 3 et 10, dont les plus courants sont l'acide acrylique et méthacrylique pour les monomères anioniques et les méthacrylates ou acrylates de diméthylaminoéthyle pour les polymères cationiques.^{3,10} Le choix du monomère anionique a été effectué de manière arbitraire et s'est porté sur l'acide méthacrylique (MAA) (Figure 2), dont le pKa du polymère correspondant est de 4,36.¹¹ Quant au monomère pouvant développer des charges positives, le choix s'est porté sur le méthacrylate de diméthylamino-2-éthyle (DMAEMA), dont le pKa de l'homopolymère est proche de 7,¹² mais varie légèrement selon la longueur de la chaîne¹³. Il a été privilégié à son équivalent acrylate car contrairement à ce dernier, son hydrolyse dans l'eau est lente, voir négligeable.¹²⁻¹⁶ D'autre part, de fortes interactions entre du PDMAEMA et des brins d'ARN ont déjà été reportées dans la littérature.¹⁷ Enfin, même si nous nous sommes limités dans notre cas à l'influence du pH, le PDMAEMA est également thermosensible,¹⁸ ce qui représenterait un deuxième axe d'étude pour favoriser la capture et le relargage.

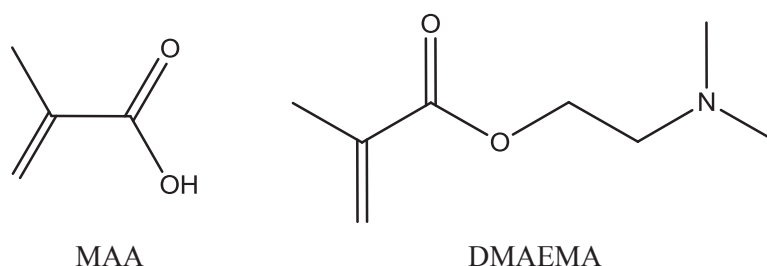


Figure 2 : Formules chimiques du MAA et du DMAEMA

Quatre polymères fonctionnels ont été synthétisés dans le cadre de cette étude. Il s'agit tout d'abord des homopolymères de MAA et de DMAEMA, qui serviront de polymères modèles pour l'étude de l'influence des charges positives et négatives sur la capture et le relargage de microorganismes. Deux copolymères de MAA/DMAEMA seront ensuite synthétisés dans différents solvants.

Une fois ces polymères fonctionnels synthétisés, le but est de les incorporer à la surface de particules de latex magnétiques. Afin de simplifier au maximum le procédé de synthèse de ces particules, leur fonctionnalisation doit se faire *in situ*, c'est-à-dire au moment de leur synthèse et non dans une étape ultérieure. Une alternative élégante consisterait à remplacer les tensioactifs moléculaires utilisés dans le premier cas par des copolymères à blocs amphiphiles¹⁹ (Figure 3). Par ailleurs, cela permettrait de s'affranchir de toute trace de tensioactif.

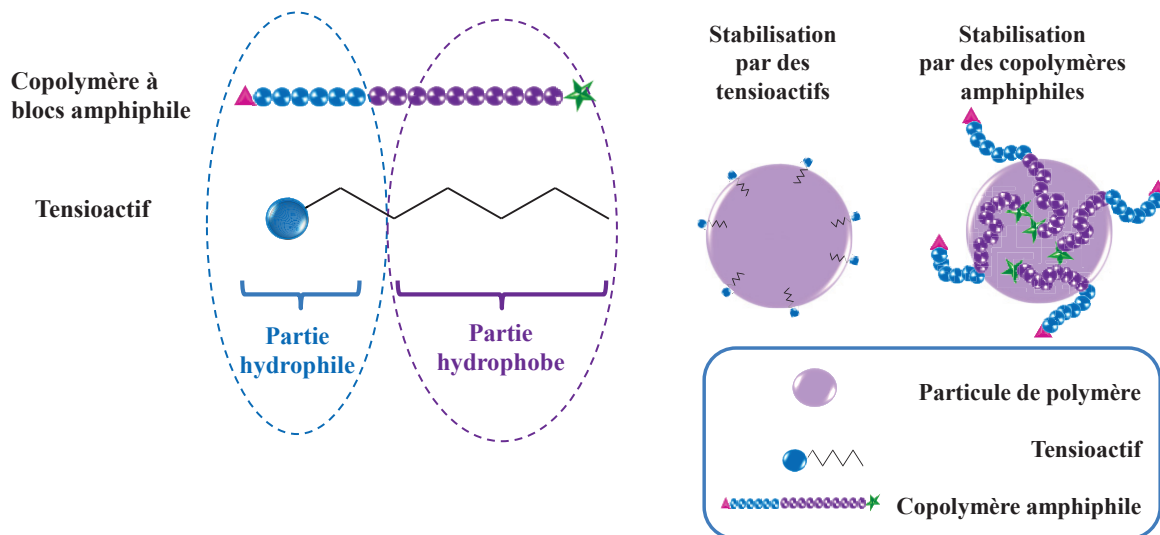


Figure 3 : Comparaison entre un copolymère à blocs amphiphile et un tensioactif (a) et le type de stabilisation apporté aux particules de polymère (b).

En effet, ces derniers peuvent avantageusement remplacer les premiers en s'adsorbant¹⁹⁻²² très fortement aux interfaces, voire en s'y ancrant de manière covalente²³ si le copolymère présente une fonction réactive susceptible de participer à l'étape de polymérisation radicalaire conduisant à la formation des particules. Des copolymères à blocs amphiphiles dont le segment hydrophile comporterait des unités MAA et DMAEMA pourraient tout à fait être utilisés en tant que stabilisants macromoléculaires, permettant d'assurer ainsi à la fois la stabilisation et la fonctionnalisation des particules magnétiques. Une simplification supplémentaire du système pourrait être envisagée en utilisant directement un copolymère hydrophile et réactif de P(MAA-*co*-DMAEMA) conduisant à la synthèse *in situ* des copolymères à blocs lors de la formation des particules.²⁴⁻²⁶

Quelle que soit la stratégie adoptée, les homopolymères ou copolymères de MAA et DMAEMA doivent comporter une extrémité réactive leur permettant d'être « actifs » dans une étape ultérieure de polymérisation radicalaire. Par ailleurs, afin de contrôler au mieux la fonctionnalisation de la surface des particules, ces polymères doivent être très bien définis en termes de composition et d'architecture. Pour toutes ces raisons, la polymérisation radicalaire contrôlée a été privilégiée dans notre étude.

I.2. Polymérisation radicalaire contrôlée et choix de la voie de synthèse

- *Concepts de la PRC.*

Le principe de la polymérisation radicalaire contrôlée (PRC) est de réduire la concentration instantanée de radicaux propageants P^{\bullet} dans le milieu afin de limiter les réactions de terminaison ou de transfert irréversibles qui empêchent la formation de chaînes polymères bien définies.²⁷ Pour cela le but est d'établir un équilibre entre ces radicaux propageants et des espèces inactives ou « dormantes », notées PX (Figure 4).²⁸ Ces espèces dormantes possèdent une extrémité de chaîne réactivable par la présence de stimuli de type thermique, chimique (réduction/oxydation), ou encore photochimique. Cet équilibre doit être fortement déplacé vers les espèces dormantes. Il est ainsi possible d'obtenir des polymères de masse molaire contrôlée et prédéfinie avec une dispersité faible. L'extrémité de chaîne réactivable de l'espèce dormante rend la chaîne « vivante », ce qui permet l'obtention de différentes architectures. Des copolymères greffés, en étoiles ou à blocs sont alors envisageables.

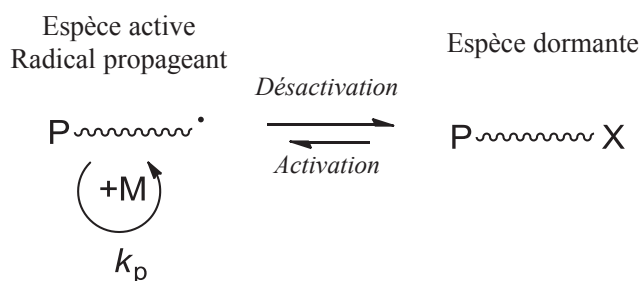


Figure 4 : Equilibre d'activation – désactivation en polymérisation radicalaire contrôlée

Pour parvenir à contrôler une polymérisation radicalaire, il faut être en présence d'un amorçage rapide, d'une faible concentration instantanée en radicaux propageants et d'un échange rapide entre les deux espèces actives et dormantes. Si la polymérisation est bien contrôlée, alors les critères suivants sont remplis :

- une évolution de la masse molaire moyenne en nombre (M_n) linéaire en fonction de la conversion en monomère
- une distribution étroite des masses molaires, c'est-à-dire une dispersité ($D = M_w/M_n$) faible

Les techniques de PRC s'organisent en deux catégories: celles basées sur une terminaison réversible des espèces actives et celles basées sur un transfert réversible. La première catégorie comprend la polymérisation radicalaire par transfert d'atome²⁹ (ATRP pour Atom Transfer Radical Polymerization) et la polymérisation radicalaire contrôlée par les nitroxydes³⁰ (NMP pour Nitroxide Mediated Polymerization). Dans le deuxième cas, il s'agit essentiellement de la polymérisation radicalaire contrôlée par transfert de chaîne réversible par addition-fragmentation^{31, 32} (RAFT pour Reversible Addition-Fragmentation chain Transfer).

L'ATRP repose sur l'utilisation de catalyseurs à base de métaux de transition et est applicable à une large gamme de monomères (styréniques, acryliques ou encore de type acrylamide). Cependant dans le

cas de l'application visée, la synthèse des polymères fonctionnels ne peut pas se faire par ATRP car la présence résiduelle de métaux peut inhiber les enzymes utilisées lors des analyses de duplication d'ADN par polymerase chain reaction (PCR)^a. D'autre part, dans le cas de la polymérisation de monomères présentant une fonction acide, il est nécessaire de recourir à des étapes supplémentaires de protection et déprotection des acides carboxyliques.^{28, 33}

La NMP ne semble pas non plus convenir pour les monomères de MAA et DMAEMA. En effet, la polymérisation de monomères de type méthacrylate nécessite la présence de co-monomères pour pouvoir être contrôlée par NMP.³⁴

La PRC par RAFT permet la polymérisation d'une large gamme de monomères sans nécessiter des étapes de protection et déprotection. De nombreux copolymères à blocs, dont des polymères amphotères à base d'amino-acides ont été reportés dans la littérature.³⁵ D'autre part, la polymérisation par RAFT des monomères MAA¹¹ et DMAEMA³⁶ a déjà été décrite dans la littérature, ainsi que celle de leur copolymère.^{37, 38} Ce sera donc la PRC par RAFT qui sera développée dans cette étude et les mécanismes mis en jeu sont décrits dans la partie suivante.

- **Cas de la polymérisation RAFT.**

La polymérisation par voie RAFT repose sur l'utilisation d'un agent de transfert de chaîne constitué d'un groupe activateur Z et d'un groupe partant amorceur R. Il s'agit d'un composé thiocarbonyl thio de formule S=C(Z)-S-R. Cet agent de transfert permet une réaction de transfert réversible entre les chaînes dormantes et les chaînes actives (Figure 5).

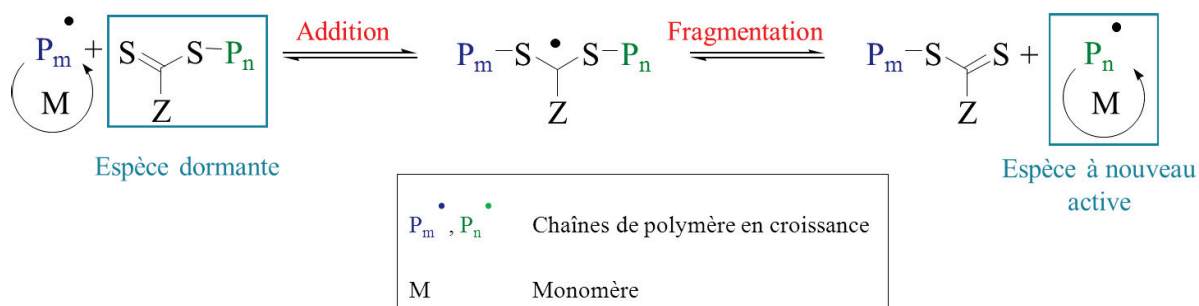


Figure 5 : Schéma de PRC par RAFT décrivant les équilibres permettant de passer d'une espèce dormante à une espèce active.

Typiquement, une chaîne active ou propageante vient s'ajouter sur une espèce dormante, constituée d'une chaîne désactivée car terminée par l'agent de transfert. De cette addition naît un radical intermédiaire, capable de se fragmenter en libérant la chaîne préalablement désactivée. Celle-ci est à nouveau active et peut propager.

^a Les analyses PCR utilisent des enzymes, sensibles à de nombreuses molécules dont les métaux qui peuvent les inhiber. Voir chapitre 1, partie II.4.3 pour plus de précisions.

I.3. Choix des conditions de synthèse

Les synthèses des polymères fonctionnels s'effectueront dans la mesure du possible dans l'eau. L'agent de transfert de chaîne choisi pour la synthèse des différents polymères fonctionnels est un trithiocarbonate, car cette famille de molécules est moins sensible à l'hydrolyse que les dithioesters. Dans notre étude, l'agent de transfert de chaîne est l'acide 4-cyano-4-thiothiopropylsulfanyl pentanoïque (CTPPA, Figure 6). Dans ce cas le groupe partant amorceur est l'acide 4-cyanopentanoïque, qui augmente légèrement la solubilité de l'agent de transfert de chaîne dans l'eau grâce à sa fonction acide carboxylique.

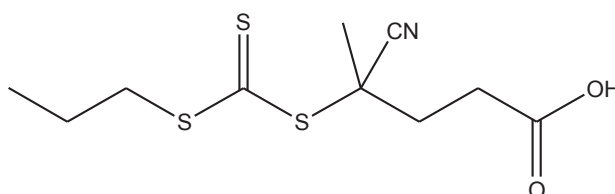


Figure 6 : Formule chimique du CTPPA (agent de transfert de chaîne) utilisé dans le cadre de notre étude

La polymérisation RAFT nécessite la présence d'un amorceur, qui dépend du milieu dans lequel a lieu la polymérisation. En milieu aqueux, le choix se tournera vers le 4,4'-azo-bis(4-acide cyanopentanoïque) ou ACPA, en raison de sa similarité avec le groupement R de l'agent de transfert de chaîne (Figure 7). En milieu organique, l'amorceur utilisé sera l'azo-bis-isobutyronitrile ou AIBN (Figure 7).

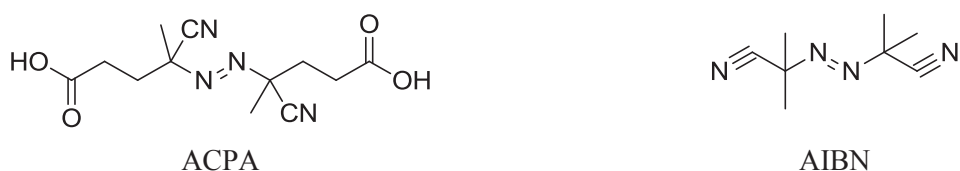


Figure 7 : Formules chimiques de l'ACPA et de l'AIBN

I.4. Synthèse des polymères fonctionnels

I.4.1. Conditions de synthèse

Chaque polymère synthétisé par polymérisation RAFT possède en fin de chaîne une fonction trithiocarbonate (-TTC) et est qualifié de macro-RAFT du fait de son extrémité de chaîne réactivable.

Avant de procéder à la synthèse en grande quantité du polymère fonctionnel, une étude cinétique a été effectuée sur une petite quantité afin de définir les meilleures conditions de synthèse des lots de polymères fonctionnels. Les masses molaires ont donc été suivies en fonction de la conversion afin de

déterminer à quel moment arrêter la polymérisation pour obtenir le degré de polymérisation (DP_n) visé pour la synthèse à grande échelle. Celui-ci est équivalent au rapport molaire entre le monomère et l'agent de transfert de chaîne à une conversion donnée.

Sauf indication contraire, le DP_n des polymères fonctionnels visé est de 50. Cependant afin de limiter les réactions de terminaison irréversibles, les polymérisations seront arrêtées avant d'atteindre 100 % de conversion. De ce fait, le DP_n final visé à 100 % de conversion est de 60.

Les paramètres fixés sont regroupés dans le Tableau 1.

Tableau 1 : Conditions de synthèse des macro-RAFTs

Paramètres fixés	Valeurs
$C^0_{\text{Monomère(s)}} \text{ (mol L}^{-1}\text{)}$	1,0
Rapport molaire monomère(s)/CTPPA	60
Rapport molaire CTPPA/amorceur	5
Solvant	Eau ou dioxane
Température de polymérisation (°C)	80 ou 90

La température a été fixée à 80 °C pour les polymérisations effectuées en milieu aqueux, et à 90°C pour celles effectuées en milieu organique (dioxane).

Chacune des parties ci-dessous détaillera les cinétiques de polymérisation et les caractéristiques principales des macro-RAFTs obtenus. Les conversions ont été déterminées par RMN du proton et à partir de l'équation 4-1, où I^0 et I^t représentent respectivement l'intégrale des pics du monomère au temps t_0 et au temps t .

$$\text{conversion (\%)} = \frac{I^0 - I^t}{I^0} \times 100 \quad (\text{éq. 4-1})$$

Les masses molaires moyenne en nombre (M_n) et en poids (M_w) et la dispersité ($D = M_w/M_n$) ont été déterminées par analyse par chromatographie d'exclusion stérique (SEC) soit en solvant THF, soit en solvant DMF. Les calculs de conversion par RMN ainsi que la détermination des masses molaires et de dispersité des polymères sont détaillés en Annexe C, partie III.

I.4.2. Synthèse du PMAA

La polymérisation de l'acide méthacrylique étant bien contrôlée dans l'eau¹¹, la synthèse a été effectuée dans l'eau à 80 °C, selon les conditions décrites dans le Tableau 1. L'agent de contrôle CTPPA n'étant pas soluble dans l'eau, il est d'abord solubilisé dans le monomère, puis de l'eau est introduite dans le mélange. Ces conditions permettent une polymérisation rapide du MAA, malgré une période d'inhibition de 30 minutes. Après 150 minutes de polymérisation, la conversion est totale (Figure 8).

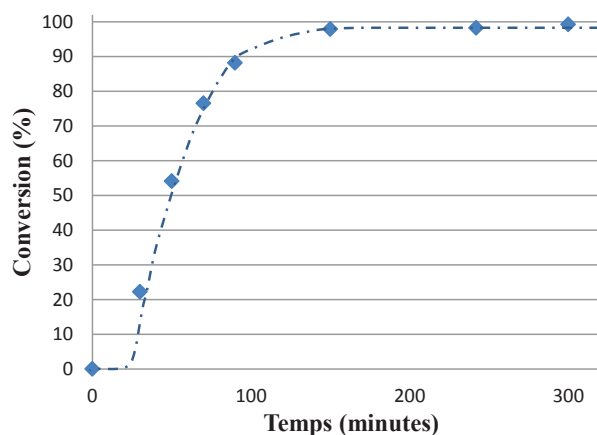


Figure 8 : Suivi cinétique de la polymérisation RAFT du MAA. Synthèse effectuée dans l'eau à 80 °C. $[MAA] = 1 \text{ mol L}^{-1}$, $[MAA]/[CTPPA] = 60$ et $[CTPPA]/[ACPA] = 5$. Cinétique déterminée par RMN du proton dans du D_2O .

La polymérisation est bien contrôlée, même pour les conversions élevées, puisque les masses molaires évoluent linéairement en fonction de la conversion et que la dispersité est de 1,09 en fin de polymérisation (Figure 9).

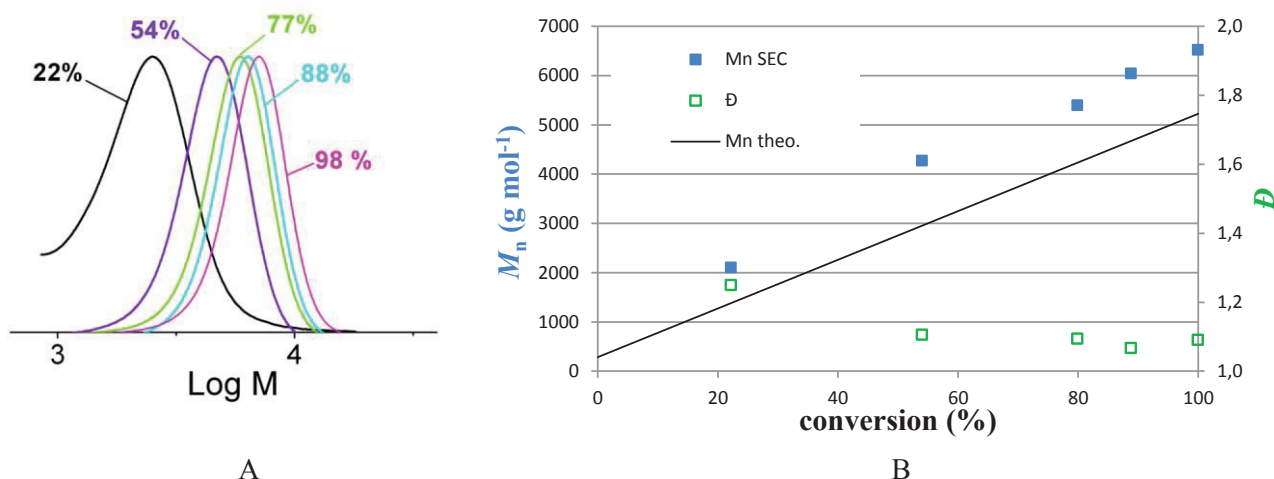


Figure 9 : Evolutions des chromatogrammes d'exclusion stérique (a), des masses molaires moyennes en nombre théoriques et expérimentales et de la dispersité \bar{D} (b) avec la conversion. Les analyses SEC ont été effectuées dans le THF (étalonnage PMMA) après méthylation des échantillons pour éviter toute interaction entre les fonctions carboxylate et les colonnes.

Lors de la synthèse en grande quantité de ce macro-RAFT (CC226), la polymérisation a été arrêtée à 93 % de conversion. Les caractéristiques du PMAA-TTC obtenu sont les suivantes : $M_n = 7\,400 \text{ g mol}^{-1}$ (soit $DP_n = 56$) et $\bar{D} = 1,05$.

I.4.3. Synthèse du PDMAEMA

Pour éviter l'hydrolyse du DMAEMA dans l'eau,^{13, 15} la synthèse du PDMAEMA-TTC a été effectuée dans le dioxane selon les paramètres décrits précédemment. Pour cette polymérisation, il n'y a pas de temps d'inhibition et la conversion n'est pas totale. Elle plafonne à 83 % après 300 minutes de réaction (Figure 10).

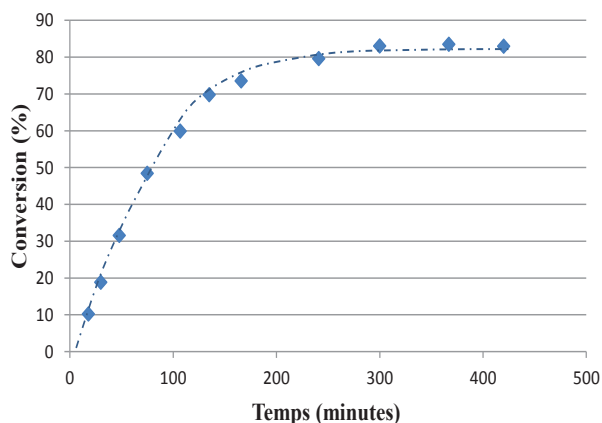


Figure 10 : Suivi cinétique de la polymérisation RAFT du DMAEMA. Synthèse effectuée dans le dioxane à 90 °C. $[DMAEMA] = 1 \text{ mol L}^{-1}$, $[DMAEMA]/[CTPPA] = 60$ et $[CTPPA]/[AIBN] = 5$. Cinétique déterminée par RMN du proton dans du $CDCl_3$.

La polymérisation est bien contrôlée avec une évolution linéaire des masses molaires en fonction de la conversion et une dispersité finale de 1,18 (Figure 11).

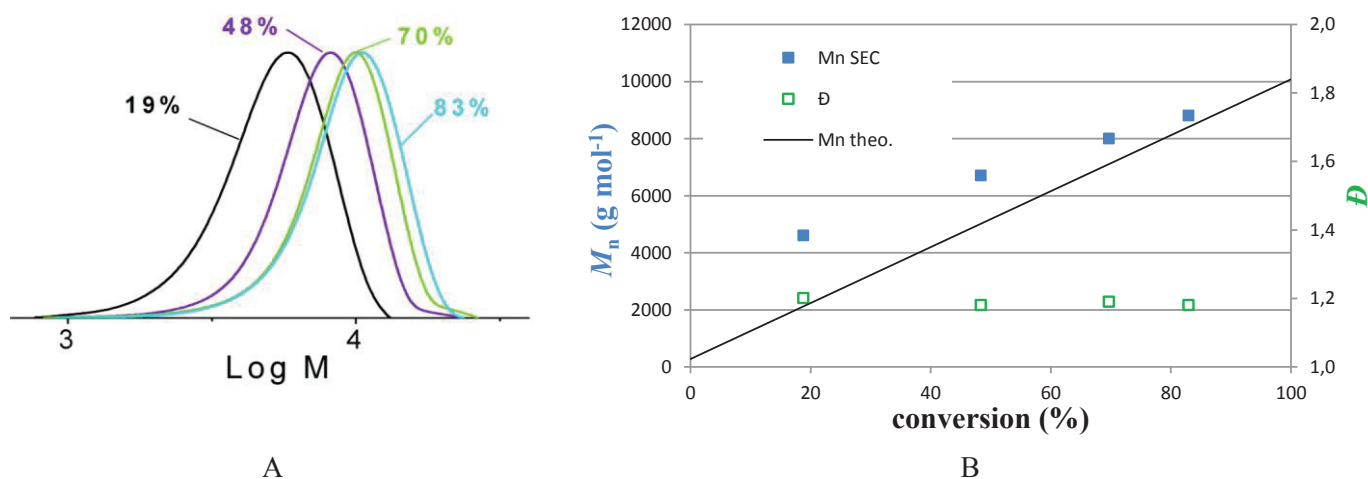


Figure 11 : Evolutions des chromatogrammes d'exclusion stérique (a), des masses molaires moyennes en nombre théoriques et expérimentales et de la dispersité \mathcal{D} (b) avec la conversion. Les analyses SEC ont été effectuées dans le DMF (étalonnage PMMA).

Lors de la synthèse en grande quantité de ce macro-RAFT (CC228), la polymérisation a été arrêtée à 73 % de conversion. Les caractéristiques du PDMAEMA-TTC obtenu sont les suivantes : $M_n = 9\,000 \text{ g mol}^{-1}$ (soit $DP_n = 44$) et $\mathcal{D} = 1,13$.

I.4.4. Synthèse du *P(DMAEMA-co-MAA)* de composition molaire 50/50

I.4.4.1. Synthèse dans le dioxane

Tout comme précédemment pour le PDMAEMA, la synthèse de ce copolymère a été effectuée dans le dioxane pour éviter l'hydrolyse du DMAEMA, en adoptant les conditions de synthèse décrites dans le Tableau 1. La concentration totale en monomère étant maintenue constante, la concentration de chaque monomère a été fixée à $0,5 \text{ mol L}^{-1}$ pour obtenir un rapport molaire DMAEMA/MAA de 50/50.

Comme dans le cas de la polymérisation RAFT du DMAEMA dans le dioxane, il n'y a pas de temps d'inhibition. Cependant dans ce cas, la conversion en DMAEMA est complète, tandis que celle du MAA plafonne à 85 % (Figure 12). En tenant compte des conversions calculées par RMN, la composition molaire finale du polymère n'est donc pas de 50/50 mais de 54/46 en DMAEMA/MAA et le polymère final possède un DP_n de 57.

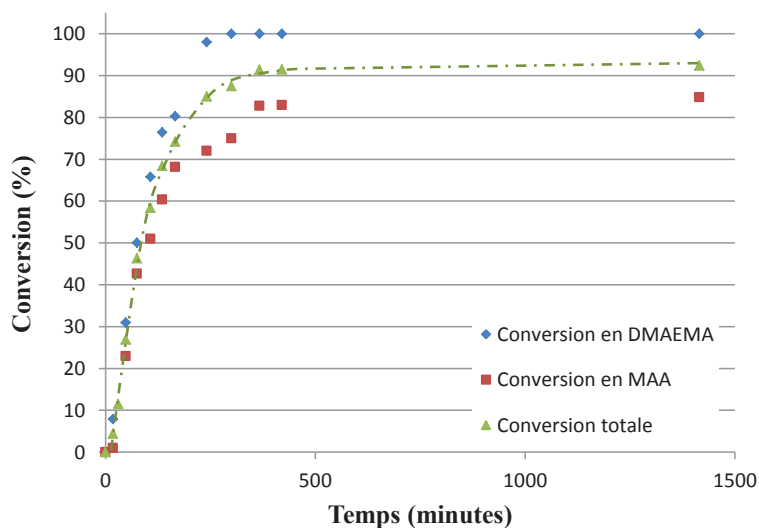


Figure 12 : Cinétique de polymérisation RAFT d'un mélange DMAEMA/MAA à 50/50 en moles. Synthèse effectuée dans le dioxane à 90°C . $[\text{Monomères}] = 1 \text{ mol L}^{-1}$, $[\text{Monomères}]/[\text{CTPPA}] = 60$ et $[\text{CTPPA}]/[\text{AIBN}] = 5$. Cinétique déterminée par RMN du proton dans du CDCl_3 .

La polymérisation est contrôlée avec une évolution linéaire des masses molaires en fonction de la conversion. On note cependant un élargissement du pic à forte conversion (91 %, Figure 13) qui se traduit par une dispersité finale un peu plus élevée : $D = 1,24$.

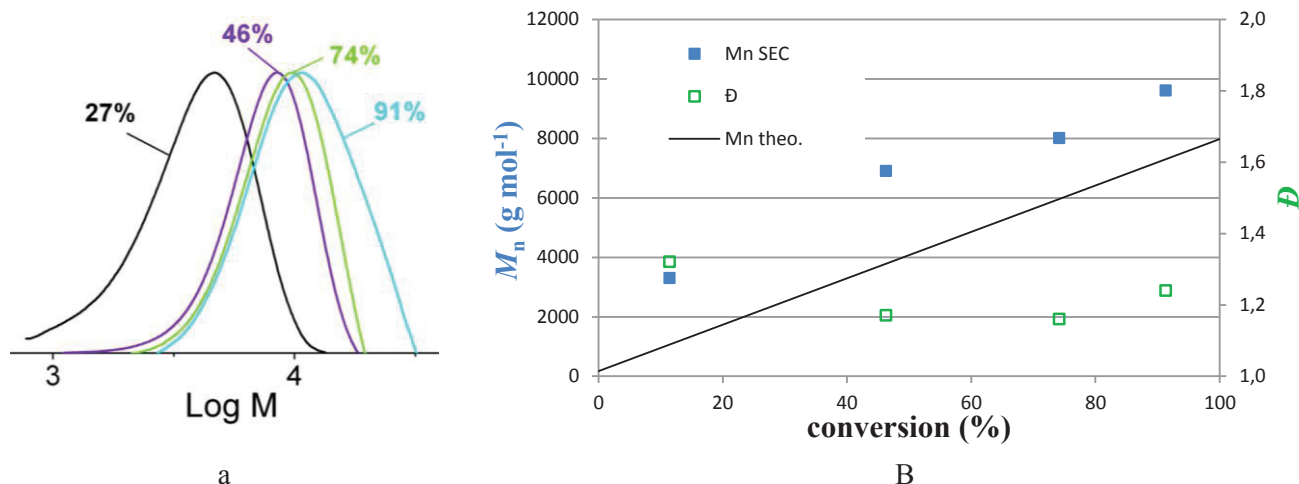


Figure 13 : Evolutions des chromatogrammes d'exclusion stérique (a), des masses molaires moyennes en nombre théoriques et expérimentales et de la dispersité D (b) avec la conversion. Les analyses SEC ont été effectuées dans le DMF contenant du LiBr et de l'acide trifluoroacétique avec un étalonnage PMMA.

Lors de la synthèse en grande quantité de ce macro-RAFT (CC225), la polymérisation a été arrêtée à 75 % de conversion. D'après les conversions obtenues par RMN, le polymère formé est alors un P(DMAEMA₂₄-co-MAA₂₁) avec une $M_n = 9\,200\text{ g mol}^{-1}$ et $D = 1,20$.

La polymérisation RAFT d'un homopolymère d'acide méthacrylique dans l'eau permettait d'obtenir une conversion totale et rapide, contrairement à la polymérisation dans le dioxane.¹¹ Bien que cela ne soit pas automatiquement extrapolable à un mélange de monomères, la polymérisation du copolymère P(DMAEMA-co-MAA) a également été étudiée dans l'eau (I.4.4.2) dans l'espoir d'augmenter la conversion du MAA.

Toutefois, le DMAEMA s'hydrolyse dans l'eau.^{12, 13, 15} Il conduit à la formation de l'acide méthacrylique selon la réaction chimique décrite dans la Figure 14. L'acide méthacrylique étant déjà présent dans le milieu, un copolymère P(DMAEMA-co-MAA) est tout de même obtenu en fin de polymérisation.

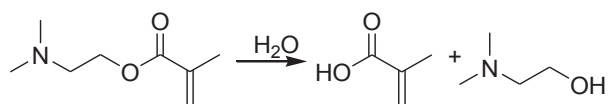


Figure 14 : Réaction d'hydrolyse du DMAEMA en MAA

I.4.4.2. Synthèse dans l'eau

Le CTPPA n'étant pas soluble dans l'eau, il est d'abord solubilisé dans les monomères avant d'être dilué dans l'eau. Les conditions expérimentales changent légèrement par rapport aux cas précédents (Tableau 2). Dans ce cas uniquement, le degré de polymérisation visé est de 50, car la cinétique a été effectuée en visant directement une grande quantité de copolymère (CC190).

Tableau 2 : Conditions expérimentales de la synthèse du macro-RAFT P(DMAEMA-co-MAA) de composition molaire 50/50 en milieu aqueux

Paramètres fixés	Valeurs
Solvant	Eau
Rapport molaire monomères/CTPPA	50
Rapport molaire DMAEMA/MAA	50/50
Rapport molaire CTPPA /ACPA	10
$C^0_{\text{Monomère}}$ (mol L ⁻¹)	0,9
Température de polymérisation (°C)	80
pH initial	5,9

Dans ce cas, il n'est pas possible d'obtenir une cinétique de polymérisation, puisque le monomère DMAEMA est consommé soit pour former le polymère, soit pour former l'acide méthacrylique suite à son hydrolyse. Il est cependant possible d'obtenir la composition finale du polymère en déterminant le taux d'hydrolyse. Celui-ci est calculable car les protons des deux -CH₂ de l'aminoéthyle formé possèdent des déplacements chimiques bien définis en RMN ($\delta = 3,15$ ppm et $3,75$ ppm, Figure 15). En considérant que seul le monomère DMAEMA s'hydrolyse et que le polymère PDMAEMA est stable,^{12, 13, 15} on peut définir le taux d'hydrolyse (T_h) selon l'équation 4-2.¹⁶ En effet, à température ambiante, le taux d'hydrolyse du monomère DMAEMA après 10 h est de 45 %, ¹⁵ alors qu'il est nul après 150 h pour le polymère (même après 3 cycles 10 °C – 60 °C)¹².

$$T_h (\%) = \frac{I_{3,15}}{I_{3,15} + I_{3,40}} \quad (\text{éq. 4-2})$$

L'intégrale du pic à 3,4 ppm correspond au -CH₂ du monomère et du polymère, plus de détails sur ces calculs sont disponibles en Annexe C, partie III. Les pics d'hydrolyse ($\delta = 3,15$ ppm et $3,75$ ppm) n'évoluent plus après que le DMAEMA ait été entièrement consommé, ce qui confirme qu'il n'y a pas d'hydrolyse du polymère. Cela est en accord avec la littérature, qui indique que seul le monomère s'hydrolyse.

Dans le cas de la synthèse de ce copolymère, le taux d'hydrolyse final après 190 minutes de réaction est de 15 %.

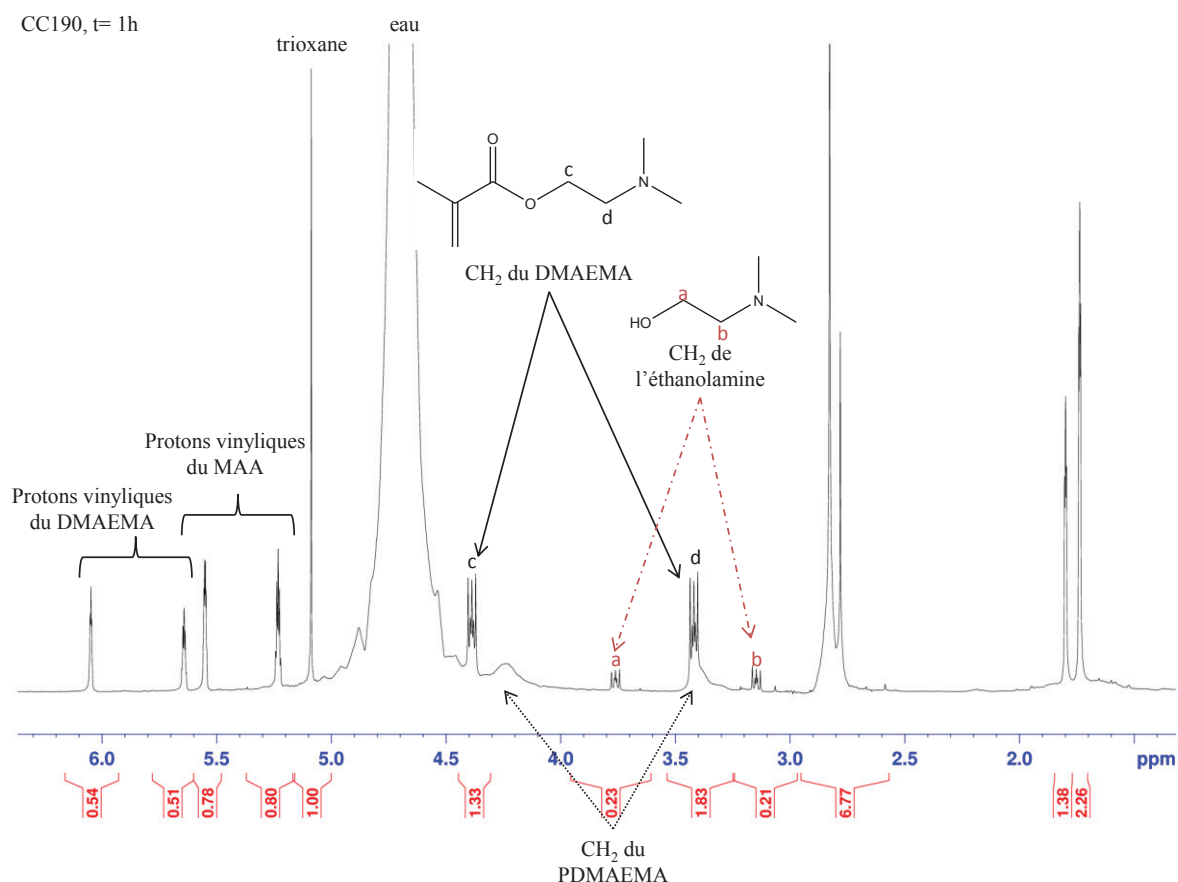


Figure 15 : Spectre RMN de la synthèse CC190 d'un macro-RAFT P(DMAEMA-co-MAA) de composition molaire théorique 50/50 à $t = 1$ h (conversion = 49 %) dans du D₂O. Synthèse effectuée dans l'eau à 80 °C. [Monomères] = 1 mol L⁻¹, [Monomères]/[CTPPA] = 60 et [CTPPA]/[ACPA] = 5.

En tenant compte de ces corrections pour calculer la conversion des monomères en polymère^b, on obtient 100 % de conversion pour le DMAEMA et 69 % de conversion pour le MAA. Le polymère final après 190 minutes de polymérisation présente par conséquent la composition suivante : P(DMAEMA₂₅-co-MAA₁₇).

Cette expérience a été reproduite, en variant l'ordre d'introduction des réactifs et l'hydrolyse peut varier de 3 % à 15 %. La synthèse de ce copolymère se fera donc préférentiellement en milieu organique, d'autant plus que la synthèse dans l'eau n'a pas permis d'augmenter la conversion en MAA. Les compositions molaires des deux polymères sont finalement proches : 60/40 en DMAEMA/MAA pour la synthèse dans l'eau contre 54/46 en DMAEMA/MAA dans le dioxane.

Ce polymère ayant été au contact de l'eau, il n'a pas été analysé en SEC à cause des charges développées, qui pourraient interagir avec les colonnes et induire des erreurs sur les valeurs de masse molaire en nombre et de dispersité.

^b Les calculs des conversions tenant compte de l'hydrolyse sont détaillés en annexes (Annexes C, Partie III.1)

I.5. Résumé des synthèses de polymères fonctionnels

Les différents polymères fonctionnels synthétisés et leurs caractéristiques sont regroupés dans le Tableau 3.

Tableau 3 : Tableau récapitulatif des différents polymères fonctionnels (macro-RAFT) synthétisés

Polymère	Référence	Milieu	Conversion (%)	M_n (g mol ⁻¹)	\bar{D}
PMAA ₅₆	CC226	Eau	100	7 400	1,05
PDMAEMA ₄₄	CC228	Dioxane	73	9 000	1,13
P(DMAEMA ₂₄ -co-MAA ₂₁)	CC225	Dioxane	75	9 200	1,19
P(DMAEMA ₂₅ -co-MAA ₁₇)*	CC190	Eau	85	/	/

*Ce polymère ayant été au contact de l'eau, il n'a pas été analysé en SEC à cause des charges développées

II. Fonctionnalisation des particules de latex magnétiques

Dans cette partie, deux stratégies ont été développées pour fonctionnaliser les particules de latex magnétiques : la fonctionnalisation par des charges de surface (voie 1 de la Figure 16) ou la fonctionnalisation par une "chevelure" de polymères fonctionnels (voie 2 de la Figure 16). Ces deux fonctionnalisations s'effectuent *in situ*, lors de la synthèse des particules de latex magnétiques, soit en incorporant des co-monomères fonctionnels pour les charges de surface, soit des macro-RAFTs pour la chevelure de polymères fonctionnels.

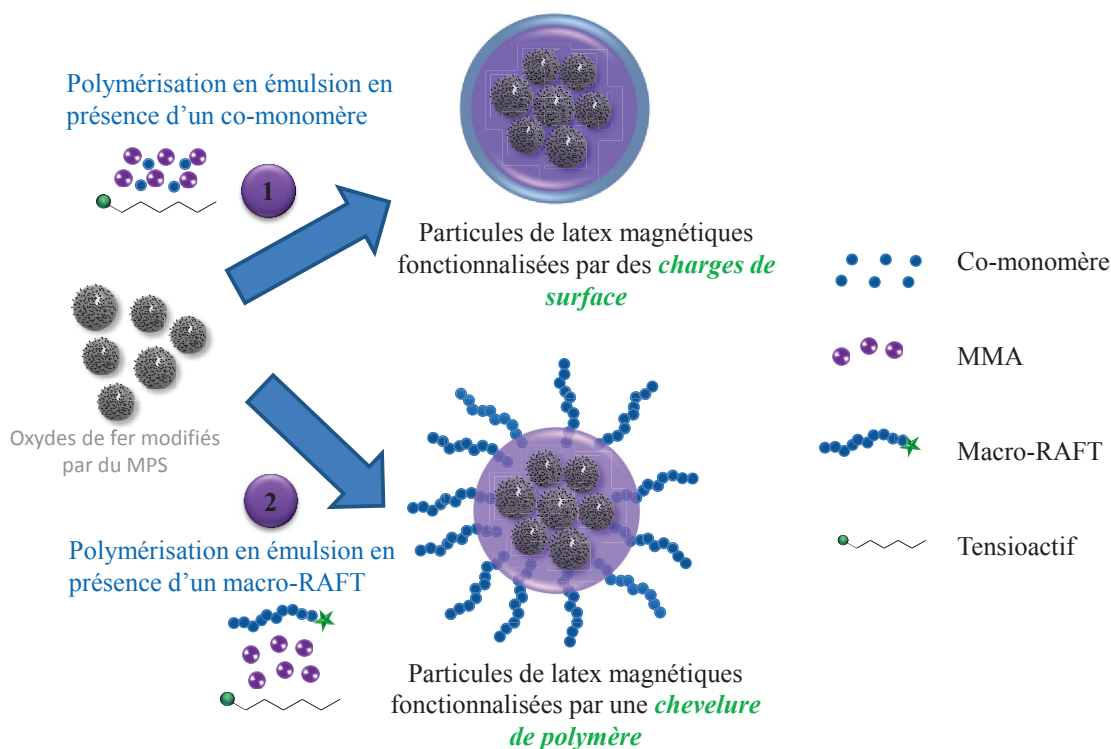


Figure 16 : Schéma d'obtention de particules de latex magnétiques fonctionnalisées

II.1. Fonctionnalisation par des charges de surface

Ces fonctionnalisations ont été effectuées en utilisant le MAA ou le DMAEMA comme co-monomères fonctionnels. La nature du monomère hydrophobe peut également influencer l'efficacité des tests de capture/relargage et deux monomères hydrophobes ont donc été testés : le MMA et le styrène, ce dernier étant plus hydrophobe que le MMA.

Dans le chapitre précédent, nous avons vu que l'utilisation d'1 g L⁻¹ de tensioactif CTAB était nécessaire pour obtenir des latex stables de PMMA par polymérisation en émulsion et en miniémulsion. Dans le but d'obtenir des particules de latex magnétiques stables et en quantité suffisante pour effectuer les tests biologiques, nous avons choisi de travailler dans des conditions similaires à la polymérisation CC170, dont les conditions étaient les suivantes : [MMA] = 30 g L⁻¹, [OF modifié] = 10 g L⁻¹, [CTAB] = 1 g L⁻¹, [AIBA] = 0,3 g L⁻¹ et dispersion des oxydes de fer dans le milieu initial de polymérisation par l'utilisation d'un bain à ultrasons pendant 5 minutes. En effet, le latex obtenu représente un bon compris en terme de taux de particules magnétiques (16 %), de teneur des particules magnétiques en oxydes de fer (83 %) et de taille et distribution de taille ($D_n = 175$ nm et $D_d = D_w/D_n = 2,2$). Le Tableau 4 détaille les conditions expérimentales des différentes expériences entreprises.

Le protocole utilisé est similaire à celui décrit dans le Chapitre 3. Pour rappel, l'oxyde de fer est modifié par du MPS selon le procédé aqueux, puis il est introduit dans une solution contenant le CTAB. Le monomère et le co-monomère sont ajoutés à ce mélange et les oxydes de fer sont dispersés dans le milieu à l'aide du bain ou de la sonde à ultrasons. Le mélange est ensuite introduit dans un réacteur double enveloppe à 70 °C, munie d'une agitation mécanique à 300 trs min⁻¹. La polymérisation démarre à partir du moment où l'amorceur cationique AIBA dissous dans un peu d'eau est introduit dans le réacteur.

Tableau 4 : Récapitulatif des conditions expérimentales pour la fonctionnalisation des particules de latex magnétiques par des charges de surface. Les polymérisations se déroulent sous agitation mécanique à 300 trs min⁻¹ et à 70 °C avec [MMA] = 30 g L⁻¹, [OF modifié] = 10 g L⁻¹, [CTAB] = 1 g L⁻¹, [AIBA] = 3 g L⁻¹

Conditions expérimentales	CC172	CC188	CC203
Monomère hydrophobe	MMA	MMA	Styrène
Co-monomère fonctionnel	DMAEMA	MAA	MAA
Rapport massique co-monomère/monomère	0,29	0,06	0,10
Méthode d'agitation	Bain à ultrasons	Sonde à ultrasons ^a	Bain à ultrasons

^aLa sonde à ultrasons a été utilisée 2 x 1 minute à une puissance de 500 Watts.

Le Tableau 5 présente les caractéristiques des latex formés. A l'issue des synthèses, trois lavages magnétiques de 30 secondes ont été effectués pour ne conserver que les particules de latex magnétiques. Celles-ci ont ensuite été analysées par MET.

Tableau 5 : Caractérisation des particules de latex magnétiques fonctionnalisées par des charges de surface

Résultats	CC172	CC188	CC203
Type de particules	P(MMA-co-DMAEMA)	P(MMA-co-MAA)	P(S-co-MAA)
Conversion à 16 h (%)	57	45	31
Taux de particules magnétiques* (%)	53	0,2	14,2
Diamètre observé en MET (nm)	agrégation	58-560	40-600
D_n MET (nm)	/	125	160
D_d (MET)	/	1,88	1,97

*Le taux de particules magnétiques est obtenu après des séparations magnétiques de 30 secondes. Les analyses MET ont été effectuées sur la partie magnétique uniquement.

Les conversions en monomères sont relativement faibles (entre 30 et 60 %) alors que pour les latex à base de MMA seul, les conversions étaient de 79 % en 2h20 (CC170). L'ajout d'un co-monomère fonctionnel semble donc modifier le système. Dans le cas du DMAEMA, introduit en très grande quantité (29 % en masse par rapport au monomère), le système ne conduit pas à la formation de particules distinctes mais plutôt à un réseau de particules entremêlées (Figure 17a). En effet, à une telle concentration, il est vraisemblable qu'une quantité importante de chaînes polymères hydrophiles soient formées en phase aqueuse, et provoquent la déstabilisation du système.

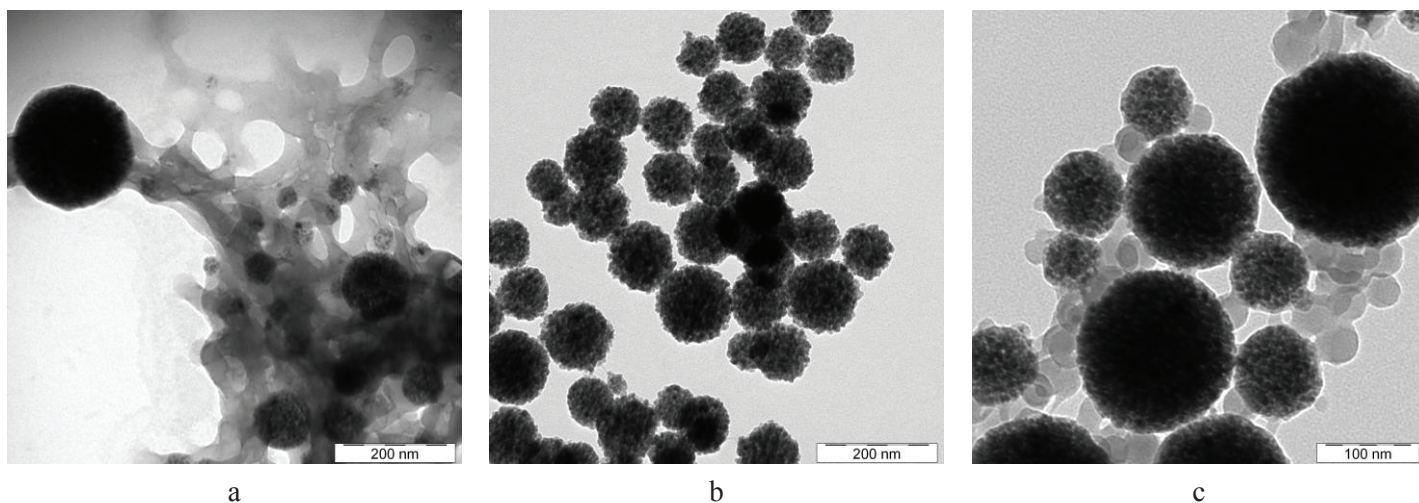


Figure 17 : Clichés MET des particules de latex magnétiques fonctionnalisées par des charges de surface, après séparation magnétique. CC172 : latex magnétique composé de P(MMA-co-DMAEMA) (a). CC188 : latex magnétique composé de P(MMA-co-MAA) (b). CC203 : latex magnétique composé de P(S-co-MAA) (c).

En revanche, les particules de latex fonctionnalisées avec du MAA sont bien sphériques. Les particules de latex magnétiques P(S-co-MAA) (Figure 17c) possèdent en surface des petites particules de latex non magnétiques adsorbées, qui ne se séparent pas lors des lavages magnétiques. Ceci est probablement le signe d'un début de coalescence lors de la polymérisation.

Par ailleurs, les taux de particules magnétiques obtenus pour CC188 (MMA) et CC203 (styrène) sont très différents (0,2 et 14, 2%, respectivement) alors que leur taille moyenne est relativement proche. Ceci s'explique mieux en regardant la distribution de tailles obtenue par MET (Figure 18). Bien que les deux latex possèdent un maximum de particules entre 100 et 150 nm, le latex CC188 (sonde à ultrasons) a une distribution très étroite autour de cette valeur, tandis que le latex CC203 (bain à ultrasons) a une distribution beaucoup plus large, s'étalant sur des diamètres plus importants, ce qui contribue à améliorer la réponse magnétique des particules du latex CC203. Cela est en accord avec les résultats trouvés dans le Chapitre 3, où il a été montré que l'utilisation de la sonde à ultrasons permettait d'obtenir des particules plus stable avec une distribution de taille plus étroite.

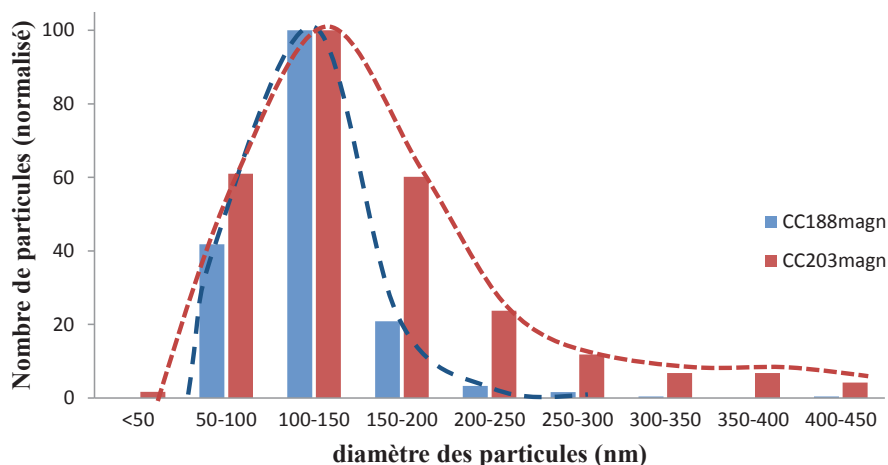


Figure 18 : Histogramme des diamètres des particules magnétiques CC203 à base de PS et CC188 à base de PMMA, c'est-à-dire des particules présentes dans la partie magnétique du latex après 3 lavages magnétiques de 30 secondes.

Des coupes ultraminces ont été effectuées sur les particules de latex magnétiques du latex CC203 enrobées dans une résine époxy (Figure 19) puis observées par MET. On constate que la distribution des oxydes de fer est homogène et dense à l'intérieur des particules.

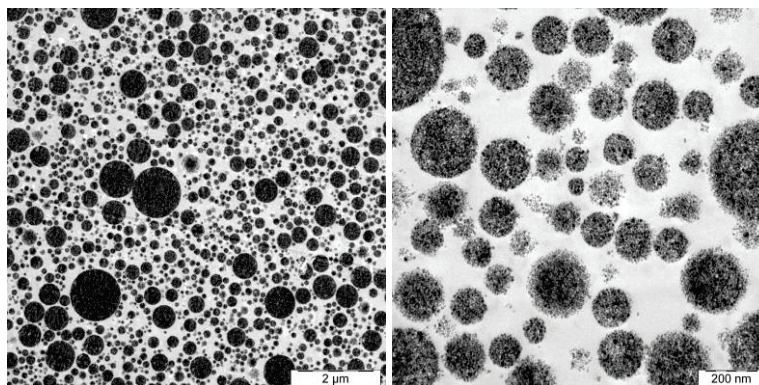


Figure 19 : Clichés MET des coupes ultraminces des particules de latex magnétique CC203 enrobées dans une résine époxy. La partie magnétique est obtenue après 3 lavages magnétiques avec un temps de séparation de 30 secondes.

Les particules de latex fonctionnalisées avec du MAA étant stables, elles seront utilisées par la suite pour les tests biologiques.

II.2. Fonctionnalisation par des macro-RAFTs

L'intérêt des macro-RAFTs est double : ils permettent l'introduction d'une chevelure de polymère fonctionnelle d'une part, et ils permettent de stabiliser les particules de latex magnétiques d'autre part. En effet, lorsque des macro-RAFTs sont introduits dans un milieu contenant un deuxième type de monomère et de l'amorceur, les chaînes de macro-RAFT peuvent croître et former des copolymères à blocs (Figure 20). Dans notre cas, les copolymères ainsi formés (*in situ*) sont amphiphiles et peuvent contribuer à la stabilisation des particules de latex en s'ancrant à l'interface via leur bloc hydrophobe, leur bloc hydrophile étant déployé dans la phase continue.

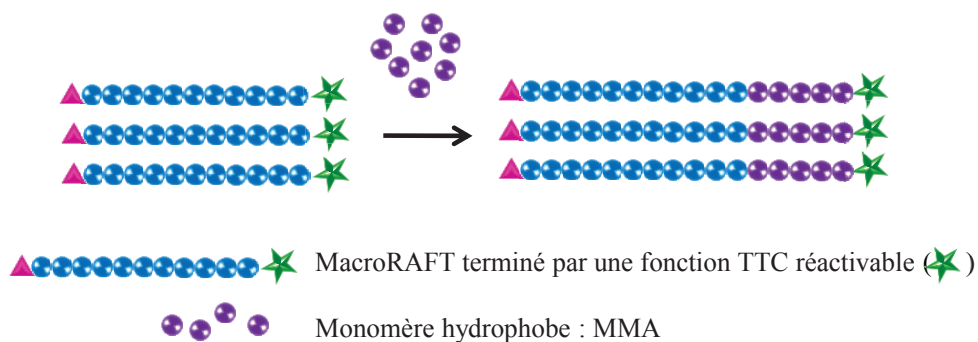


Figure 20 : Schéma de la synthèse d'un copolymère à blocs amphiphile à partir d'un macro-RAFT hydrophile.

Cependant, le seul pouvoir stabilisant de ces macro-RAFTs n'a pas été testé et une faible quantité de tensioactif (CTAB) a donc été ajoutée dans chaque formulation pour aider à stabiliser le système dès le départ. Les macro-RAFTs sont dispersés dans un peu d'eau avant d'être ajoutés au mélange oxydes de fer / tensioactif. Les conditions expérimentales utilisées pour la synthèse des particules de latex magnétiques fonctionnalisées par les macro-RAFTs sont similaires à celles utilisées pour CC170, mais avec une concentration en tensioactif moindre ($0,5 \text{ g L}^{-1}$). Les conditions exactes sont contenues dans le Tableau 6.

Tableau 6 : Conditions expérimentales de la synthèse des particules de latex magnétiques fonctionnalisées par les macro-RAFTs

Paramètres fixés	Valeurs
Monomère hydrophobe	MMA
[Monomère] (g L ⁻¹)	30
Rapport massique macro-RAFT/monomère*	0,17
[Oxydes de fer] (g L ⁻¹)	10
[CTAB] (g L ⁻¹)	0,5
[AIBA] (g L ⁻¹)	0,3
Méthode de dispersion*	Bain à ultrasons (5 min)

*Dans le cas du macro-RAFT CC190, i.e. P(DMAEMA₂₅-co-MAA₁₇), le rapport massique de macro-RAFT/monomère est de 0,34. L'agitation est effectuée à l'aide d'une sonde à ultrasons car le macro-RAFT a été introduit dans le mélange d'oxydes de fer / tensioactifs sans avoir été préalablement solubilisé.

Les caractéristiques des particules obtenues en utilisant les quatre macro-RAFTs détaillés dans la partie I.4 sont décrites dans le Tableau 7.

Tableau 7 : Caractéristiques des différentes particules de latex magnétiques fonctionnalisées par des macro-RAFTs. Les concentrations en macro-RAFTs et les procédés de dispersions utilisés sont décrits dans le Tableau 6.*

Réf.	CC231	CC230	CC229	CC206
Macro-RAFT utilisé	PMAA (CC226)	PDMAEMA (CC228)	P(DMAEMA ₂₄ -co-MAA ₂₁) (CC225)	P(DMAEMA ₂₅ -co-MAA ₁₇) (CC190)
pH initial	3,2	7,4	4,8	/
Méthode de dispersion	Bain à ultrasons	Bain à ultrasons	Bain à ultrasons	Sonde à ultrasons ^b
D_h initial (nm) ^a	/ ^c	250	350	170
PDI initial ^a	/ ^c	0,24	0,40	0,24
Conversion (%)	47	48	60	46
Taux de particules magnétiques (%)	agrégation	19	20	8
Diamètres observés en MET (nm)	Agrégé	90 – 3450	80 – 1130	90 – 620
D_n MET (nm)	/	360	225	240
D_d (MET)	/	6,33	2,54	1,35

*Ces particules ont été obtenues par polymérisation en émulsion à 70 °C, sous une agitation mécanique de 300 trs min⁻¹ et pour les concentrations suivantes : [MMA] = 30 g L⁻¹, [OF modifié] = 10 g L⁻¹, [CTAB] = 1 g L⁻¹, [AIBA] = 3 g L⁻¹.

^aDéterminé par DDL après dispersion des oxydes de fer dans le milieu contenant le macro-RAFT, le tensioactif et le monomère. ^bLa sonde à ultrasons est utilisée pendant 2 x 1 minute à une puissance de 500 Watts. ^cNon mesurée.

- **Fonctionnalisation par le PMAA**

Contrairement aux particules fonctionnalisées par des charges de surface, l'obtention de particules fonctionnalisées avec une chevelure chargée négativement n'a pas été possible. Une agrégation a rapidement pu être observée après le début de la polymérisation. Le pH étant de 3,2 en début de polymérisation, les fonctions carboxylate n'étaient pas développées (pK_a du polymère = 4,36) et n'ont donc pas pu participer à la stabilisation électrostatique des particules. Toutefois les chaînes de PMAA peuvent apporter une stabilisation stérique aux particules, mais celle-ci ne semble pas suffisante dans le cas présent. Une solution serait d'augmenter la concentration en tensioactif ou alors d'augmenter le pH et d'utiliser un amorceur anionique, de type ACPA.

- **Fonctionnalisation par le PDMAEMA**

Dans le cas de CC230 (PDMAEMA, Figure 21 (a)), la polymérisation a conduit à des particules très polydisperses en taille, avec des diamètres atteignant 3,5 μm . Les particules de grande taille ont une bonne réponse magnétique, ce qui explique le taux élevé de particules magnétiques. Le pH initial avant polymérisation était de 7,4. Toutes les charges positives du PDMAEMA n'étaient vraisemblablement pas développées (pK_a du polymère aux environs de 7, selon la longueur de chaîne) et n'ont donc pas contribué à la stabilisation électrostatique des particules formées. Toutefois la stabilisation stérique apportée par le PDMAEMA et la stabilisation électrostatique apportée par le CTAB a permis la formation de particules de grandes tailles et de dispersité importante.

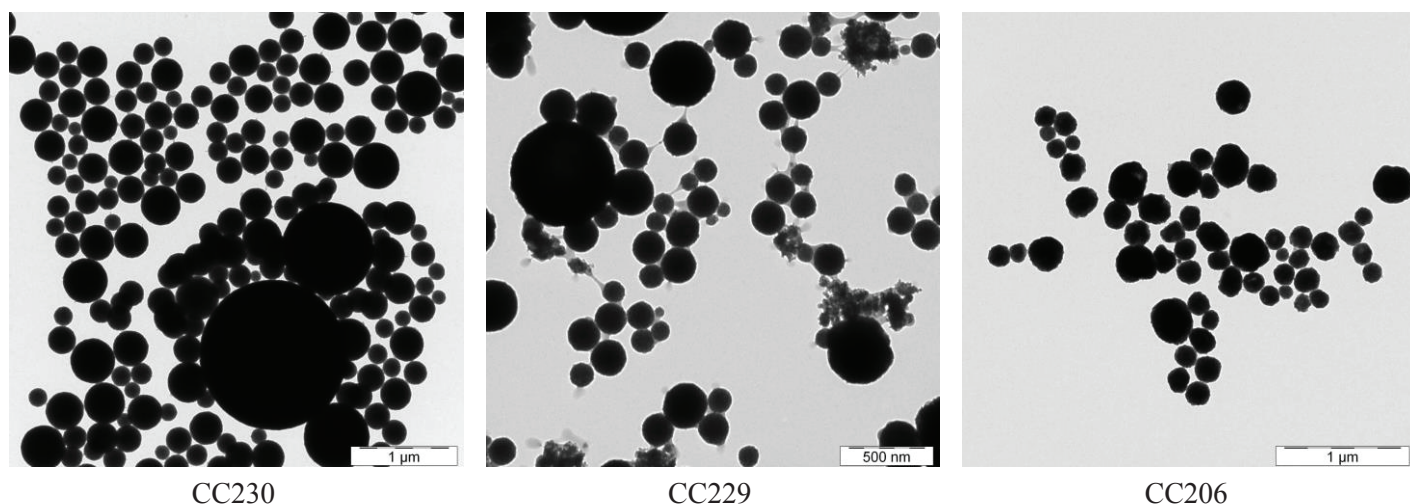


Figure 21 : Clichés MET des particules de latex magnétiques CC230 (en présence de PDMAEMA), CC229 (en présence de $P(\text{DMAEMA}_{24}\text{-co-MAA}_{21})$) et CC206 (en présence de $P(\text{DMAEMA}_{25}\text{-co-MAA}_{17})$). Ces particules sont obtenues après 3 lavages magnétiques avec un temps de séparation de 30 secondes.

- **Fonctionnalisation par le P(DMAEMA-co-MAA)**

Les deux polymérisations en émulsion conduites en présence des copolymères P(DMAEMA-co-MAA) ont abouti à la formation de particules de tailles plus petites et moins polydisperses (Figure 21b et 21c). La différence de taille de particule et de dispersion de taille entre les deux latex CC229 et CC206 ne s'expliquent pas uniquement par la différence de composition des deux copolymères utilisés, mais également par la quantité de macro-RAFT utilisé et surtout par la méthode de dispersion des oxydes de fer modifiés dans le milieu initial.

A l'état initial, les agrégats d'oxydes de fer sont plus petits et moins polydisperses dans le cas où la sonde à ultrasons a été utilisée (Tableau 7). En effet le diamètre hydrodynamique est de 170 nm avec un PDI de 0,24 (CC206) contre un diamètre hydrodynamique de 350 nm avec un PDI de 0,40 dans le cas de l'utilisation du bain à ultrasons (CC229). Dans le cas des particules CC229 (P(DMAEMA₂₄-co-MAA₂₁)), la distribution de taille est élevée ($D_d = 2,5$) contribuant à un taux de particules magnétiques élevé (20 %), tandis que dans le cas des particules CC206 (P(DMAEMA₂₅-co-MAA₁₇)), la distribution de taille est plus faible ($D_d = 1,4$) ainsi que le taux de particules magnétiques (8 %).

L'utilisation de la sonde à ultrasons permet encore une fois d'améliorer la stabilité des particules et de diminuer la taille et la dispersion de taille des particules obtenues (cf. Chapitre 3). Cependant il n'est pas possible de conclure définitivement que cela est uniquement dû au procédé de dispersion des agrégats d'oxydes de fer, puisque le rapport massique macro-RAFT/monomère est également plus élevé pour les particules les plus stables (0,34 pour CC206 au lieu de 0,17 pour C229).

II.3. Conclusion sur la fonctionnalisation

Ces différents essais de fonctionnalisation ont permis l'obtention de plusieurs types de particules de latex magnétiques présentant différents états de surface : charges de surface anioniques ou chevelure de polymères cationiques ou amphotères. Ces premiers lots de particules fonctionnelles sont prêts à être testés sur des microorganismes afin d'évaluer leur capacité de capture/relargage.

Cependant ces particules ne sont pas optimales puisqu'elles contiennent toutes une quantité plus ou moins importante de tensioactif, dont on souhaiterait s'affranchir pour l'application visée. Une étude plus systématique doit être effectuée pour optimiser les paramètres de la polymérisation tels que le pH et la concentration en co-monomère ou en macro-RAFTs. Par ailleurs la présence des polymères/charges en surfaces des particules doit également être systématiquement vérifiée.

Les tests biologiques s'effectueront donc principalement sur les polymères fonctionnels seuls, adsorbés sur différents supports de silice, mais quelques tests seront également conduits sur les particules de latex magnétiques fonctionnelles synthétisées dans ce chapitre.

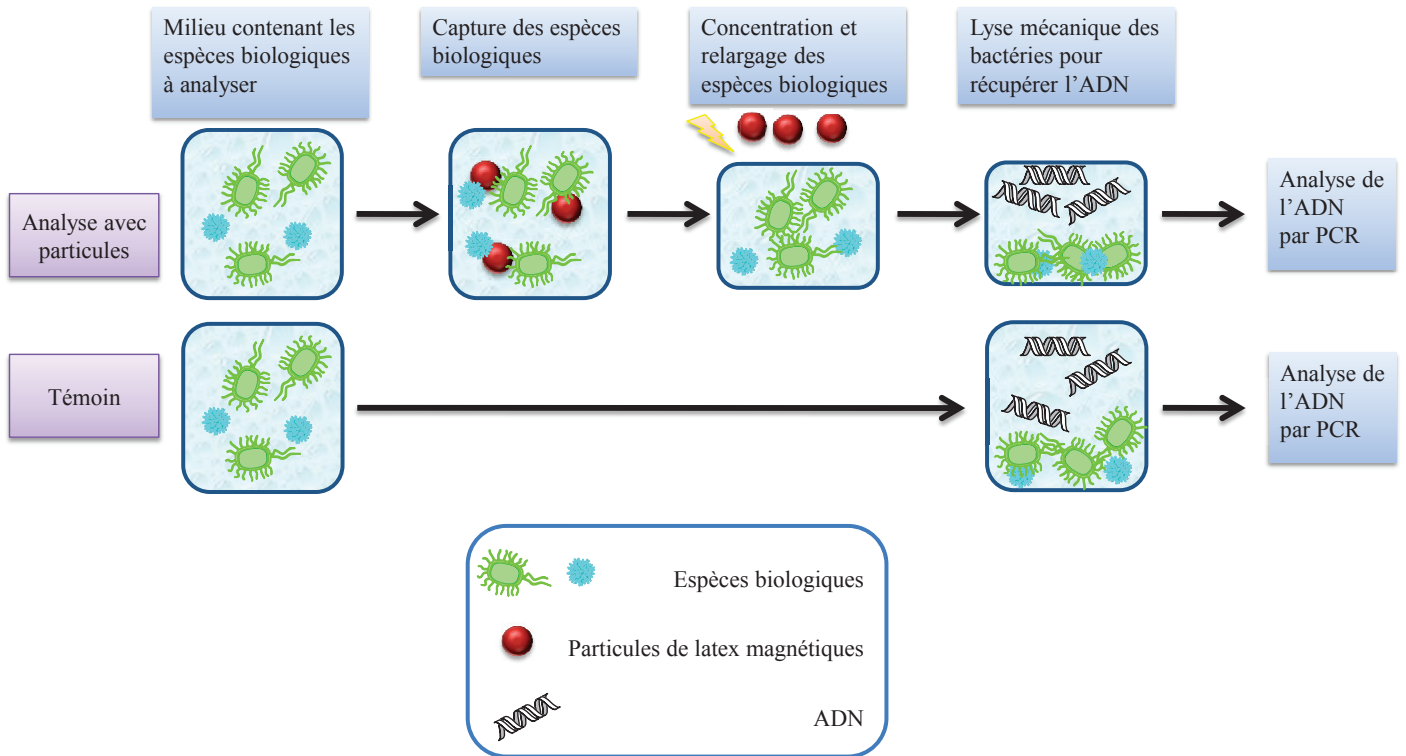
III. Etude de la capacité de capture/relargage des polymères fonctionnels

La capture et le relargage de microorganismes contenus dans divers échantillons (eau potable, sang, etc.) dans le but de les concentrer et de les analyser rapidement est une thématique phare du département des systèmes pour la biologie et la santé (DTBS) du CEA. De nombreux procédés d'analyse ont été développés par l'équipe BioSoc du DTBS et cette partie en décrira deux en particulier : le premier développé à partir de particules magnétiques commerciales, et le second à partir de dispositifs microfluidiques, également développés au CEA.

III.1. Principe et protocole des tests de capture/relargage par des particules magnétiques

Le principe des tests de capture/relargage repose sur la capture des microorganismes d'un échantillon afin de pouvoir les concentrer dans un petit volume grâce à l'utilisation d'un aimant. Les microorganismes doivent ensuite être relargués afin de les analyser après avoir retiré les particules magnétiques du milieu. Ces étapes constituent l'étape dite de concentration. Il y a ensuite une étape de lyse des microorganismes ainsi reconcentrés pour pouvoir extraire et purifier leur ADN. Enfin l'ADN des différents microorganismes est analysé par Polymerase Chain Reaction (PCR). Cette méthode est sensible aux interférents tels que les molécules qui peuvent rester en solution après l'utilisation des particules magnétiques, ce qui nuit à la précision de l'analyse. Toutefois elle a été utilisée en première intention car c'est la méthode d'analyse choisie pour le développement des systèmes intégrés pour son excellente sensibilité.

L'étape dans laquelle interviennent les particules magnétiques est l'étape de concentration. L'efficacité de celle-ci dépend grandement de la capacité des particules à capter et relarguer les microorganismes. Les différents tests qui vont suivre ont donc pour but d'analyser la capacité de capture et de relargage des polymères. Pour limiter le nombre d'étapes pouvant induire des fluctuations, la détermination de cette capacité s'effectuera sans l'étape de purification de l'ADN et sera systématiquement comparée à un témoin (Figure 22). Le témoin étant la quantité d'ADN détectée par PCR après une étape de lyse mécanique. Un rendement de capture/relargage des polymères peut alors être défini comme étant le rapport entre la quantité d'ADN détectée en présence des particules magnétiques sur la quantité d'ADN détectée en l'absence de particules magnétiques i.e. dans le témoin.



$$\text{Rendement de capture/relargage (\%)} = \frac{\text{Résultats d'analyses avec les particules magnétiques}}{\text{Résultat du témoin}} \times 100$$

Figure 22 : Schéma de la détermination du rendement de capture/relargage de microorganismes par des particules magnétiques après séparation magnétique à l'aide d'un aimant et analyse PCR de l'ADN

Les résultats obtenus lors de ces tests peuvent être surprenants car il est possible d'obtenir des rendements supérieurs à 100 %. Cela est dû au fait qu'à chacune des étapes il y a des incertitudes de mesures qui peuvent être importantes, comme c'est le cas pour l'analyse PCR ou simplement le fait de travailler avec des microorganismes, c'est-à-dire des espèces vivantes. Pour limiter au maximum ces fluctuations, les témoins sont refaits à chaque campagne de tests de capture/relargage.

Pour constituer un panel représentatif des différentes bactéries présentes dans l'environnement, les tests ont été effectués sur différentes souches bactériennes, dont certaines sont sous forme de spores^c. Il s'agit des bactéries *Bacillus subtilis* (Bs) et *Bacillus atropheus* (Bg car anciennement appelé *Bacillus globigii*). Les autres bactéries (non sporulées) utilisées sont: *Serratia marcescens* (Sm), *Escherichia coli* (E. coli) et *Streptococcus epidermidis* (Se).

La capture s'effectue en milieu acide (pH = 3,3) pour pouvoir développer les charges positives des particules de latex magnétiques et ainsi capter les bactéries, qui sont quasiment toujours chargées négativement. L'éluion ou le relargage des espèces biologiques s'effectue ensuite en milieu basique (pH = 11,6) pour neutraliser les charges cationiques des particules et libérer ainsi les bactéries.

Ces tests ont majoritairement été effectués par l'équipe DTBS/SBSC/LBAM au CEA Grenoble.

^c Pour préserver son intégrité dans un environnement hostile, certaines bactéries ont la capacité de modifier leur structure externe et elles sont ainsi qualifiées de spores bactériennes.

III.2. Résultats obtenus sur des particules de silice magnétiques commerciales

Deux types de particules commerciales ont été testés afin de comparer leurs performances à celles de nos particules de latex magnétiques fonctionnalisées et de nos polymères fonctionnels. Ces particules sont des silices magnétiques : *MagPrep® Silica MS* et *MagPrep® Silica HS*, commercialisées par Merck KGaA, que l'on notera respectivement par la suite *Silica MS* et *Silica HS*. Les particules *Silica MS* ont été choisies car ces particules possèdent de bons rendements de capture/relargage par rapport à d'autres particules commerciales préalablement testées. Malgré cela, les valeurs obtenues pour *Silica MS* (Tableau 8) peuvent paraître faibles, mais dans ce type d'étude, ce ne sont pas les valeurs précises qui sont déterminantes mais la fourchette dans laquelle se trouvent les valeurs. Les rendements inférieurs à 20 % sont considérés comme mauvais, ceux entre 20 et 40 % sont considérés comme moyens et ceux supérieurs à 40 % sont considérés comme bons.

Tableau 8 : Résultat de capture/relargage des particules magnétiques *MagPrep® Silica*

Particules magnétiques	Bg	Bs	Se	Sm	E. coli
Silica HS	25 ± 7 %	17 ± 2 %	34 ± 14 %	24 ± 5 %	41 ± 28 %
Silica MS	48 ± 31 %	63 ± 36 %	14 ± 15 %	10 ± 6 %	106 ± 29 %

Quant aux particules *Silica HS*, elles ont été choisies car elles possèdent un potentiel zêta négatif dans la gamme de pH utilisée pour la capture et le relargage des espèces biologiques (Tableau 9). Elles peuvent donc être fonctionnalisées par des polymères cationiques et serviront de support pour les tests des polymères fonctionnels. Elles donnent cependant des résultats positifs alors que les charges ne semblent pas appropriées. Une étude pour déterminer si cela n'est pas un artefact de l'analyse PCR est envisagée. Pour cela une autre méthode d'analyse sera utilisée et les résultats seront comparés.

Tableau 9 : Potentiel zêta des particules commerciales *Silica HS* au pH de capture et de relargage des cibles biologiques

Particules magnétiques	Potentiel zêta à pH = 3,3	Potentiel zêta à pH = 11,6
Silica HS	- 47,9 mV	- 24 mV

III.3. Résultats sur les polymères adsorbés sur différents supports de silice

Les particules commerciales servant de supports étant chargées négativement, seuls les polymères cationiques serviront à fonctionnaliser ces particules. Il s'agit des polymères : PDMAEMA (CC228), P(DMAEMA₂₅-co-MAA₁₇) (CC190) et P(DMAEMA₂₄-co-MAA₂₁) (CC225).

La fonctionnalisation des différents supports de silice a été effectuée dans des conditions identiques : le polymère fonctionnel est tout d'abord solubilisé dans une solution aqueuse acide de pH = 3,25. Dans le cas des particules de silice magnétiques commerciales, ces dernières sont mélangées avec la solution de polymère sous agitation pendant deux heures. L'excédent de polymère est ensuite retiré par 3 lavages magnétiques successifs à l'eau acidifiée (pH = 3,25) et les particules sont redispersées dans de

l'eau acidifiée à $\text{pH} = 3,25$, qui constitue également le milieu de capture. Elles sont alors directement utilisées en capture/relargage.

En ce qui concerne les puces à piliers, la solution de polymère circule trois fois dans la puce à piliers puis, comme dans le cas des particules de silice magnétiques, l'excédent de polymère est retiré par trois lavages à l'eau acidifiée à $\text{pH} = 3,25$. Puis les puces à piliers sont directement utilisées pour les tests de capture/relargage.

III.3.1. Résultats des polymères adsorbés sur des particules magnétiques commerciales

Les particules commerciales sont agitées pendant 2 heures en présence des polymères fonctionnels. Après fonctionnalisation et lavages, les particules sont redispersées dans une petite quantité d'eau acidifiée, dispersion directement introduite dans le protocole de détermination du rendement de capture/relargage des microorganismes. Les résultats sont présentés dans le Tableau 10.

Tableau 10 : Rendements de capture/relargage des polymères fonctionnels adsorbés sur les particules commerciales Silica HS

Description des particules	Bg	Bs	Se	Sm	E. coli
<i>Silica MS</i> – référence	$48 \pm 31 \%$	$63 \pm 36 \%$	$14 \pm 15 \%$	$10 \pm 6 \%$	$106 \pm 29 \%$
<i>Silica HS</i>	$25 \pm 7 \%$	$17 \pm 2 \%$	$34 \pm 14 \%$	$24 \pm 5 \%$	$41 \pm 28 \%$
<i>Silica HS</i> + CC228 PDMAEMA	$84 \pm 43 \%$	$110 \pm 37 \%$	$105 \pm 80 \%$	$25 \pm 13 \%$	$143 \pm 43 \%$
<i>Silica HS</i> + CC190 P(DMAEMA ₂₅ -co-MAA ₁₇)	$65 \pm 40 \%$	$98 \pm 53 \%$	$81 \pm 69 \%$	$47 \pm 33 \%$	$93 \pm 36 \%$
<i>Silica HS</i> + CC225 P(DMAEMA ₂₄ -co-MAA ₂₁)	$58 \pm 25 \%$	$101 \pm 75 \%$	$66 \pm 49 \%$	$30 \pm 14 \%$	$79 \pm 59 \%$

Quels que soient les bactéries et les polymères fonctionnels testés, les résultats des particules commerciales *Silica HS* fonctionnalisées sont meilleurs que lorsqu'elles ne sont pas fonctionnalisées. En ce qui concerne la comparaison avec les particules *Silica MS*, qui sont la référence des particules commerciales, les particules *Silica HS* fonctionnalisées conduisent à de meilleurs résultats dans quasiment tous les cas. La seule exception concerne la bactérie E. Coli, où les rendements des particules *Silica MS* sont meilleurs que pour les particules *Silica HS* + CC225 P(DMAEMA₂₄-co-MAA₂₁) et légèrement meilleurs que pour les particules *Silica HS* + CC190 P(DMAEMA₂₅-co-MAA₁₇).

En ce qui concerne les bactéries Sm, les rendements de capture/relargage sont toujours relativement faibles ($\leq 30 \%$) sauf dans le cas des particules *Silica HS* + CC190 P(DMAEMA₂₅-co-MAA₁₇) où les rendements sont corrects ($47 \pm 33 \%$). Le polymère P(DMAEMA₂₅-co-MAA₁₇) semble être un meilleur candidat pour la capture générique des microorganismes que le PDMAEMA, qui affiche de

bons rendements pour toutes les bactéries étudiées mais pas pour la bactérie Sm. L'utilisation de deux charges opposées pour capter et relarguer les microorganismes semble donc être la bonne approche.

III.3.2. *Puces à piliers*

Suite aux tests effectués sur les particules magnétiques, les polymères fonctionnels ont également été testés sur des puces à piliers développées au CEA. Il s'agit de petites puces pouvant être alimentées par un fluide : celui-ci passe au travers de la puce via des micro-canaux en forme de créneaux, pour augmenter la surface de contact (Figure 23). Dans ce cas, la fonctionnalisation consiste à faire circuler plusieurs fois la solution de polymères fonctionnels dans les canaux. Ces puces ont été développées parallèlement aux particules magnétiques et permettent également une analyse quantitative des microorganismes par PCR.

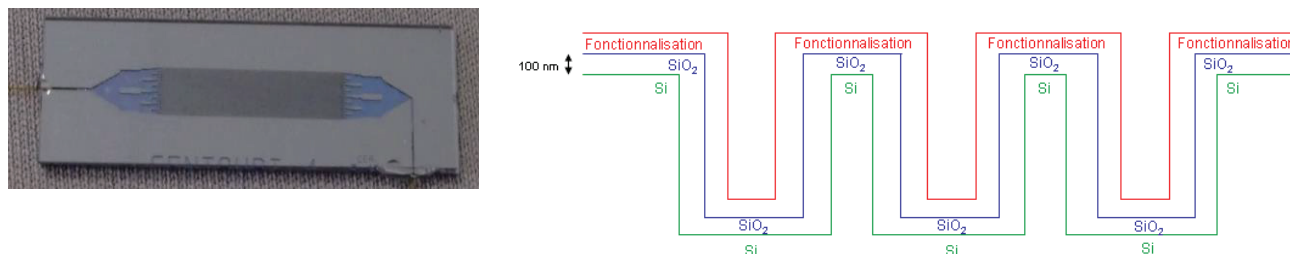


Figure 23 : Photo d'une puce à piliers et schéma d'un canal en forme de créneaux

Les puces étant fabriquées en quantité limitée, un seul macro-RAFT a été testé sur ce type de support et le choix s'est porté sur le CC190, i.e. P(DMAEMA₂₅-co-MAA₁₇). Seules les spores Bs ont été testées et le rendement de capture/élution est de 48 ± 22 %.

Ces résultats sont en accord avec ceux obtenus avec les particules commerciales de silice. Le polymère P(DMAEMA₂₅-co-MAA₁₇) offre de bons résultats sur des supports de silice et est donc prometteur pour la concentration générique de microorganismes. Des tests sur des particules de latex magnétiques ont été également effectués pour vérifier si ces résultats sont également applicables sur des particules de polymère.

III.4. Résultats sur les particules de latex magnétiques fonctionnelles

L'objectif final étant d'obtenir des particules de latex magnétiques fonctionnelles parfaitement définies, le rendement de capture/relargage des particules de latex magnétiques fonctionnalisées synthétisées durant cette thèse a également été déterminé (Tableau 11).

Tableau 11 : Rendement de capture/relargage des particules magnétiques fonctionnalisées in situ par des charges de surface ou par des polymères fonctionnels

Réf.	Fonctionnalisation	Bg	Bs	Se	Sm	E. Coli
	<i>Silica MS</i>	48 ± 31 %	63 ± 36 %	14 ± 15 %	10 ± 6 %	106 ± 29 %
CC170	PMMA non fonctionnalisé	/	7 ± NA* %	77 ± 18 %	/	55 ± 1 %
CC188	PMMA fonctionnalisé MAA	/	0 %	/	/	14 ± NA* %
CC203	PS fonctionnalisé MAA	7 ± NA* %	/	87 ± 24 %	/	168 ± 9 %
CC206	PMMA fonctionnalisé CC190 P(DMAEMA ₂₅ -co-MAA ₁₇)	30 ± 10* %	/	67 ± 3 %	/	69 ± 5 %
CC229	PMMA fonctionnalisé CC225 P(DMAEMA ₂₄ -co-MAA ₂₁)	/	/	/	/	/
CC230	PMMA fonctionnalisé CC228 P(DMAEMA)	/	/	/	/	/

*NA correspond à des valeurs non disponibles car les analyses n'ont pas été reproduites suffisamment de fois pour obtenir des statistiques exploitables.

On constate que les rendements de capture/relargage de la bactérie Se sont plus élevés que pour les particules commerciales, même pour les particules non fonctionnalisées ou fonctionnalisées avec des charges négatives (CC203, fonctionnalisée par MAA). On constate également que les particules CC206, fonctionnalisées avec le polymère CC190 conduit à de moins bons résultats (à l'exception de la bactérie Se) que les particules commerciales, alors que ce même polymère sur des particules de silice avait donné les meilleurs résultats. Il est possible que la présence de tensioactif cationique CTAB à la surface des particules fonctionnalisées perturbe la capture et le relargage des microorganismes. Pour vérifier cette hypothèse, ces tests de capture/relargage devront être réalisés à la fois sur des particules dialysées et non dialysées pour obtenir des statistiques fiables.

De nombreux tests sont actuellement encore en cours. Cela est dû au fait que de nombreuses analyses sont nécessaires pour pouvoir obtenir des résultats fiables. D'autre part, la préparation des échantillons avant l'analyse PCR n'est pas encore automatisée et est donc longue à l'heure actuelle. Enfin, les particules de latex magnétiques synthétisées possèdent une réponse magnétique légèrement inférieure aux particules *Silica MS*, ce qui rallonge légèrement le temps d'analyse.

IV. Conclusions du chapitre 4

Au travers de ce chapitre nous avons vu que l'outil de polymérisation RAFT était un outil puissant permettant d'obtenir des polymères complexes de structure bien contrôlée. En effet, il a été possible d'obtenir des polyanions (PMAA), des polycations (PDMAEMA), mais également des polyampholytes P(DMAEMA-co-MAA) de masses molaires contrôlées et de compositions chimiques parfaitement définies.

Ces différents macro-RAFTs ont ensuite été utilisés directement lors de la synthèse des particules de latex magnétiques dans le but d'obtenir des particules de latex magnétiques présentant une chevelure fonctionnelle. Du fait de la présence d'une terminaison réactivable en fin de chaîne, ces polymères sont supposés participer à la stabilisation des particules de latex magnétiques en s'ancrant à la surface des particules par la partie hydrophobe et en stabilisant les particules par la partie hydrophile. Cette stabilisation est soit stérique soit électrosterique en fonction du pH et des charges développées. Toutefois leur ancrage à la surface des particules n'a pas encore été démontré. En effet, le but de cette étude était avant tout d'obtenir rapidement quelques lots de particules de latex magnétiques fonctionnalisées, tandis que l'objectif final est d'obtenir des particules parfaitement définies en s'affranchissant de l'utilisation de tensioactifs. Pour atteindre cet objectif final, une étude systématique des paramètres de polymérisation (pH, concentration en co-monomère ou en macro-RAFTs) doit être effectuée.

Parallèlement des particules présentant des charges de surface ont également été synthétisées avec différentes natures du cœur hydrophobe (PS ou PMMA) dans le but d'étudier les interactions particules/microorganismes. Encore une fois, la présence de ces charges à la surface des particules n'a pas été démontrée et une analyse telle qu'une spectroscopie de masse des ions secondaires (ToF-SIMS) permettrait de définir les fonctions chimiques de surface.

En ce qui concerne les tests de capture/relargage de microorganismes, les polymères fonctionnels et les premiers lots de particules de latex magnétiques fonctionnelles ont été testés.

Le rendement de capture/relargage des polymères fonctionnels a été testé en adsorbant les polymères sur différents supports de silice : particules commerciales de silice magnétique ou puces à piliers. Sur les particules commerciales de silice magnétiques, les rendements obtenus avec l'utilisation du copolymère P(DMAEMA₂₅-co-MAA₁₇) (CC190) sont meilleurs que ceux obtenus pour les particules seules (*Silica HS*) et que la référence commerciale actuellement utilisée (*Silica MS*). Ces résultats sont très prometteurs puisqu'il s'agit du seul polymère permettant d'obtenir de bons rendements de capture/relargage pour toutes les bactéries testées jusqu'à présent. En ce qui concerne les résultats sur les puces à piliers, l'utilisation de ce même copolymère a permis d'obtenir de bons rendements lors des tests préliminaires.

Les particules fonctionnalisées par des charges de surface ou une chevelure fonctionnelle ont été testées directement. Bien que certains tests biologiques soient encore en cours, on constate que pour

une certaine bactérie (Se) les résultats des particules magnétiques fonctionnelles sont meilleurs que pour les particules commerciales. Cependant les résultats des particules magnétiques fonctionnalisées par le copolymère P(DMAEMA₂₅-*co*-MAA₁₇) (CC190) sont moins bons que lorsque celui-ci est adsorbé sur une surface de silice. Cela peut provenir du fait que dans les lots de particules magnétiques synthétisées, il reste du tensioactif cationique CTAB adsorbé à la surface. En effet, le CTAB chargé positivement peut perturber la capture et le relargage des microorganismes.

Pour compléter cette étude, différentes fonctionnalisations des particules magnétiques doivent encore être effectuées et testées en capture/relargage. Il y a notamment l'influence des charges de surface par rapport à une chevelure, mais aussi différents types de chevelure. En effet, différents paramètres pourraient être variés : la longueur de chaîne, la composition molaire des chaînes (rapport [MAA]/[DMAEMA]), le type de copolymère (statistiques ou à blocs), ou encore les monomères entrant dans la composition des copolymères. Il est par exemple envisageable de remplacer l'acide méthacrylique par de l'acide acrylique ou le DMAEMA par son équivalent acrylate.

Références du chapitre 4

1. Poortinga, A. T.; Bos, R.; Norde, W.; Busscher, H. J. *Surf. Sci. Rep.* **2002**, *47*, 1-32.
2. Kubota, M.; Matsui, M.; Chiku, H.; Kasashima, N.; Shimojoh, M.; Sakaguchi, K. *Appl. Environ. Microb.* **2005**, *71*, 8895-8902.
3. Dirk, S. *Adv. Drug Delivery Rev.* **2006**, *58*, 1655-1670.
4. Veyret, R.; Delair, T.; Pichot, C.; Elaissari, A. *J. Magn. Magn. Mater.* **2005**, *295*, 155-163.
5. Veyret, R.; Elaissari, A.; Marianneau, P.; Sall, A. A.; Delair, T. *Anal. Biochem.* **2005**, *346*, 59-68.
6. Mora, P. T.; Young, B. G.; Rizvi, S. *J. Biol. Chem.* **1962**, *237*, 157-164.
7. Xiao, L.; Yang, C.; Patterson, P. S.; Udhayakumar, V.; Lal, A. A. *Infect. Immun.* **1996**, *64*, 1373-8.
8. Newman, M.; Chua, P. K.; Tang, F.-M.; Su, P.-Y.; Shih, C. *J. Virol.* **2009**, *83*, 10616-10626.
9. Bigall, N. C.; Curcio, A.; Leal, M. P.; Falqui, A.; Palumberi, D.; Di Corato, R.; Albanesi, E.; Cingolani, R.; Pellegrino, T. *Adv. Mater.* **2011**, *23*, 5645-5650.
10. Ravichandran, R.; Sundarrajan, S.; Venugopal, J. R.; Mukherjee, S.; Ramakrishna, S. *Macromol. Biosci.* **2012**, *12*, 286-311.
11. Chaduc, I.; Lansalot, M.; D'Agosto, F.; Charleux, B. *Macromolecules* **2012**, *45*, 1241-1247.
12. Cotanda, P.; Wright, D. B.; Tyler, M.; O'Reilly, R. K. *J. Polym. Sci., Part A: Polym. Chem.* **2013**, *51*, 3333-3338.
13. van de Wetering, P.; Zuidam, N. J.; van Steenberg, M. J.; van der Houwen, O. A. G. J.; Underberg, W. J. M.; Hennink, W. E. *Macromolecules* **1998**, *31*, 8063-8068.
14. Truong, N. P.; Jia, Z.; Burges, M.; McMillan, N. A. J.; Monteiro, M. J. *Biomacromolecules* **2011**, *12*, 1876-1882.
15. Kuznetsova, N. A.; Kazantsev, O. A.; Shirshin, K. V.; Khokhlova, T. A.; Malyshev, A. P. *Russ. J. Appl. Chem.* **2003**, *76*, 1117-1120.
16. Zhao, W.; Fonsny, P.; FitzGerald, P.; Warr, G. G.; Perrier, S. *Polym. Chem.* **2013**, *4*, 2140-2150.
17. Verbaan, F.; van Dam, I.; Takakura, Y.; Hashida, M.; Hennink, W.; Storm, G.; Oussoren, C. *Eur. J. Pharma. Sci.* **2003**, *20*, 419-427.
18. Dong, Z.; Wei, H.; Mao, J.; Wang, D.; Yang, M.; Bo, S.; Ji, X. *Polymer* **2012**, *53*, 2074-2084.
19. Riess, G.; Labbe, C. *Macromol. Rapid Commun.* **2004**, *25*, 401-435.
20. Guyot, A.; Tauer, K.; Asua, J. M.; Van Es, S.; Gauthier, C.; Hellgren, A. C.; Sherrington, D. C.; Montoya-Goni, A.; Sjoberg, M.; Sindt, O.; Vidal, F.; Unzue, M.; Schoonbrood, H.; Shipper, E.; Lacroix-Desmazes, P. *Acta Polymerica* **1999**, *50*, 57-66.
21. Klaus, T.; Alain, G., Polymerizable and Polymeric Surfactants. dans *Reactions And Synthesis In Surfactant Systems*, CRC Press: **2001**.
22. Guyot, A. *Macromol. Symp.* **2002**, *179*, 105-132.
23. Guyot, A., Apport des tensioactifs réactifs. dans *Les latex synthétiques. Elaboration, Propriétés, Applications*, Tec & Doc ed.; Lavoisier: Paris, **2006**; p 759-783.
24. dos Santos, A. M.; Pohn, J.; Lansalot, M.; D'Agosto, F. *Macromol. Rapid Commun.* **2007**, *28*, 1325-1332.
25. Manguian, M.; Save, M.; Charleux, B. *Macromol. Rapid Commun.* **2006**, *27*, 399-404.
26. Velasquez, E.; Rieger, J.; Stoffelbach, F.; Charleux, B.; D'Agosto, F.; Lansalot, M.; Dufils, P.-E.; Vinas, J. *Polymer* **2013**, *54*, 6547-6554.
27. Moad, G.; Solomon, D. H., 8 – Controlling Polymerization. dans *The Chemistry of Radical Polymerization (Second Edition)*, Elsevier Science Ltd: Amsterdam, **2005**; p 413-449.
28. Braunecker, W. A.; Matyjaszewski, K. *Prog. Polym. Sci.* **2007**, *32*, 93-146.

29. Matyjaszewski, K. *Macromolecules* **2012**, *45*, 4015-4039.
30. Nicolas, J.; Guillauneuf, Y.; Lefay, C.; Bertin, D.; Gimes, D.; Charleux, B. *Prog. Polym. Sci.* **2013**, *38*, 63-235.
31. Barner, L.; Perrier, S., Polymers with Well-Defined End Groups via RAFT – Synthesis, Applications and Postmodifications. dans *Handbook of RAFT Polymerization*, Wiley-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA: **2008**; p 455-482.
32. Keddie, D. J.; Moad, G.; Rizzardo, E.; Thang, S. H. *Macromolecules* **2012**, *45*, 5321-5342.
33. Han, X.; Zhang, X.; Zhu, H.; Yin, Q.; Liu, H.; Hu, Y. *Langmuir* **2013**, *29*, 1024-1034.
34. Charleux, B.; Nicolas, J.; Guerret, O. *Macromolecules* **2005**, *38*, 5485-5492.
35. Mori, H.; Endo, T. *Macromol. Rapid Commun.* **2012**, *33*, 1090-1107.
36. Sahnoun, M.; Charreyre, M.-T.; Veron, L.; Delair, T.; D'Agosto, F. *J. Polym. Sci., Part A: Polym. Chem.* **2005**, *43*, 3551-3565.
37. Kitano, H.; Kondo, T.; Kamada, T.; Iwanaga, S.; Nakamura, M.; Ohno, K. *Colloids Surf., B* **2011**, *88*, 455-462.
38. Kondo, T.; Gemmei-Ide, M.; Kitano, H.; Ohno, K.; Noguchi, H.; Uosaki, K. *Colloids Surf., B* **2012**, *91*, 215-218.

Conclusion générale

Ce travail de thèse s'inscrit dans une thématique de recherche dédiée à la mise au point de nouvelles méthodes d'analyses microbiologiques rapides et quantitatives développées au CEA LETI de Grenoble, plus particulièrement par le département des technologies pour la biologie et la santé (DTBS). L'objectif de cette thèse était de développer des particules de latex magnétiques capables de capter et relarguer de manière générique des microorganismes afin de les concentrer rapidement à l'aide d'un simple aimant.

Une étude bibliographique sur l'application à la séparation magnétique des particules de latex magnétiques nous a permis d'établir un cahier des charges strict. Pour satisfaire aux exigences de l'application envisagée, les particules magnétiques doivent répondre aux critères suivants :

- Un diamètre proche de 500 nm, accompagné d'une distribution de taille étroite,
- Une encapsulation efficace des oxydes de fer afin qu'ils ne perturbent pas les étapes ultérieures d'analyse des microorganismes,
- Une teneur élevée en oxyde de fer permettant de séparer les particules magnétiques du milieu en moins de 30 secondes sous l'application d'un champ magnétique,
- Une fonctionnalité de surface appropriée (charges et/ou chevelure polymère) permettant une capture générique des microorganismes,
- Une bonne stabilité colloïdale au cours des différentes étapes de séparation/redispersion, notamment dans des milieux biologiques de forte salinité.

L'étude bibliographique portant sur les différents procédés d'obtention de latex magnétiques nous a permis d'adopter une stratégie reposant sur la polymérisation en milieu dispersé (dispersion, émulsion ou miniémulsion) conduite en présence d'oxydes de fer. En effet, cette approche permet en principe une bonne incorporation des oxydes de fer tout en offrant une certaine flexibilité pour la fonctionnalisation des particules de latex magnétiques finales.

Nous avons choisi de synthétiser les nanoparticules d'oxyde de fer afin de contrôler la nature de leur surface ainsi que leur modification. Les nanoparticules ont été synthétisées par co-précipitation de sels ferreux et ferriques dans l'eau car ce procédé offre des conditions de synthèse douces (température, réactifs) contrairement aux autres procédés (solvothérmal et décomposition thermique). Dans les conditions opératoires adoptées, nous avons obtenu des nanoparticules de maghémite ($\gamma\text{-Fe}_2\text{O}_3$) stabilisées par des contre-ions nitrate et stables dans l'eau. La nature des nanoparticules a été confirmée par spectroscopie Raman. Le diamètre des particules a pu être déterminé par DRX et MET. Il a également été recalculé à partir de la surface spécifique, il est d'environ 8 nm pour les différents lots synthétisés démontrant la reproductibilité de la synthèse des lots d'oxyde de fer.

Ces nanoparticules de maghémite ont ensuite été modifiées pour permettre leur encapsulation dans des particules de polymère. L'agent de modification de surface choisi est le MPS, un silane porteur d'une fonction méthacrylate. Le groupement silane permet un ancrage efficace du MPS à la surface des

oxydes de fer et les groupements méthacrylique favorisent une répartition homogène du matériel magnétique au sein des particules de polymère. Deux procédés de greffage en milieu acide ont été développés : un procédé hydro-alcoolique et un procédé aqueux. D'après les analyses élémentaires et ATG, les deux procédés conduisent à une densité de greffage du MPS d'environ $3,5 \mu\text{mol m}^{-2}$, densité de greffage élevée et supérieure à celle d'une monocouche.

Après modification de surface par le procédé hydro-alcoolique, les oxydes de fer ont été utilisés en polymérisation en dispersion du styrène. Différents paramètres ont été étudiés pour permettre l'encapsulation des oxydes de fer : la polarité du milieu dispersant, le type de stabilisant, la nature de l'amorceur et l'utilisation d'un agent réticulant. Malgré la diversité des conditions opératoires testées, aucun système n'a permis d'aboutir à la formation d'un latex magnétique répondant, même en partie, aux impératifs du cahier des charges. En effet, les stabilisants sélectionnés (PVP et PEGMA) présentent une forte affinité avec les oxydes de fer et s'adsorbent à leur surface, les empêchant ainsi de s'enterrer au cœur des particules. L'utilisation d'un agent réticulant (le DVB) dans le but de réduire la mobilité moléculaire des chaînes a permis d'incorporer plus efficacement les oxydes de fer mais en quantité insuffisante par particule pour que le latex présente un caractère magnétique. Cette voie n'a pas été approfondie dans cette étude mais elle constitue néanmoins une perspective intéressante.

Pour s'affranchir des interactions avec le stabilisant, nous nous sommes alors intéressés à la polymérisation en émulsion et en miniémulsion du styrène et du méthacrylate de méthyle (MMA). La polymérisation en émulsion en présence d'oxydes de fer modifiés n'est pas triviale car ces derniers ne sont pas stables en milieu aqueux, même en présence d'un tensioactif. Toutefois, la présence de tensioactif cationique (CTAB) et de monomère, combinée à une étape d'homogénéisation (bain ou sonde à ultrasons), a permis de disperser les agrégats d'oxydes de fer. L'étude de l'état initial de la polymérisation en émulsion a notamment permis de déterminer que l'oxyde de fer est principalement concentré dans des petites gouttelettes de monomère.

La polymérisation en émulsion du styrène a permis d'obtenir des latex magnétiques stables présentant une réponse magnétique correcte. Cependant, la quantité de tensioactif nécessaire pour l'obtention d'un tel latex est élevée ($[\text{CTAB}] = 2 \text{ g L}^{-1}$) et le latex obtenu est hétérogène en composition : environ 90 % de latex non magnétique, ne contenant pas ou peu d'oxyde de fer et 10 % seulement de fraction magnétique, composée de particules chargées en oxyde de fer. Toute variation de ce système, telle qu'une modification de la nature du tensioactif ou une diminution de la quantité de tensioactif ou de monomère, mène à une instabilité des particules de latex magnétiques.

La polymérisation en émulsion du MMA, monomère plus polaire, a permis de diminuer la concentration en tensioactif nécessaire pour l'obtention d'un latex stable ($[\text{CTAB}] = 1 \text{ g L}^{-1}$). Des latex magnétiques ayant une réponse en 30 secondes comme l'exige le cahier des charges ont pu être synthétisés en diminuant la concentration en monomère à 30 g L^{-1} . L'utilisation de différents procédés d'homogénéisation du milieu oxyde de fer modifié / tensioactif / monomère, tels que les sondes à ultrasons ou Ultra Turrax ou encore le bain à ultrason, ont permis d'obtenir des particules magnétiques ayant un diamètre compris entre 140 à 650 nm. Les diamètres les plus faibles ont été obtenus par les procédés de dispersion les plus énergiques. La fraction magnétique est comprise entre 2 et 37 % et

contient entre 67 et 91 % d'oxyde de fer. Cependant, dans tous les cas, la dispersion de taille est élevée (D_d compris entre 1,5 et 5,7).

L'utilisation d'un agent hydrophobe (l'ODA) a permis d'obtenir des gouttelettes initiales stables, qui après une polymérisation en miniémulsion conduisent à des particules magnétiques ayant une dispersion de taille faible (comprise entre 1,3 et 2,2). Toutefois, les oxydes de fer sont répartis de manière plus homogène au sein du latex, entraînant un taux de particules magnétiques faible (environ 2 %). Ce taux de particules magnétiques a pu être amélioré (9 à 11 %) en augmentant la concentration en oxydes de fer introduite initialement ou en modifiant le procédé de dispersion initial afin d'obtenir des particules de taille plus importante (diamètres de 410 nm obtenus par l'utilisation de la sonde Ultra Turrax).

Parallèlement au développement des particules de latex magnétiques, des polymères fonctionnels ont été synthétisés pour permettre la capture et le relargage d'une variété de microorganismes. Ceux-ci développent généralement une charge négative. Nous avons donc opté pour des polymères pH-sensibles afin de varier les interactions électrostatiques en fonction du pH. En effet, nous voulons utiliser des interactions électrostatiques attractives pour capter et répulsives pour relarguer différents types de microorganismes. Les polymères synthétisés sont de polyélectrolytes (PMAA ou PDMAEMA) ou des polyampholytes P(DMAEMA-*co*-MAA) bien définis obtenus par polymérisation radicalaire contrôlée de type RAFT. Ces polymères ont été adsorbés sur des surfaces de silice (particules de silice magnétiques commerciales ou puces à piliers) et testés pour leur capacité de capture/relargage sur un panel de cinq microorganismes. Ces résultats ont été comparés à ceux obtenus pour des particules commerciales. L'adsorption du polymère ampholyte conduit à une nette amélioration de la capture et du relargage de ces microorganismes.

La synthèse de particules magnétiques décorées par ces polymères fonctionnels a été tentée en présence de tensioactifs pour obtenir ces particules en une étape (i.e. encapsulation des oxydes de fer et fonctionnalisation simultanée). Des particules magnétiques présentant des fonctions carboxylate, des polycations (PDMAEMA) ou encore des polyampholytes (P(DMAEMA-*co*-MAA)) ont été ainsi synthétisées. Toutefois, la présence de charges ou de polymères chargés à la surface des particules n'a pas été mise en évidence. Par ailleurs, les premiers essais de capture et relargage de ces particules conduisent à des résultats moins bons que ceux obtenus pour les polymères adsorbés sur des surfaces de silice. Cette diminution d'efficacité est probablement due à la présence du tensioactif et une voie de synthèse de particules magnétiques sans tensioactif doit donc être développée pour vérifier cette hypothèse.

L'optimisation de la synthèse des particules magnétiques fonctionnalisées *in situ* et l'étude de leurs mécanismes de formation constituent donc une première voie d'étude pour la poursuite de ce projet. La synthèse de différents polymères fonctionnels serait également très pertinente, en envisageant notamment l'utilisation d'autres monomères (acide méthacrylique, vinylpyridine...) ou en variant l'architecture du copolymère (copolymères à blocs versus copolymères statistiques). Il serait également intéressant d'exploiter les propriétés thermosensibles de polymères portant des segments de

PDMAEMA, ou d'envisager l'utilisation de monomères porteurs d'un groupe cationisable et clivable, tels que le DMAEA, l'équivalent acrylique du DMAEMA.¹

Enfin, les progrès effectués sur les procédés de synthèse des oxydes de fer permettent d'envisager une autre stratégie de synthèse des particules de latex magnétiques. La formation de clusters contrôlés de nanoparticules d'oxyde de fer de 300 nm de diamètre est une avancée très intéressante.² En effet, il ne s'agira plus dans ce cas d'encapsuler de grandes quantités d'oxyde de fer mais d'effectuer une mono-encapsulation de clusters de taille contrôlée.

Références

1. Truong, N. P.; Jia, Z.; Burges, M.; McMillan, N. A. J.; Monteiro, M. J. *Biomacromolecules* **2011**, *12*, 1876-1882.
2. Liu, J.; Sun, Z.; Deng, Y.; Zou, Y.; Li, C.; Guo, X.; Xiong, L.; Gao, Y.; Li, F.; Zhao, D. *Angew. Chem., Int. Ed.* **2009**, *48*, 5875-5879.

Annexes

ANNEXE A : REACTIFS	208
ANNEXE B : PROTOCOLES EXPERIMENTAUX.....	209
I. Synthèse du ferrofluide cationique.....	209
II. Greffage du 3-méthacryloxypropyle triméthylsilane (MPS)	210
II.1. Protocole en milieu hydro-alcoolique	210
II.2. Protocole en milieu aqueux	210
III. Encapsulation des nanoparticules d'oxyde de fer par polymérisation en dispersion	211
III.1. Cas d'un amorceur organosoluble	211
III.2. Cas d'un amorceur hydrosoluble	211
IV. Encapsulation des nanoparticules d'oxyde de fer par polymérisation en émulsion	211
V. Synthèse des agents RAFT macromoléculaires (macro-RAFT) à base de MAA et/ou de DMAEMA	212
ANNEXE C : APPAREILLAGES ET TECHNIQUES DE CARACTERISATION	213
I. Caractérisations de la partie inorganique	213
I.1. Spectroscopie Infrarouge	213
I.2. Analyse élémentaire.....	213
I.3. Mesures de pH	213
I.4. Diffraction des rayons X	213
I.5. Spectroscopie RAMAN	213
II. Caractérisations de surface.....	214
II.1. Potentiel zêta	214
II.2. Surface spécifique par la méthode BET.....	214
III. Caractérisations des polymères	214
III.1. Détermination de la conversion en monomère(s) par RMN ¹ H	214
III.2. Détermination du degré de polymérisation et de la composition des polymères.....	217
III.3. Détermination de la masse molaire	218
IV. Caractérisations des latex	219
IV.1. Détermination de la conversion par gravimétrie	219
IV.2. Diffusion dynamique de la lumière (DDL)	219
IV.3. Microscopie électronique à transmission (MET).....	219
V. Caractérisations magnétiques	220
V.1. Protocoles de séparations magnétiques	220
V.2. Analyse thermogravimétrique	221
V.3. Magnétométrie	221
VI. Protocole de concentration et d'analyse des microorganismes.....	221
VI.1. Capture des microorganismes par les particules magnétiques	221
VI.2. Relargage des microorganismes.....	221
VI.3. Analyse PCR.....	221
ANNEXE D : RESULTAT COMPLEMENTAIRE	222
I. Polymérisation en miniémulsion du styrène	222

Annexe A : Réactifs

Réactif	Fournisseur	Pureté
Acétone	VWR – Prolabo	ACS pour analyse
Acide chlorhydrique	Acros	37 %
Acide citrique anhydre	Acros	99 %
Acide nitrique	Alfa Aesar	70 %
Acide trifluoroacétique	Aldrich	99 %
ACPA (4,4'-Azobis(4-acide cyanopentanoïque))	Aldrich	98 %
AIBA (2,2'-Azobis(2-méthylpropionamide))	Acros	98 %
AIBN (2,2'-Azobisisobutyronitrile)	Acros	98 %
Ammoniaque	Acros	25 %
CTAB (Bromure de cétyl triméthylammonium)	Aldrich	/
Chloroforme deutéré	Aldrich	99,8 %
Chlorure de fer (II), tétrahydraté	Aldrich	≥ 99%
Chlorure de fer (III), hexahydraté	Aldrich	ACS ≥ 97%
Dioxane	Aldrich	ACS ≥ 99,5%
DVB (Divinylbenzène)	Aldrich	technique 80 %
DMAEMA (Méthacrylate de <i>N,N</i> -diméthyl-2-aminoéthyle)	Aldrich	98%
Eau déionisée	Purelab Classic UV, Elga LabWater	
Eau deutérée	Aldrich	≥ 99,96 %
Ethanol absolu	VWR – Prolabo	absolu
Ether de pétrole	Aldrich	Laboratory reagent
Ether diéthylique	Aldrich	Laboratory reagent
MAA (Acide méthacrylique)	Acros	99,5 %
MADQUAT® (Chlorure de 2-(méthacryloyloxy)éthyl triméthylammonium)	Aldrich	75 % dans l'eau
MMA (Méthacrylate de méthyle)	Acros	99 %
MPS (3-méthoxypropyle triméthylsilane)	Acros	98 %
Nitrate de fer (III) nonahydraté	Aldrich	ACS ≥ 98%
NP30 (Nonylphényle éther de poly(éthylèneglycol))	Aldrich	/
ODA (Acrylate d'octadécyle)	Aldrich	97 %
PEGMA (Méthyl éther méthacrylate de polyéthylène glycol) 1100 g mol ⁻¹ avec inhibiteur	Aldrich	$M_n = 1100 \text{ g mol}^{-1}$
PVP K90 (Poly(vinylpyrrolidone)) 360 000 g mol ⁻¹	Aldrich	/
PVP K30 (Poly(vinylpyrrolidone)) 40 000 g mol ⁻¹	Aldrich	/
Styrène	Acros	99 %
Trioxane	Aldrich	> 99 %

Annexe B : Protocoles expérimentaux

I. Synthèse du ferrofluide cationique

La synthèse des nanoparticules d'oxyde de fer a été effectuée dans un réacteur à double enveloppe en verre de 250 mL. Celui-ci est muni d'un réfrigérant et d'une agitation mécanique, dont la vitesse d'agitation est réglée à 500 trs min⁻¹. La double enveloppe est reliée à un bain thermostaté. La synthèse est divisée en 5 étapes décrites ci-dessous.

1. Etape 1 : Précipitation

Les sels de fer (7,2 g de chlorure de fer (II) tetrahydrate et 13 g de chlorure de fer (III) hexahydrate) sont dissous dans 60 mL d'eau et 4 mL d'HCl à 37%. Une fois le mélange homogène, celui-ci est versé dans le réacteur double-enveloppe. 40 mL d'ammoniaque à 20% sont ajoutés rapidement à l'aide d'un entonnoir. Le tout est agité pendant 30 minutes, puis le mélange est soutiré dans un bécher.

2. Etape 2 : Oxydation partielle

Le mélange obtenu est mis à décanter sur un aimant et le surnageant est retiré. 40 mL d'eau ainsi que 5,2 mL d'acide nitrique à 70 % sont ajoutés au culot et mélangés à l'aide d'une spatule en téflon. Le mélange est à nouveau mis à décanter sur l'aimant et le surnageant est à nouveau retiré.

3. Etape 3 : Oxydation poussée

12,92 g de nitrate de fer (III) sont dissous dans 32 g d'eau et le réacteur est mis à chauffer à 80 °C. Le mélange de nitrate de fer (III) est mélangé au culot obtenu à l'issue de l'étape précédente. Une fois le mélange homogène, le tout est introduit dans le réacteur et le mélange est agité pendant 30 minutes supplémentaires.

4. Etape 4 : Peptisation (= stabilisation de l'oxyde de fer, formation d'un ferrofluide)

Le mélange obtenu après l'étape d'oxydation poussée est soutiré du réacteur et mis à décanter dans un bain d'eau glacée sur un aimant. Le surnageant est retiré. 80 mL d'eau et 10,4 mL d'acide nitrique à 70% sont ensuite ajoutés au culot et le tout agité à l'aide d'une spatule en téflon, puis mis à décanter sur un aimant. Le surnageant est retiré.

5. Etape 5 : Lavages

40 mL d'acétone sont ajoutés au culot. Après agitation du mélange à l'aide d'une spatule, le mélange est remis à décanter sur un aimant. Cette opération est renouvelée 3 fois en tout avec l'acétone, puis 2 fois avec 20 mL d'éther diéthylique. Pour obtenir la dispersion finale : 40 mL d'eau sont ajoutés au culot et l'éther diéthylique est évaporé en chauffant légèrement pour obtenir un ferrofluide cationique.

II. Greffage du 3-méthacryloxypropyle triméthylsilane (MPS)

Le greffage du MPS a été effectué dans un réacteur à double enveloppe en verre de 250 mL, muni d'une agitation mécanique, dont la vitesse d'agitation est réglée à 200 trs min⁻¹. La double enveloppe est reliée à un bain thermostaté dont la consigne est fixée à 28 °C.

II.1. Protocole en milieu hydro-alcoolique

Dans un flacon, 10 g de ferrofluide cationique à environ 10 % en masse sont dilués dans 20 g d'eau. Puis le pH est mesuré. En fonction du pH, une quantité plus ou moins importante (entre 1,8 et 2,5 mL) d'acétate de potassium à 0,5 M est ajoutée au mélange jusqu'à atteindre un pH = 4,5. 30 g d'éthanol sont ensuite ajoutés, puis le tout est transféré dans le réacteur à double enveloppe. L'agitation mécanique est mise en route puis le silane est ajouté à hauteur de 40 $\mu\text{mol m}^{-2}$. Le greffage a été conduit à 28 °C pendant une nuit.

Le lendemain, le mélange est transvasé dans un bécher et 100 mL d'acétone/eau à 70/30 % en volume sont ajoutés pour faire précipiter les oxydes de fer modifiés et retirer l'excès de MPS. Le tout est laissé à décanter sur un aimant, puis le surnageant est retiré. Cette opération est renouvelée 5 fois.

Selon le procédé de polymérisation utilisé par la suite pour l'encapsulation des nanoparticules, les nanoparticules ont été redispersées dans de l'éthanol ou de l'eau. Pour cela « deux lavages » ont été effectués avec 60 mL d'éthanol (pour la polymérisation en dispersion) ou 60 mL d'eau (pour la polymérisation en émulsion). Dans le cas où ces étapes s'effectuent avec de l'eau, le mélange est passé 20 minutes au bain à ultrasons avant décantation sur l'aimant car les nanoparticules modifiées ne sont pas dispersables dans l'eau.

II.2. Protocole en milieu aqueux

10 g de ferrofluide cationique à environ 10 % en masse sont introduits dans un flacon, puis 47 g d'eau sont ensuite ajoutés. Le pH de cette solution est d'environ 2,5 et il est ajusté à 4,5 par l'ajout de 1,5 à 1,8 mL d'acétate de potassium à 0,5 M. Le tout est introduit dans un réacteur à double enveloppe relié à un bain thermostaté. L'agitation mécanique est mise en route puis 410 μL de MPS (équivalent à 10 $\mu\text{mol m}^{-2}$ d'oxydes de fer) sont ajoutés dans le réacteur. Le greffage est conduit à 28 °C pendant une nuit. Le mélange obtenu est immédiatement utilisé, sans étape de lavage ou de redispersion, pour la polymérisation en émulsion.

III. Encapsulation des nanoparticules d'oxyde de fer par polymérisation en dispersion

Les réactions de polymérisation en dispersion ont été effectuées dans un réacteur à double enveloppe en verre de 250 mL, muni d'un réfrigérant et d'une agitation mécanique, réglée à 200 trs min⁻¹. La double enveloppe est reliée à un bain thermostaté réglé à 72 °C.

III.1. Cas d'un amorceur organosoluble

Dans le cas de l'amorceur organosoluble (i.e. l'AIBN), celui-ci est dissous dans le monomère et dégazé dans un flacon en verre, sous agitation magnétique, pendant 30 minutes sous argon. Parallèlement, le stabilisant (PVP ou PEGMA) est solubilisé dans le milieu dispersant, puis les oxydes de fer (nus ou modifiés) dispersés dans l'éthanol sont ajoutés. Le tout est introduit dans le réacteur à double enveloppe et est dégazé à froid sous agitation mécanique pendant 30 minutes. Une fois les deux mélanges dégazés séparément, le styrène et l'amorceur sont introduits dans le réacteur. Le mélange est agité pendant 5 minutes, puis la circulation de la double enveloppe est mise en route pour démarrer la polymérisation.

III.2. Cas d'un amorceur hydrosoluble

Dans le cas de l'amorceur hydrosoluble (i.e. l'AIBA), celui-ci est dissous dans un peu d'eau et dégazé dans un flacon en verre, sous agitation magnétique, pendant 30 minutes sous argon. Dans un autre flacon, le monomère (styrène) est dégazé pendant 30 minutes sous agitation magnétique et sous argon. Parallèlement, le stabilisant est solubilisé dans le milieu dispersé, puis les oxydes de fer (nus ou modifiés) dispersés dans l'éthanol sont ajoutés. Le tout est introduit dans le réacteur à double enveloppe et est dégazé à froid sous agitation mécanique pendant 30 minutes. Une fois les trois mélanges dégazés séparément, le monomère est introduit dans le réacteur et le tout est homogénéisé pendant 5 minutes. L'amorceur est ensuite introduit dans le réacteur et le mélange est agité pendant 5 minutes. Enfin la circulation de la double enveloppe est mise en route pour démarrer la polymérisation.

IV. Encapsulation des nanoparticules d'oxyde de fer par polymérisation en émulsion

Appareillages utilisés

- Sonde à ultrasons, reliée à un générateur Vibra-Cell 75043 d'une puissance maximale de 750 Watt, commercialisés par *Bioblock Scientific*. La sonde à ultrasons est utilisée pendant une minute à 67 % de la puissance maximale, i.e. à 500 Watts et cette opération est renouvelée une fois, soit deux fois une minute en tout.
- Sonde Ultra Turrax®, reliée à un Mélangeur Rayneri Turbotest, commercialisés par *VMI the mixing company*. Le mélangeur est utilisé 10 minutes à 1000 trs min⁻¹, puis 10 minutes à 1500 trs min⁻¹.

- Bain à ultrasons symphony™ Ultrasonic Cleaners d'une fréquence de 45 kHz et d'une puissance de 180 Watts, commercialisé par VWR. Le bain à ultrasons est utilisé pendant 5 minutes dans la majorité des cas, sauf indication contraire où il est utilisé pendant 30 minutes.

Protocole

Le tensioactif est tout d'abord dissous dans une petite quantité d'eau (10 à 20 g), puis les oxydes de fer modifiés dispersés dans l'eau sont ajoutés à ce mélange, étape suivie de l'ajout du monomère (styrène ou MMA). Les oxydes de fer modifiés sont ensuite dispersés dans le milieu par l'utilisation de différents types d'homogénéisateurs : sonde à ultrasons, sonde Ultra Turrax® ou encore bain à ultrasons. Une fois les oxydes de fer bien dispersés dans le milieu, le mélange est introduit dans le réacteur en verre à double enveloppe de 250 mL. Celui-ci est muni d'un réfrigérant, d'une entrée d'argon et d'une agitation mécanique réglée à 300 trs min⁻¹. La double enveloppe est reliée à un bain thermostaté, dont la consigne est réglée à 72 °C. Le mélange est dégazé pendant 30 minutes sous bullage d'argon. Parallèlement, l'amorceur (AIBA) est dissous dans 2 mL d'eau et est également dégazé pendant 30 minutes sous bullage d'argon. Après le dégazage, la circulation de la double enveloppe est mise en route et une fois la température à 70 °C, l'amorceur est injecté dans le milieu et la polymérisation démarre.

- **Cas de l'utilisation d'un co-stabilisant hydrophobe ou d'un co-monomère chargé**

La polymérisation s'effectue exactement comme précédemment, à l'exception que le co-monomère ou l'agent hydrophobe est ajouté au monomère avant que celui-ci ne soit introduit dans le mélange eau, tensioactif et oxydes de fer modifiés.

V. Synthèse des agents RAFT macromoléculaires (macro-RAFT) à base de MAA et/ou de DMAEMA

Les macro-RAFTs ont été synthétisés dans un ballon bicol muni d'un réfrigérant et d'un bulleur. Tous les réactifs sont introduits dans le ballon, qui est dégazé sous bullage d'azote et sous agitation magnétique pendant 30 minutes. Le ballon est ensuite plongé dans le bain d'huile préalablement chauffé à la température de la réaction pour démarrer la synthèse. La synthèse se déroule sous un léger flux d'azote.

Dans le cas d'une synthèse dans l'eau, tous les réactifs solides sont introduits dans un premier temps (agent RAFT, trioxane, amorceur), puis le ou les monomères sont introduits pour solubiliser l'agent RAFT et l'eau est ajoutée en dernier. En fin de synthèse le polymère est séché par lyophilisation pendant une nuit.

Dans le cas d'une synthèse dans le dioxane, tous les réactifs solides sont introduits, puis le solvant et enfin le ou les monomères. En fin de synthèse le macro-RAFT est purifié par précipitation dans de l'éther de pétrole. Les polymères sont ensuite séchés sous une cloche sous vide à 30 °C.

Annexe C : Appareillages et techniques de caractérisation

I. Caractérisations de la partie inorganique

I.1. Spectroscopie Infrarouge

Les analyses infrarouges ont été effectuées à l'aide d'un spectromètre Nicolet iS50, commercialisé par *ThermoScientific*. L'analyse est effectuée en mode réflexion totale atténuée (ATR) sur une poudre sèche et broyée dans un mortier en agate. Le spectre IR est traité avec le logiciel OMNIC.

I.2. Analyse élémentaire

Les analyses élémentaires du carbone ont été effectuées à Dijon par la société Welience. L'analyseur utilisé est un analyseur CHNS/O Electron Flash EA 1112 Series de *Thermo Fisher Scientific*.

I.3. Mesures de pH

Le pH-mètre utilisé est un SevenEasy™ de *Mettler Toledo*. Les sondes de pH possèdent toutes une sonde de température intégrée. Différentes sondes sont utilisées en fonction du milieu à analyser :

- Sonde InLab® Science Pro avec jonction en rodage en verre amovible pour les mesures de pH dans des solutions contenant des nanoparticules d'oxyde de fer (électrolyte = KCl 3M)
- Sonde InLab® Routine Pro pour les mesures de pH dans des solutions classiques sans nanoparticules, telles que les milieux de synthèse des macro-RAFTs (électrolyte = KCl 3M)
- Sonde InLab® Pure Pro avec double jonction et deux électrolytes (KCl 3M et 1M) pour les solutions diluées telles que celles utilisées pour déterminer le potentiel zêta.

La calibration est réalisée en fonction de la gamme de pH utilisée avec des solutions tampons Mettler certifiées :

- De $1 < \text{pH} < 7$: calibration avec 2 points utilisant les tampons 7,00 et 4,01 (25 °C)
- De $7 < \text{pH} < 14$: calibration avec 2 points utilisant les tampons 7,00 et 10,00 (25 °C)
- De $1 < \text{pH} < 14$: calibration avec 3 points utilisant les tampons 7,00, 4,01 et 10,00 (25 °C)

I.4. Diffraction des rayons X

Les analyses par diffraction des rayons X ont été effectuées au Centre de diffractométrie Henry Longchambon (Lyon) sur un diffractomètre *Bruker D8 Advance*. Les poudres de nanoparticules d'oxydes de fer nus sont broyées avec un mortier en agate avant d'être analysées.

I.5. Spectroscopie RAMAN

Les analyses ont été effectuées par la société Welience (Dijon), avec comme source lumineuse un laser He-Ne émettant un faisceau de longueur d'onde $\lambda = 632,8$ nm, muni d'un détecteur CCD (Charge-coupled Device ou dispositif à transfert de charge). Le laser est utilisé à 5 % de sa puissance maximale

(soit 0,85 mW) pour éviter un échauffement trop important de l'échantillon qui conduirait à la transformation de maghémite (type d'oxyde de fer supposé) en hématite.

II. Caractérisations de surface

II.1. Potentiel zêta

Le potentiel zêta est mesuré à l'aide d'un Zetasizer NanoZS de *Malvern Instrument*.

Pour les mesures de potentiel zêta des nanoparticules d'oxydes de fer en fonction du pH, des solutions à force ionique constante et à différents pH ont été utilisées. Ces solutions sont préparées à partir d'une solution mère de KCl à 10^{-3} M, puis des solutions de KOH et HCl à 10^{-2} M ont été ajoutées pour modifier le pH de la solution mère.

II.2. Surface spécifique par la méthode BET

L'analyse a été effectuée au laboratoire à l'aide d'un analyseur d'aire superficielle ASAP 2020 V3.04 H de *Micrometrics*. Avant l'analyse, l'échantillon subit un traitement thermique à 200 °C pendant 2 heures sous vide afin d'être totalement séché. L'analyse s'effectue ensuite par adsorption/désorption d'azote.

III. Caractérisations des polymères

III.1. Détermination de la conversion en monomère(s) par RMN ^1H

Les analyses RMN du proton ont été réalisées sur un spectromètre Brüker AC300 à la fréquence de 300 MHz.

Pour pouvoir déterminer un taux d'hydrolyse ou un taux de conversion en RMN du proton, une référence interne est ajoutée dans le milieu. Il s'agit du trioxane, qui possède un déplacement chimique à $\delta = 5,1$ ppm. La valeur de cette intégrale est normalisée à 1 et permet d'obtenir des valeurs d'intégrales comparables au cours d'une étude cinétique.

III.1.1. Détermination de la conversion par RMN du proton – Cas général

En absence d'hydrolyse, les conversions sont obtenues par l'équation 1, où I^0 et I^t représentent respectivement la moyenne des intégrales des pics du monomère au temps t_0 et au temps t (équation 1).

$$\text{conversion (\%)} = \frac{I^0 - I^t}{I^0} \times 100 \quad (\text{éq. 1})$$

Dans le chloroforme deutéré (CDCl_3), les déplacements chimiques des protons vinyliques du MAA sont à $\delta = 5,50$ ppm et $\delta = 6,05$ ppm, tandis que ceux du DMAEMA sont à $\delta = 5,55$ ppm et $\delta = 6,10$ ppm (Figure 1).

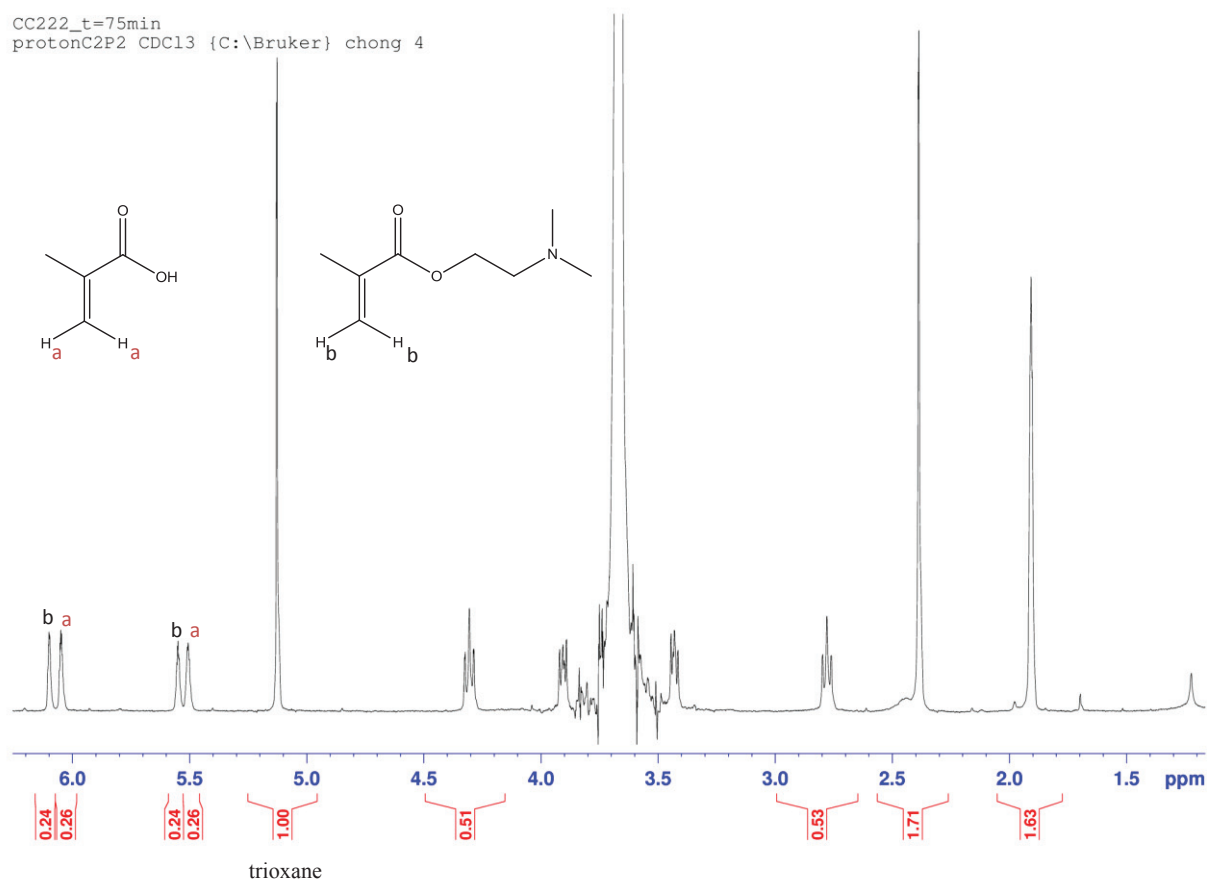


Figure 1 : Spectre RMN ^1H de la synthèse d'un macro-RAFT $P(\text{DMAEMA-co-MAA})$ (CC222) de composition molaire 50/50 dans le dioxane. Spectre RMN effectué à $t = 75$ min dans du CDCl_3 .

Les équations utilisées pour calculer la conversion en MAA et en DMAEMA sont donc les suivantes (équations 2 et 3, respectivement) :

$$\text{Conversion en MAA } (t)(\%) = \frac{\frac{I_{5,50}^0 + I_{6,05}^0}{2} - \frac{I_{5,50}^t + I_{6,05}^t}{2}}{\frac{I_{5,50}^0 + I_{6,05}^0}{2}} \cdot 100 \quad (\text{éq. 2})$$

$$\text{Conversion en DMAEMA } (t)(\%) = \frac{\frac{I_{5,55}^0 + I_{6,10}^0}{2} - \frac{I_{5,55}^t + I_{6,10}^t}{2}}{\frac{I_{5,55}^0 + I_{6,10}^0}{2}} \cdot 100 \quad (\text{éq. 3})$$

III.1.2. Cas de la synthèse du $P(\text{DMAEMA-co-MAA})$ dans l'eau

Le DMAEMA s'hydrolyse dans l'eau pour former l'acide méthacrylique et la N,N -diméthyléthanolamine (Figure 2). Il est possible de déterminer le taux d'hydrolyse. Par ailleurs, le calcul de la conversion en MAA et en DMAEMA doit tenir compte de cette hydrolyse.

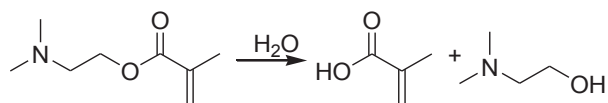


Figure 2 : Réaction d'hydrolyse du DMAEMA en MAA

- Détermination du taux d'hydrolyse du DMAEMA dans l'eau par RMN du proton

Les déplacements chimiques caractéristiques en RMN ^1H des protons des deux méthylènes ($-\text{CH}_2$) de l'éthanolamine se situent à $\delta = 3,15$ ppm et $\delta = 3,75$ ppm (Figure 3, pics b et a, respectivement).

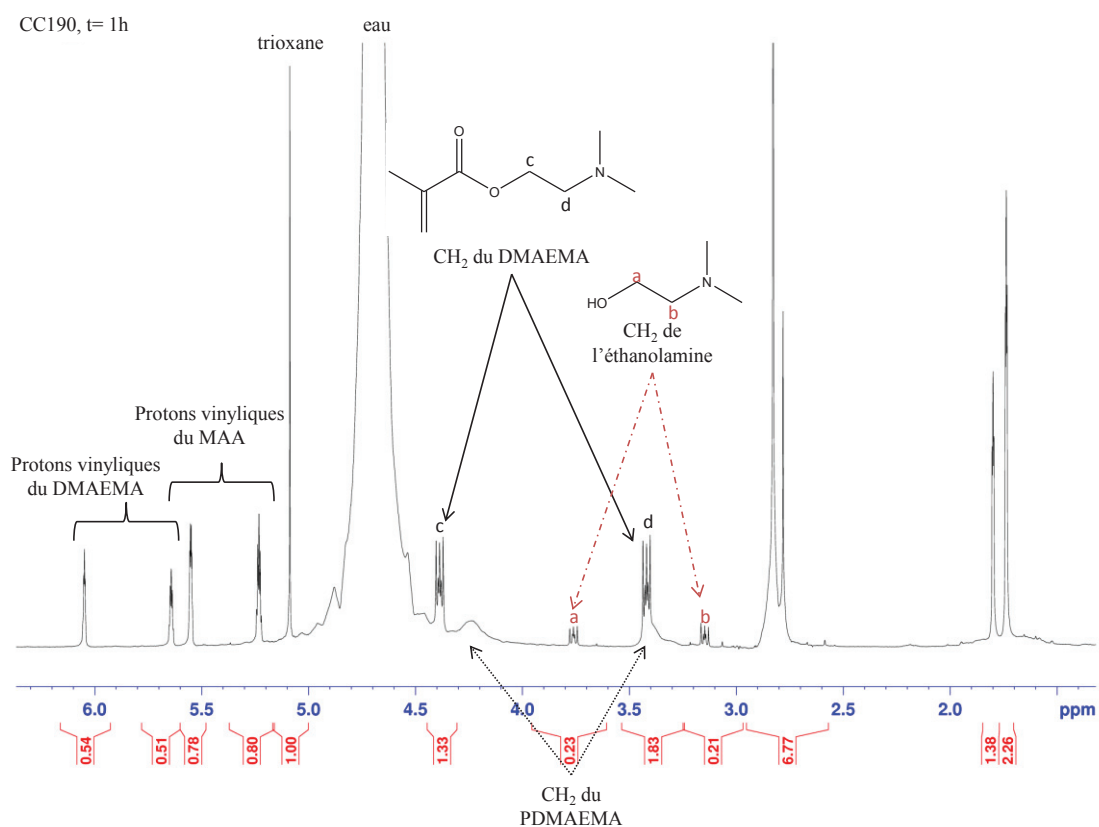


Figure 3 : Spectre RMN ^1H à $t = 60$ min de la synthèse du macro-RAFT $P(\text{DMAEMA-co-MAA})$ (CC190) de composition molaire 50/50 dans l'eau. Spectre RMN effectué dans du D_2O .

Les déplacements chimiques des protons $-\text{CH}_2$ du DMAEMA et du PDMAEMA sont également connus. Ils se situent à $\delta = 3,4$ et $4,4$ ppm pour le DMAEMA (Figure 3, pics d et c, respectivement) et à $\delta = 3,4$ et $4,3$ ppm pour le PDMAEMA. Le pic à $3,4$ composé d'un triplet et d'un large pic correspond à la fois au $-\text{CH}_2$ du monomère et du polymère. Ceci permet de déterminer la quantité de DMAEMA qui a été hydrolysée ($I_{3,15}$) et la quantité totale de DMAEMA initialement présente ($I_{3,15} + I_{3,40}$), et d'en déduire le taux d'hydrolyse T_h selon l'équation 4.¹

$$T_h(\%) = \frac{I_{3,15}}{I_{3,15} + I_{3,40}} \times 100 \quad (\text{éq. 4})$$

• **Détermination de la conversion par RMN du proton en cas d'hydrolyse du DMAEMA**

Dans le cas de la synthèse des P(DMAEMA-co-MAA) dans l'eau, le taux d'hydrolyse du DMAEMA est pris en compte pour le calcul de la conversion du DMAEMA et du MAA, puisque ce dernier est non seulement présent initialement mais est également généré par l'hydrolyse.

Les protons vinyliques du DMAEMA ont des déplacements chimiques à $\delta = 5,65$ ppm et à $\delta = 6,05$ ppm dans D_2O . Pour simplifier le calcul, imaginons que nous ne calculons la conversion qu'avec l'intégrale à $\delta = 5,65$ ppm. La conversion en DMAEMA serait alors déterminée par l'équation 5, où $[I_{6,05}^0 - \frac{I_{3,15}^t}{2}]$ correspond à l'intégrale du DMAEMA n'étant pas hydrolysé et pouvant polymériser. Celui-ci constitue l'équivalent du I^0 de l'équation 1. La conversion en DMAEMA n'est pas calculée que par l'intégrale $\delta = 5,65$ ppm, mais par la moyenne des deux intégrales $\delta = 5,65$ ppm et $\delta = 6,05$ ppm.

$$\text{Conversion en DMAEMA (t) (\%)} = \frac{[I_{6,05}^0 - \frac{I_{3,15}^t}{2}] - I_{6,05}^t}{[I_{6,05}^0 - \frac{I_{3,15}^t}{2}]} \times 100 \quad (\text{éq. 5})$$

Pour le calcul de la conversion en MAA, les déplacements chimiques du monomère sont $\delta = 5,2$ ppm et $\delta = 5,55$ ppm dans D_2O . Comme précédemment, pour simplifier le calcul, l'équation 6 permet de déterminer la conversion uniquement à partir du pic de monomère $\delta = 5,2$ ppm. Dans ce cas le terme $[I_{5,2}^0 + \frac{I_{3,15}^t}{2}]$ correspond à la quantité de MAA pouvant polymériser, qui correspond à la quantité initiale de MAA plus la quantité de MAA formée au cours de l'hydrolyse du DMAEMA.

$$\text{Conversion en MMA (t) (\%)} = \frac{[I_{5,2}^0 + \frac{I_{3,15}^t}{2}] - I_{5,2}^t}{[I_{5,2}^0 + \frac{I_{3,15}^t}{2}]} \times 100 \quad (\text{éq. 6})$$

III.2. Détermination du degré de polymérisation et de la composition des polymères

Dans le cas des polymérisations RAFT, le degré de polymérisation théorique $DP_{n,th}$ est déterminé par le rapport [monomère] / [agent RAFT]. Le degré de polymérisation est donc déterminé par l'équation 7, où n correspond au nombre de moles.

$$DP_n = \frac{n_{\text{monomère}} \times \text{conversion}}{n_{\text{agent RAFT}}} \quad (\text{éq. 7})$$

Dans le cas d'un copolymère, le DP_n est déterminé pour chacun des monomères.

III.3. Détermination de la masse molaire

Les masses molaires moyennes en nombre (M_n) et en poids (M_w) ainsi que la dispersité ($D = M_w/M_n$) ont été déterminées par analyse par chromatographie d'exclusion stérique (SEC) soit en solvant THF pour le polymère PMAA, soit en solvant DMF pour les polymères PDMAEMA et les copolymères P(DMAEMA-co-MAA).

III.3.1. En solvant DMF :

L'appareil utilisé est l'EcoSEC HLC-8320 GPC commercialisé par Tosoh. Les analyses ont été effectuées à 70 °C à un débit de 1,0 mL min⁻¹ dans une solution de DMF contenant du sel LiBr à une concentration de 0,01 mol L⁻¹ et éventuellement de l'acide trifluoroacétique à 0,1% en volume.

La séparation est effectuée par trois colonnes (GRAM, 10 µm, 8x300 mm) de chez Polymer Standards Service. Le système comprend un détecteur d'indice de réfraction différentiel ΔRI de type Bryce.

Les polymères ont été analysés à une concentration de 5 mg mL⁻¹ après filtration sur des membranes de 0,45 µm de taille de pores. Les masses molaires sont obtenues à partir d'une calibration conventionnelle élaborée avec des étalons étroits certifiés de poly(méthacrylate de méthyle) (PMMA), commercialisés par Polymer Standards Service.

L'acquisition des données et le traitement des résultats ont été réalisés avec le logiciel WinGPC.

III.3.2. En solvant THF :

L'appareil utilisé est un système Viscotek TDA305 contenant 3 colonnes T6000M General Mixed Org (300 × 8 mm) de Malvern Instruments. Les mesures ont été réalisées à 40 °C à un débit de 1 mL min⁻¹.

La détection s'effectue à l'aide d'un réfractomètre ($\lambda = 670$ nm) et d'un détecteur UV.

Les polymères ont été analysés à une concentration de 3 mg mL⁻¹ après filtration sur des membranes de 0,45 µm de taille de pores. Avant analyse, les fonctions acide carboxylique du PMAA ont été méthylées pour éviter les interactions entre ces fonctions et les colonnes.

La méthylation s'effectue avec du triméthylsilyle diazométhane (TMS). L'échantillon à analyser est dissous dans un mélange THF/eau, car l'eau aide à la solubilisation du polymère via ses fonctions carboxylate. La solution jaune de TMS est ajoutée goutte-à-goutte dans le milieu réactionnel et un dégagement gazeux (N₂) se produit instantanément. La coloration jaune du milieu s'estompe alors peu à peu et il est alors nécessaire de rajouter du TMS jusqu'à ce que la coloration jaune persiste, marquant un excès de TMS. Le mélange est ensuite agité pendant quatre heures supplémentaires. Le polymère est ensuite mis à sécher sous une hotte. Une fois sec, il est à nouveau dissous dans le THF et directement analysé par CES en solvant THF.

Les masses molaires ont été obtenues à partir d'une calibration conventionnelle élaborée avec des étalons étroits certifiés de PMMA, commercialisés par Polymer Standards Service.

IV. Caractérisations des latex

IV.1. Détermination de la conversion par gravimétrie

La conversion au temps t est déterminée par le rapport du taux de polymère expérimental $\tau_{\text{polymère exp}}(t)$ sur le taux de polymère théorique $\tau_{\text{polymère th}}(t)$ (équation 8). Ce dernier est calculé et est égal à la masse de monomère initiale sur la masse totale. Tandis que le taux de polymère expérimental est obtenu par la différence des extraits secs expérimentaux ($ES(t) - ES(t_0)$).

$$\text{Conversion } (t, \text{ en } \%) = \frac{\tau_{\text{polymère exp}}(t)}{\tau_{\text{polymère th}}(t)} \times 100 = \frac{ES(t) - ES(t_0)}{\tau_{\text{polymère th}}} \times 100 \quad (\text{éq. 8})$$

Les extraits secs expérimentaux ont été déterminés par des pesées. Une quantité de latex (entre 0,7 et 2 g) est pesée dans une coupelle (m_{latex}), puis ce latex est séché à température ambiante sous une hotte pendant 2 heures environ, puis dans une étuve à 90 °C pendant 3 heures. La masse de solide restant est ensuite pesée (m_{solide}) et le rapport des deux masses donne l'extrait sec (équation 9).

$$ES(\%) = \frac{m_{\text{solide}}}{m_{\text{latex}}} \times 100 \quad (\text{éq. 9})$$

IV.2. Diffusion dynamique de la lumière (DDL)

Les analyses DDL ont été effectuées sur un appareil Nano ZS, commercialisé par *Malvern Instrument* et les résultats ont été traités à l'aide du logiciel Zetasizer. Les valeurs de diamètre hydrodynamique (D_h) et de PDI ont été déterminées par la moyenne de trois séries d'analyses comprenant 10 séquences d'analyses de 10 secondes chacune.

IV.3. Microscopie électronique à transmission (MET)

Les analyses MET ont été effectuées au Centre Technologique des Microstructures (CT μ , plateforme de l'Université Claude Bernard Lyon 1, Villeurbanne, France) sur un microscope Philips CM120 muni d'une caméra GATAN Orius 200 et Ultrascan 1000. La puissance du faisceau est de 80 kV pour l'observation des particules de latex et de 120 kV pour l'observation des nanoparticules d'oxyde de fer nu.

Les clichés MET ont été analysés au moyen du logiciel AnalySIS. Les diamètres moyens en nombre (D_n , défini par l'équation 10) et en poids (D_w , défini par l'équation 11) ainsi que la distribution de tailles de particules ($D_d = D_w/D_n$) ont été déterminés par AnalySIS et les statistiques ont été effectuées sur au moins 200 particules lorsque l'échantillon le permet. La distribution de taille est calculée par l'équation 12, où n_i est le nombre de particules de diamètre d_i .

$$D_n = \frac{\sum n_i d_i}{\sum n_i} \quad (\text{éq. 10})$$

$$D_w = \frac{\sum n_i d_i^4}{\sum n_i d_i^3} \quad (\text{éq. 11})$$

$$D_d = \frac{D_w}{D_n} = \frac{\sum n_i \sum n_i d_i^4}{\sum n_i d_i \sum n_i d_i^3} \quad (\text{éq. 12})$$

Pour certains échantillons, les particules ont été séchées puis incluses dans une résine époxy. Les coupes ultraminesces ont été effectuées au CT μ par Christelle Boulé, assistante ingénieur, à l'aide d'un ultramicrotome Leica UC7 ou ultramicrotome Reichert Ultracut E. Les coupes ont été ensuite observées par MET.

V. Caractérisations magnétiques

V.1. Protocoles de séparations magnétiques

Pour isoler les particules magnétiques, des lavages magnétiques ont été effectués sur les latex après synthèse. Typiquement, le latex est introduit sur un rack magnétique pendant 30 secondes, puis le surnageant est retiré et les particules sont redispersées dans le milieu dispersant (mélange d'éthanol et eau pour les latex obtenus par polymérisation en dispersion ou eau pour les latex obtenus par polymérisation en (mini)émulsion, Figure 4). Ces étapes ont été renouvelées trois fois. Les particules magnétiques ainsi isolées constituent la fraction magnétique du latex.

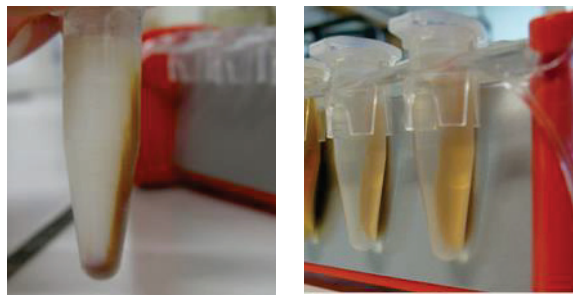


Figure 4 : Photos des séparations magnétiques effectuées sur un rack magnétique. Au premier lavage (à gauche) la séparation entre les fractions magnétiques et non magnétiques du latex s'observe clairement. Après les lavages (à droite), le surnageant est limpide et ne contient plus de latex non magnétique.

Le taux de particules magnétiques (%PM) est alors défini comme étant la masse des particules magnétiques sèches (m_{magn}) sur la masse totale des particules sèches (m_{totale}) (équation 13).

$$\%PM (\%) = \frac{m_{\text{magn}}}{m_{\text{totale}}} \times 100 \quad (\text{éq. 13})$$

V.2. Analyse thermogravimétrique

Les analyses ont été effectuées sur un analyseur thermogravimétrique commercialisé par *Mettler Toledo*. L'échantillon (entre 5 à 20 mg) a été introduit dans des creusets en alumine de 70 μL . L'analyse a été effectuée sous un débit d'air de 10 mL min^{-1} , avec une rampe de température de 10 $^{\circ}\text{C}$ par minute entre 40 et 800 $^{\circ}\text{C}$, et un palier de 10 minutes à 800 $^{\circ}\text{C}$ est effectué pour s'assurer que toute la partie organique est bien dégradée.

V.3. Magnétométrie

Les mesures de magnétométrie ont été réalisées au Centre de Magnétométrie de Lyon par Checa Ruben au moyen d'un magnétomètre SQUID MPMS-XL5 Quantum Design à 300 K (soit 27 $^{\circ}\text{C}$).

VI. Protocole de concentration et d'analyse des microorganismes

VI.1. Capture des microorganismes par les particules magnétiques

Un mélange de 1 μL d'acide acétique pur et de 5 μL de particules magnétiques à 0,1 mg mL^{-1} sont ajoutés à un mélange de 10 μL d'un mélange de microorganismes à 1000 CFU μL^{-1} , puis de l'eau est ajouté pour obtenir un volume finale de 1000 μL . Ce mélange est agité pendant 3 minutes à température ambiante puis après séparation magnétique au contact d'un aimant, le surnageant est retiré.

VI.2. Relargage des microorganismes

20 μL de soude à 10 mM sont ajoutés au culot précédent, ainsi que 2 μL de BSA (sérum bovin) et 76 μL d'eau. Une séparation magnétique permet de récupérer les microorganismes dans le surnageant.

VI.3. Analyse PCR

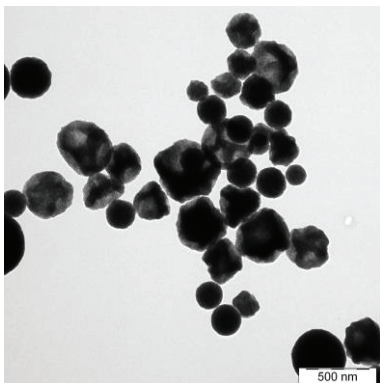
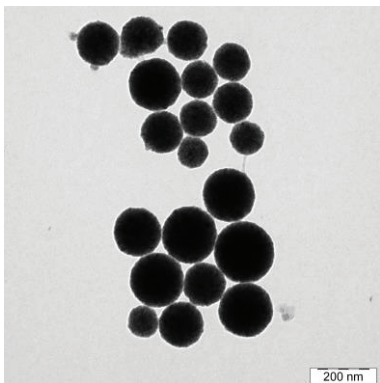
Avant l'analyse des microorganismes contenus dans le surnageant par PCR, ceux-ci sont lysés mécaniquement à l'aide de particules de verre de 100 μm et d'un appareil Precellys. Le surnageant obtenu après la lyse mécanique contient l'ADN des microorganismes et un mélange appelé « mix » est ajouté pour permettre l'analyse PCR. Ce mix contient : les amorces et sondes, les Taq polymerase (Gold Ampli Taq), des nucléotides (dNTP), un tampon réactionnel pour les Tag (10x), du dichlorure de magnésium, de la bêtaïne et de l'eau.

Annexe D : Résultat complémentaire

I. Polymérisation en miniémulsion du styrène

La polymérisation en miniémulsion du MMA en présence d'ODA permet d'obtenir des latex stables avec 15 g L^{-1} d'oxyde de fer (CC187) alors que sans ODA, le latex obtenu n'était pas stable (CC176). Un essai de polymérisation en miniémulsion du styrène en présence d'ODA a donc été effectué. Les conditions et les résultats ont été comparés à ceux obtenus pour la polymérisation en miniémulsion du MMA dans les mêmes conditions dans le Tableau 1.

Tableau 1 : Résultats des polymérisations en miniémulsion du MMA ou du styrène en présence d'oxydes de fer modifiés par le procédé aqueux.*

	CC204 (styrène)	CC187 (MMA)
D_h à $t = 0$ (nm)	160	158
PDI	0,17	0,25
Durée de polymérisation	19 h	3 h 30
Conversion (%)	57	86
Clichés MET de la partie magnétique ^a		
D_n^a (nm)	300	200
Gamme de taille ^a (nm)	125 – 790	80 – 560
D_w/D_n^a	1,38	1,72
% PM	2,3	10,7
%OF dans la PM	74	71
%OF (et %OF _{th})	29 (47)	33 (37)

* Les polymérisations ont été conduites à 70 °C sous agitation mécanique à 300 trs min^{-1} sur 100 g d'eau avec $[\text{Monomère}] = 30 \text{ g L}^{-1}$, $[\text{AIBA}] = 0,3 \text{ g L}^{-1}$, $[\text{CTAB}] = 1 \text{ g L}^{-1}$ et $[\text{ODA}] = 1,2 \text{ g L}^{-1}$, soit 4 % en masse d'ODA par rapport au MMA. Le mélange eau/CTAB/monomère/oxydes de fer modifiés a été homogénéisé avant polymérisation à l'aide d'une sonde à ultrasons, utilisée à une puissance de 500 W pendant 2 fois 1 minute.

^a Les statistiques des tailles ont été effectuées sur la partie magnétique des latex, obtenue après 3 lavages magnétiques avec un temps de séparation de 30 secondes.

A l'état initial des gouttelettes de taille équivalente ont été obtenues pour le MMA et le styrène. Cependant après polymérisation, les conversions atteintes et les particules obtenues ont été très différentes. Dans le cas de la polymérisation du styrène, la conversion plafonne à 57 % (contre 86 dans le cas du MMA). En observant les taux d'oxyde de fer dans le latex par rapport au taux d'oxydes de fer théorique, on constate qu'il y a une différence importante entre ces deux valeurs (29 % et 47 %) traduisant une instabilité du latex et la perte d'oxyde de fer sur les parois du réacteur.

Le fait le plus surprenant est la morphologie des particules obtenues qui ressemblent à celles obtenues dans l'étude d'O'Mahony et al.¹, bien que leur système soit très différent puisqu'il ne s'agit pas de polymérisation dans leur cas, mais de la formation d'agrégats d'oxydes de fer hydrophobe, stabilisés par du dextrane.

Dans notre cas, il semblerait que le styrène ait été expulsé des particules en croissance au cours de la polymérisation, conférant aux particules leurs contours irréguliers, ressemblant à des particules dégonflées. Une étude plus complète, comme celle effectuée pour le MMA, permettrait peut-être de déterminer les conditions et le mécanisme de formation de telles particules.

Références

1. O' Mahony, J. J.; Platt, M.; Kilinc, D.; Lee, G. U. *Langmuir* **2013**, *29*, 2546-2553.

Résumé

Ce travail de thèse porte sur l'élaboration de particules de polymère magnétiques capables de capter et relarguer différents microorganismes par des interactions électrostatiques non spécifiques. Des nanoparticules d'oxyde de fer cationiques stabilisées par des contre-ions nitrate ont été synthétisées par co-précipitation de sels de fer. La surface de la maghémite obtenue a été modifiée par voie sol-gel avec un organosilane présentant une fonction méthacrylate pour permettre son incorporation covalente dans des particules de latex par des réactions de copolymérisation. Ces particules ont été obtenues par polymérisation radicalaire en dispersion, en émulsion ou en miniémulsion du méthacrylate de méthyle ou du styrène, conduite en présence de maghémite. Les interactions entre celle-ci et le stabilisant rendent difficile la formation de latex magnétiques par polymérisation en dispersion. En revanche, la polymérisation en (mini-)émulsion permet, selon la technique de dispersion des oxydes de fer utilisée avant polymérisation, l'obtention de particules de latex de 140 à 650 nm, dont la fraction magnétique varie entre 2 et 37 % et contient jusqu'à 91 % de maghémite. La distribution de taille est toutefois large. Les particules magnétiques ainsi obtenues ont été ensuite fonctionnalisées directement au cours de la polymérisation en émulsion par l'introduction de co-monomères chargés, de polyélectrolytes ou de polyamphotères réamorçables. Ces deux derniers types de polymère sont obtenus par polymérisation RAFT. Leur capacité de capture/relargage a été évaluée sur des systèmes modèles à base de silice. Les polyamphotères donnent de bons résultats sur de nombreux microorganismes.

Mots clés :

Nanoparticules, Oxyde de fer, Magnétisme, Modification de surface, Sol-Gel, Silane, Encapsulation, Polymérisation en Dispersion, Emulsion, Miniémulsion, RAFT, Microorganismes

Abstract

This thesis describes the synthesis of magnetic latexes which are able to capture and release various microorganisms via non-specific and electrostatic interactions. Cationic iron oxide nanoparticles stabilized by nitrate counterions were synthesized by the co-precipitation of iron salts in water. The surface of the as-obtained maghemite was then modified by a sol-gel process using a methacrylate-functionalized organosilane, in order to incorporate the iron oxide nanoparticles into latex particles by copolymerization reactions. Magnetic particles were obtained by dispersion, emulsion or miniemulsion polymerization of styrene or methyl methacrylate, performed in the presence of iron oxide. Due to the interaction between the stabilizers and iron oxides, dispersion polymerization was not a suitable approach. On the other hand, (mini-)emulsion polymerization led to a large range of particle diameters (140 – 650 nm), according to the process used to disperse iron oxides prior to the polymerization. These latexes contained between 2 and 37 % of magnetic particles, incorporating up to 91% of iron oxide. But the size distribution remained quite broad in all cases. The functionalization of the as-prepared magnetic particles was then undertaken by the introduction of either a charged co-monomer or polyelectrolytes or polyampholytes reactivable during the polymerization process. These kinds of polymers were synthesized by RAFT polymerization. Their ability to capture and release microorganisms was tested on silica-based model systems. Polyampholytes displayed good results on several microorganisms.

Keywords:

Nanoparticles, Iron oxide, Magnetism, Surface modification, Sol-Gel, Silane, Encapsulation, Dispersion polymerization, Emulsion, Miniemulsion, RAFT, Microorganisms