HAL
open science

Synthèse de nanoparticules par polymérisation radicalaire en émulsion pour le développement d'une nouvelle phase stationnaire dans des microsystèmes en copolymère d'oléfine cyclique

Josiane Saadé

To cite this version:

Josiane Saadé. Synthèse de nanoparticules par polymérisation radicalaire en émulsion pour le développement d'une nouvelle phase stationnaire dans des microsystèmes en copolymère d'oléfine cyclique. Chimie analytique. Université Claude Bernard - Lyon I, 2015. Français. NNT : 2015LYO10260 . tel-01282736

HAL Id: tel-01282736

https://theses.hal.science/tel-01282736v1

Submitted on 4 Mar 2016

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 260 Année 2015

THESE DE L'UNIVERSITE DE LYON

Délivrée par

L'UNIVERSITE CLAUDE BERNARD LYON 1

ECOLE DOCTORALE DE CHIMIE

DIPLOME DE DOCTORAT

(arrêté du 7 août 2006)

soutenue publiquement le 25 novembre 2015

par

Josiane SAADE

TITRE :

Synthèse de nanoparticules par polymérisation radicalaire en émulsion pour le développement d'une nouvelle phase stationnaire dans des microsystèmes en copolymère d'oléfine cyclique

JURY :

Mme Thuy TRAN-MAIGNAN	Rapporteur
M. Benjamin CARBONNIER	Rapporteur
M. Jean-Marie AUBRY	Examinateur
M. Pierre LANTERI	Examinateur
Mme Karine FAURE	Directrice de thèse
Mme Claire BORDES	Co-Directrice de thèse
M. Hamid ELAÏSSARI	Membre invité

UNIVERSITE CLAUDE BERNARD - LYON 1

Président de l'Université	**M. François-Noël GILLY**
Vice-président du Conseil d'Administration	M. le Professeur Hamda BEN HADID
Vice-président du Conseil des Etudes et de la Vie Universitaire	M. le Professeur Philippe LALLE
Vice-président du Conseil Scientifique	M. le Professeur Germain GILLET
Secrétaire Général	M. Alain HELLEU

COMPOSANTES SANTE

Faculté de Médecine Lyon Est – Claude Bernard	Directeur : M. le Professeur J. ETIENNE
Faculté de Médecine et de Maïeutique Lyon Sud – Charles Mérieux	Administrateur provisoire : M. le Professeur G. KIRKORIAN
UFR d'Odontologie	Directeur : M. le Professeur D. BOURGEOIS
Institut des Sciences Pharmaceutiques et Biologiques	Directeur : Mme la Professeure C. VINCIGUERRA.
Institut des Sciences et Techniques de la Réadaptation	Directeur : M. le Professeur Y. MATILLON
Département de formation et Centre de Recherche en Biologie Humaine	Directeur : M. le Professeur P. FARGE

COMPOSANTES ET DEPARTEMENTS DE SCIENCES ET TECHNOLOGIE

Faculté des Sciences et Technologies	Directeur : M. le Professeur F. De MARCHI
Département Biologie	Directeur : M. le Professeur F. FLEURY
Département Chimie Biochimie	Directeur : Mme le Professeur H. PARROT
Département GEP	Directeur : M. N. SIAUVE
Département Informatique	Directeur : M. le Professeur S. AKKOUCHE
Département Mathématiques	Directeur : M. le Professeur A. GOLDMAN
Département Mécanique	Directeur : M. le Professeur H. BEN HADID
Département Physique	Directeur : Mme S. FLECK
Département Sciences de la Terre	Directeur : Mme la Professeure I. DANIEL
UFR Sciences et Techniques des Activités Physiques et Sportives	Directeur : M. C. COLLIGNON
Observatoire de Lyon	Directeur : M. B. GUIDERDONI
Polytech Lyon	Directeur : M. P. FOURNIER
Ecole Supérieure de Chimie Physique Electronique	Directeur : M. G. PIGNAULT
Institut Universitaire de Technologie de Lyon 1	Directeur : M. C. VITON
Institut Universitaire de Formation des Maîtres	Directeur : M. R. BERNARD
Institut de Science Financière et d'Assurances	Directeur : Mme la Professeure V. MAUME-DESCHAMPS

Remerciements

A l'achèvement de ce long travail de recherche, j'ai un devoir de reconnaissance que je voudrais adresser.

J'exprime, en premier lieu, mes remerciements les plus profonds et les plus sincères à ma directrice de thèse madame Karine FAURE pour m'avoir fait l'honneur de diriger ce projet de recherche, pour son soutien, ses compétences et ses judicieux conseils qui m'ont été d'une aide inestimable. Je remercie également madame Claire BORDES qui a co-dirigé cette thèse pour sa disponibilité malgré ses charges académiques et professionnelles. Vos remarques et votre clairvoyance m'ont bien guidé les pas. Que ce modeste travail vous honore et vous témoigne ma reconnaissance.

Je tiens à remercier M. Gérard CRETIER pour sa présence, ses conseils et son aide apportés au projet NanoChrom. Mes remerciements vont aussi à l'ensemble du personnel et des co-équipiers du laboratoire des sciences analytiques et à toute personne qui a contribué de près ou de loin à l'élaboration de ce travail : Mme Sabine HEINISH, M. Alain BERTHOD, M. François BESSUEILLE, M. Pedro MAROTE, M. Guy RAFFIN et Mme Marie HANGOUËT.

Mes remerciements vont à tous les membres du jury : Mme Thuy TRAN-MAIGNAN, M. Benjamin CARBONNIER, M. Pierre LANTERI, M. Jean-Marie AUBRY et M. Hamid ELASSAÏRI qui me font le grand honneur d'évaluer ce travail.

Je tiens à remercier mes collègues que j'ai eu à mes côtés : Elodie BOUJU, Audrey MARICHAL, Morgan SARRUT, Fériel BOUICHE, Marion IGUINIZ, Céline CHERTIER, Nina DECLAS, Suong HUYNH, Jérémy COULM et Racha EL-DEBS ABOU DIWAN.

Un grand merci à la paroisse Notre Dame du Liban à Lyon : les membres, les jeunes, les prêtres et les frères Antonins pour leur fraternité et les nombreux moments agréables partagés ensemble. Merci également à mes chers ami(e)s pour leur soutien quotidien et pour avoir supporté mes périodes de doutes et de stress.

Mes remerciements les plus chaleureux vont à mes parents qui m'ont élevée et qui m'ont inculqué le sens de la responsabilité, à qui mon amour est le plus distingué. Votre bonne éducation, vos conseils et vos bénédictions n'ont jamais fait défaut. A mon frère et mes sœurs, Assaad, Pascale, et Chantale qui m'avez soutenue et encouragée durant ces années. Vous étiez toujours présents quand j'avais besoin de vous, je n'aurais pu achever ce travail sans votre générosité et votre affection, que le Tout Puissant soit à vos côtés et vous protège.

Et le remerciement distinctif revient à Dieu pour m'avoir accordé vie, santé et paix de l'esprit.

TITRE en français : **Synthèse de nanoparticules par polymérisation radicalaire en émulsion pour le développement d'une nouvelle phase stationnaire dans des microsystèmes en copolymère d'oléfine cyclique**

RESUME en français :
L'objectif de cette thèse est de synthétiser des nanoparticules dans des microsystèmes en copolymère d'oléfine cyclique (COC), en vue du développement d'une nouvelle phase stationnaire de chromatographie présentant des performances améliorées. Dans un premier temps, la base théorique du projet est présentée. Les performances chromatographiques d'une colonne en fonction de la taille des particules qui la constituent sont présentées, en termes de résolution et d'efficacité, ainsi qu'en temps d'analyse. L'utilisation de nanoparticules s'avère optimale, mais l'état de l'art sur les différents types de colonnes et de modes de séparations en microsystèmes montre la difficulté technique de cet objectif. Les différentes voies de synthèse de nanoparticules par polymérisation radicalaire en micro et miniémulsion sont ensuite détaillées. Les essais préliminaires ont permis de définir la méthodologie d'approche : 1) la synthèse de nanoparticules par polymérisation radicalaire en miniémulsion et 2) la fonctionnalisation indispensable des supports COC. Dans un premier temps, la composition de la miniémulsion a été optimisée par plan d'expériences. La meilleure formulation permet la synthèse, après photopolymérisation, de nanoparticules monodisperses de diamètre moyen inférieur à 200 nm. Une étude d'ancrage des nanoparticules sur plaques COC est ensuite réalisée. L'optimisation du greffage d'un monomère polyéthylène glycol diacrylate (PEGDA) est réalisée par plan d'expériences. La synthèse photochimique des nanoparticules sur des surfaces COC fonctionnalisées PEGDA permet l'obtention de nanoparticules sphériques et monodisperses de taille inférieure à 200 nm répondant parfaitement au cahier des charges. Ce travail constitue une première étape dans la réalisation de phases stationnaires innovantes en chromatographie.

TITRE en anglais : **Synthesis of nanoparticles by emulsion radical polymerization for the development of a new stationary phase in cyclic olefin copolymer microchips**

RESUME en anglais :
The aim of this thesis is the synthesis of nanoparticles in cyclic olefin copolymer (COC) microchips in order to develop a new stationary phase. The bibliography review reveals the interest of this project in increasing column performance (efficiency and resolution) and reducing the analysis time. A general review on stationary phases and separation mode in microchips is presented. The synthesis of nanoparticles by radical polymerization of micro and miniemulsion is then detailed. The preliminary results helped defining the methodological approach: 1) Synthesis of nanoparticles via miniemulsion radical polymerization and 2) functionalization of COC surfaces. First, miniemulsion composition is optimized by an experimental design. The optimal miniemulsion led, after photopolymerization, to monodisperse nanoparticles with a diameter size inferior to 200 nm. The anchorage on COC surface is then investigated and shows that COC functionalization with a hydrophilic monomer is essential. Photografting of polyethylene glycol methacrylate (PEGDA) optimization is carried out by an experimental design. The UV synthesis of nanoparticles on COC surfaces functionalized by PEGDA is demonstrated. Monodisperse and spherical nanoparticles with a diameter size inferior to 200 nm are obtained. This work is considered as a first step in the development of a new stationary phase for chromatography.

DISCIPLINE : Chimie analytique

MOTS-CLES : Nanoparticules, photopolymérisation, miniémulsion, fonctionnalisation, copolymère d'oléfine cyclique.

INTITULE ET ADRESSE DE L'U.F.R. OU DU LABORATOIRE : Université de Lyon 1, Institut des Sciences Analytiques (ISA), 5 rue de la Doua, 69100 Villeurbanne, France

Glossaire

AA	Acide acrilique
ACN	Acétonitrile
AIBN	2.2-Azobisisobutyronitrile
AMP	Azobis-2-méthyl dichlorure propamidinium
AMPS	Acide 2 - acrylamido - 2 - méthylpropane sulfonique
APS	Persulfate d'ammonium
ATG	Analyse thermogravimétrique
BA	Butyl acrylate
BAPO	Biphosphine oxide phényl bis (2,4,6-triméthyl benzoyl)
BDK	2,2-Diméthoxy-2-phénylacétophénone
BMA	Butyl méthacrylate
BME	Benzoine méthyléther
BP	Benzophénone
COMOSS	Collocated monolith support structures
CMC	Concentration micellaire critique
COC	Copolymère d'Oléfine Cyclique
CTAB	Bromure de cétyltriméthylammonium
C_{15}	Pentadécane
CZE	Electrophorèse de zone
DCP	Ethylène glycol dicyclopentenyl éther acrylate
DLS	Diffusion dynamique de la lumière
D_m	Coefficient de diffusion
d_p	Diamètre des particules
DPMA	N - [3 (diméthylamino) propyl] - méthacrylamide
DTAB	Bromure de dodécyl triméthylammonium
DVB	1,2-Divinylbenzène
E	Champ électrique
EA	Ethyl acrylate
EC	Electrochromatographie
E/H	Eau dans l'huile
EHA	2-Ethylhexyl acrylate
H	Hauteur équivalente à un plateau théorique
HA	Hexyl acrylate

HAP	Hydrocarbures aromatiques polycycliques
H/E	Huile dans l'eau
HHPMP	2-hydroxy-1-[4-(2-hydroxyéthoxy)phényl]-2-méthyl-1-propanone
HPLC	Chromatographie liquide à haute performance
KPS	Persulfate de potassium
LiDS	Dodécyl sulfate de lithium
MATEAC	Chlorure de 2 (Méthacryloyloxy) éthyltriméthyl ammonium
MEB	Microscopie électronique à balayage
MEKC	Chromatographie électrocinétique micellaire
MMA	Méthyl méthacrylate
N	Efficacité
PCU	Polycarbonateuréthane
PDI_{DLS}	Indice de polydispersité
PDMS	Polydiméthylsiloxane
PE	Polyéthylène
PEGDA	Polyéthylène glycol diacrylate
PMMA	Polyméthylméthacrylate
PNAEI	Poly(N-acetylethylenimine
PP	Polypropylène
RPLC	Chromatographie liquide en phase inverse
SDS	Sodium dodécyl sulfate
TEM	Microscopie électronique à transmission
u	Vitesse linéaire de la phase mobile
UV	Ultraviolet
% wt.	Pourcentage massique
μ_{eo}	Flux électroosmotique
Θ	Angle de contact

Sommaire

Introduction générale **1**

Chapitre I *3*

Revue bibliographique *3*

I.1 NanoChrom : des nanoparticules en chromatographie liquide **5**

I.2 Objectif du projet NanoChrom **9**

I.3 Les microsystèmes séparatifs **9**

I.3.1 Les matériaux utilisés 9

I.3.2 Les modes de séparation en microsystème 10

I.4 Les phases stationnaires en microsystème **14**

I.4.1 Les phases tapissant la paroi interne des canaux. 14

I.4.2 Les structures COMOSS (COllocated MOnolith Support Structures) 15

I.4.3 Les phases monolithiques 18

I.4.4 Les phases particulaires 22

I.5 Les émulsions : généralités **24**

I.5.1 Formulation des microémulsions 27

I.5.2 Formulation des miniémulsions 28

I.6 Polymérisation radicalaire en émulsion **29**

I.6.1 Polymérisation radicalaire en microémulsion 30

- La polymérisation thermique 31
- La polymérisation induite chimiquement 35
- La polymérisation photochimique 36

I.6.2 Polymérisation radicalaire en miniémulsions 39

I.7 Synthèse photochimique de nanoparticules sur des substrats polymériques… **42**

I.8 Conclusion **43**

Chapitre II *51*

Synthèse de nanoparticules par photopolymérisation sur plaques en copolymère d'oléfine cyclique (COC) : études préliminaires *51*

II.1 Introduction **53**

- Voie « Emulsion vers surface » 54
- Voie « Surface vers émulsion » 54
- Combinaison des deux stratégies 55

II.2 Matériels et méthodes 56
II.2.1 Réactifs 56
II.2.2 Formulation des microémulsions 56
II.2.3 Synthèse photochimique des nanoparticules 58
II.3 Caractérisation des nanoparticules 59
- Distribution granulométrique par diffusion dynamique de la lumière (DLS) 59
- Potentiel Zeta : électrophorèse par effet Doppler 59
- Caractérisation morphologique des nanoparticules 60
II.4 Synthèse de nanoparticules à partir d'une microémulsion 60
II.4.1 Formulation d'une microémulsion en milieu libre 60
II.4.2 Synthèse et ancrage simultanés des nanoparticules sur plaque en copolymère d'oléfine cyclique (COC) 62
II.4.3 Initiation par la benzophénone (BP) à partir de la surface COC 62
II.4.4 Initiation à partir de la microémulsion 64
II.4.5 Combinaison des deux types d'initiation 65
II.4.6 Conclusion 66
II.5 Synthèse de nanoparticules à partir d'une miniémulsion : essais préliminaires 67
II.5.1 Influence de la quantité de tensioactif 67
II.5.2 Intérêt de la diminution du caractère hydrophobe du COC 69
II.6 Conclusions 71

Chapitre III 75
Optimisation de la composition de la miniémulsion par plan d'expériences 75
III.1 Introduction 77
III.2 Matériels et méthodes 77
III.2.1 Réactifs 77
III.2.2 Protocole expérimental 78
III.2.3 Synthèse photochimique 78
III.2.4 Caractérisation des gouttes et des nanoparticules résultantes 79
III.2.4.1 Suivi de la stabilité des miniémulsions par diffusion multiple de la lumière…… 79
III.2.4.2 Distribution de taille 80
III.2.4.3 Taux de conversion 80
III.2.5 Plan d'expériences 80

III.3 Résultats et discussion 82
III.3.1 Expériences préliminaires 82
III.3.1.1 Stabilité des miniémulsions 82
III.3.1.2 Influence du pentadécane 84
III.3.1.3 Corrélation entre les distributions en taille des gouttes avant et après photopolymérisation 85
III.3.1.4 Conclusion 87
III.3.2 Optimisation de la formulation par plan d'expériences 87
III.3.3 Diminution de la quantité de SDS 93
III.4 Conclusions 99

Chapitre IV 105
Fonctionnalisation de la surface COC 105
IV.1 Introduction 107
IV.2 Matériels et méthodes 110
IV.2.1 Réactifs 110
IV.2.2 Synthèse sur plaques COC 111
IV.2.2.1 Préparation des solutions de photogreffage et fonctionnalisation……. 111
IV.2.2.2 Photopolymérisation des nanoparticules sur plaques COC 111
IV.2.2.3 Caractérisation par angle de contact 111
IV.2.3 Optimisation du greffage PEGDA par plan d'expériences 112
IV.3 Résultats préliminaires 113
IV.3.1 Traitement par espaceur 113
IV.3.2 Monomères hydrophiles 114
IV.3.2.1 Monomère anionique 114
IV.3.2.2 Monomère cationique 116
IV.3.2.3 Monomère neutre 116
IV.4 Optimisation du greffage PEGDA 118
IV.4.1 Exploitation du plan d'expérience 118
IV.4.2 Extrapolation du domaine expérimental 122
IV.5 Conclusions et perspectives 129

Conclusion générale et perspectives 135

Annexe 139

Introduction générale

Depuis de nombreuses années, les sciences chromatographiques évoluent vers des performances accrues, afin d'augmenter leur capacité de traitement d'échantillons complexes ou de gagner en temps d'analyse. Un des principaux leviers dans cette course à la performance repose sur la taille des particules utilisées comme phase stationnaire dans les colonnes. Si les technologies conventionnelles conduisent de nos jours à des particules de l'ordre du micron, il peut être intéressant d'explorer des tailles inférieures et de proposer des colonnes séparatives utilisant des particules de l'ordre de la centaine de nanomètres. L'objectif de cette thèse est donc de pouvoir offrir cette nouvelle génération de particules.

Le chapitre I de ce manuscrit décrit la théorie de la chromatographie et ce qui pousse à la diminution de taille des particules. Il explore ensuite les colonnes miniaturisées qui sont une des conditions à la réalisation de cette avancée technologique. Par la suite, ce chapitre aborde la polymérisation photoinitiée à partir d'émulsions, qui est la voie privilégiée pour synthétiser des nanoparticules de diamètre inférieur à 200 nm. Les différents types d'émulsions seront détaillés, ainsi que les différentes stratégies d'initiation permettant la polymérisation de nanoparticules dans ces émulsions.

Le chapitre II précise les voies de synthèses et d'ancrage de ces nanoparticules aux surfaces en copolymère d'oléfine cyclique, matériau de choix pour notre objectif. Ces voies de synthèses diffèrent par le type d'amorceur qui permet l'ancrage par un mécanisme d'abstraction d'hydrogène de la surface. Les essais préliminaires montrent que l'optimisation de l'émulsion et la fonctionnalisation des surfaces destinées à accueillir cette émulsion sont deux étapes d'importance égale.

Par la suite, le chapitre III décrit l'optimisation de l'émulsion par l'utilisation de plan d'expériences. Une attention particulière est portée au tensioactif utilisé et à l'impact de celui-ci sur les tailles des nanoparticules résultantes. La fonctionnalisation des surfaces COC est plus particulièrement étudiée dans le chapitre IV. Différents types et natures de monomères sont évalués. Le greffage du monomère sélectionné est ensuite optimisé par plan d'expérience selon le caractère hydrophile généré et mis au regard de la structure de nanoparticules formées sur ces surfaces. Il apparaît que seule la combinaison des deux étapes optimisées permet d'obtenir des nanoparticules satisfaisant à notre objectif.

Chapitre I

Revue bibliographique

I.1 NanoChrom : des nanoparticules en chromatographie liquide

Cette thèse rentre dans le cadre d'un projet intitulé NanoChrom (ANR jeunes chercheurs - jeunes chercheuses) portant sur la synthèse d'une nouvelle phase stationnaire de nanoparticules en microsystèmes pour mettre en œuvre la technique d'électrochromatographie. Le but de ce projet est de poursuivre l'amélioration des performances chromatographiques d'une colonne en termes d'efficacité et de résolution des pics afin de pouvoir analyser rapidement des échantillons complexes.

Knox et autres auteurs [1-3] ont démontré que la diminution de la taille des particules est une des solutions pour améliorer les performances en chromatographie liquide. Ainsi au cours des dernières décennies, les particules de silice greffées utilisées dans des colonnes remplies pour HPLC ont vu leur diamètre diminuer drastiquement, passant de 5 µm à 3 µm. Les colonnes contenant des particules de 3 µm sont couramment utilisées dans les laboratoires d'analyse. Plus récemment, les performances chromatographiques ont continué à s'améliorer par l'emploi des petites particules de diamètre sub-2-µm [4-7]. Les courbes de Knox obtenues pour des diamètres de particules de 5 µm, 3 µm et 1.7 µm, testées pour la même phase mobile, la même phase stationnaire et les mêmes composés tests, montrent, comme prévu dans la théorie, que la hauteur équivalente à un plateau théorique H diminue avec la taille des particules : 5 µm (H_{opt} = 12.3 µm), 3.5 µm (H_{opt} = 8.8 µm) et 1.7 µm (H_{opt} = 3.9 µm) (Figure I-1).

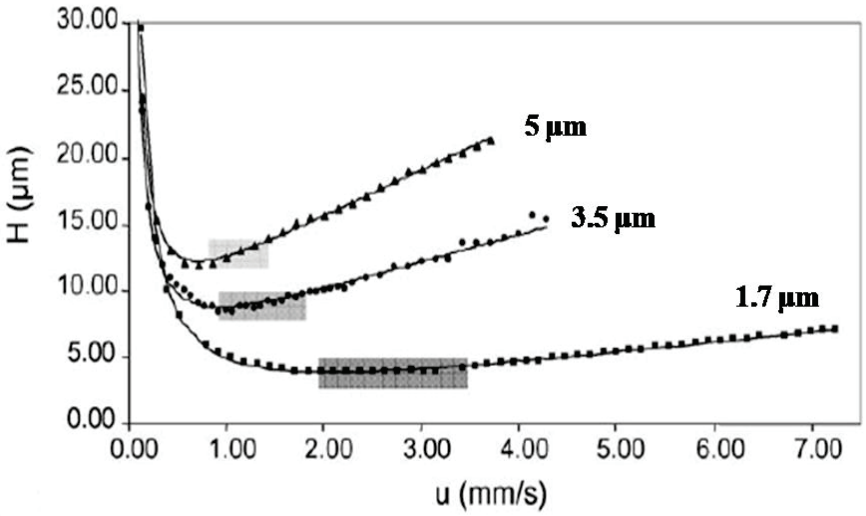

Figure I-1 : Effet expérimental de la taille des particules sur les courbes de Knox. H (la hauteur équivalente à un plateau théorique) en fonction de u (la vitesse linéaire de la phase mobile). Colonnes : XT150, 5 µm, XT50, 3.5 µm, ACQS, 1.7 µm [4].

Pour une même longueur de colonne, les performances chromatographiques des particules de sub-2-µm sont ainsi trois fois plus importantes par rapport aux colonnes conventionnelles de particules de 5 µm [4].

Toutes ces stratégies se fondent sur la théorie établie par Van Deemter en 1950 [8] qui relie le diamètre des particules à la hauteur équivalente à un plateau théorique, c'est-à-dire la variance de distribution d'un pic gaussien par unité de longueur parcourue (Équation I-1).

$$\boldsymbol{H} = \mathbf{a}\, \boldsymbol{d_p} + \mathbf{b}\, \frac{D_m}{u} + \mathbf{c}\, \frac{{d_p}^2}{D_m}\, \mathbf{u} \quad \textbf{Équation I-1}$$

où $\boldsymbol{H}$ est la hauteur équivalente à un plateau théorique, « $\boldsymbol{a\, d_p}$ » est le terme d'anisotropie d'écoulement, « $\boldsymbol{b}$ » le terme de diffusion longitudinale, « $\boldsymbol{c}\, \frac{{d_p}^2}{D_m}$ » le terme de résistance au transfert de masse ; $\boldsymbol{d_p}$ est le diamètre de particules, $\boldsymbol{D_m}$ est le coefficient de diffusion et $\boldsymbol{u}$ représente la vitesse linéaire de la phase mobile.

Le terme d'anisotropie d'écoulement « $\boldsymbol{a\, d_p}$ » dépend de la taille ainsi que de la forme des particules. Il existe, pour une phase mobile, différents trajets influencés par le remplissage de la colonne. Plus les particules sont petites, plus le remplissage est homogène et plus cette dispersion est minimisée. Le terme de diffusion longitudinale « $\boldsymbol{b}$ » traduit la dispersion du soluté liée à sa diffusion dans la colonne et il est indépendant des particules utilisées. Le terme de résistance au transfert de masse « $\boldsymbol{c}\, \frac{{d_p}^2}{D_m}$ » représente le transfert du soluté entre la phase mobile interparticulaire et la phase mobile stagnante dans les pores des deux phases. La diminution des tailles de particules entraîne également une diminution des zones stagnantes dans ces particules et réduit ce terme.

De manière théorique, on remarque que la comparaison du tracé des courbes de Van Deemter H = f (u), pour les diamètres de particules de 3 µm, 1.7 µm et 30 nm, montre l'intérêt d'une colonne chromatographique remplie de particules à l'échelle nanométrique sur les particules de tailles micrométriques (Figure I-2). En effet, non seulement la hauteur équivalente à un plateau théorique diminue d'au moins un facteur 3, mais la vitesse optimale d'utilisation de ces colonnes devrait être plus importante, permettant d'accélérer les temps d'analyse des échantillons.

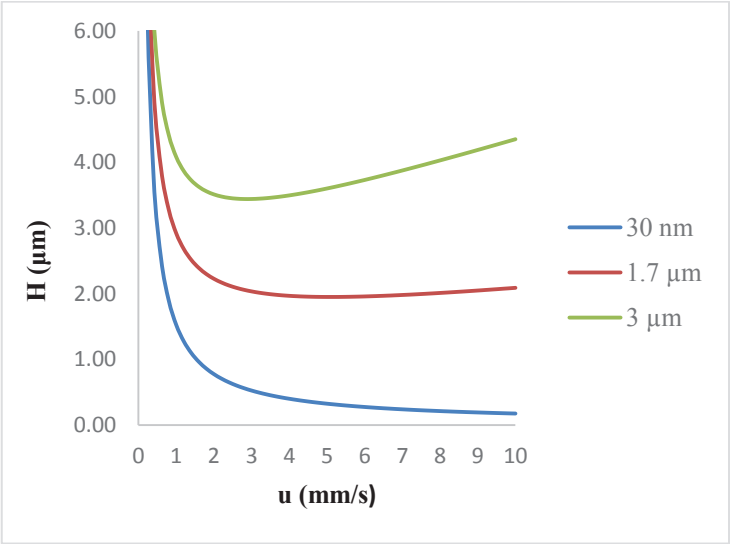

Figure I-2 : Courbe de Van Deemter H = f (u) pour les diamètres de particules de 3 µm, 1.7 µm et 30 nm avec a = 0.8, b = 1.5, c = 0.02 et $D_m = 1.10^{-9}$ m^2/s.

Actuellement les particules les plus petites sur le marché ont un diamètre de 1.7 µm [9]. Il est cependant impossible aux fournisseurs de remplir des colonnes avec de plus petites particules. En effet, les petites particules peuvent générer de fortes pressions incompatibles avec l'instrumentation actuelle. A partir de l'équation de Darcy (Équation I-2), la dépendance de la pression à l'entrée de la colonne sur le diamètre des particules est démontrée [9].

$$\Delta P = \frac{u \,.L.\eta.\phi}{d_p^{\,2}} \quad \textbf{Équation I-2}$$

où $\boldsymbol{L}$ est la longueur de la colonne, $\boldsymbol{\eta}$ la viscosité de la phase mobile et $\boldsymbol{\phi}$ la résistance du flux.

La pression est inversement proportionnelle au carré du diamètre des particules. Cela signifie que, dans les conditions identiques de vitesse linéaire optimale, une colonne ayant un diamètre de particules de 1.7 µm génère une pression 27 fois plus importante qu'une colonne particulaire de 5 µm pour une même longueur de colonne. Lorsque les particules ont un diamètre inférieur à 2 µm, une pression supérieure à 400 bars peut être facilement générée, incompatible avec les instruments HPLC conventionnels qui peuvent fonctionner jusqu'à 400 bars. L'utilisation de particules de faibles diamètres nécessite alors une instrumentation spécifique et coûteuse : des instruments d'UHPLC (chromatographie liquide à ultra haute performance) qui supportent des pressions comprises entre 400 bars et 1000 bars en routine, et plus récemment certains instruments atteignent des pressions supérieures à 1000 bars [9].

Afin de pouvoir utiliser des particules de diamètre inférieur au micron pour la mise en œuvre de la chromatographie en phase liquide sans rencontrer de problèmes de pression, il peut être intéressant de mettre en mouvement les fluides par le phénomène d'électroosmose. On parle alors d'électrochromatographie (EC). En électrochromatographie, la contrainte principale n'est plus liée à la pression mais au champ électrique E avec, en milieu hydroorganique de faible force ionique, E_{max} = 1000 V/cm. Un champ électrique supérieur à cette valeur peut provoquer des arcs électriques. Le flux électroosmotique résultant de l'application d'un champ électrique parallèle à une paroi chargée génère un profil d'écoulement plat. Ce profil permet d'avoir de bonnes efficacités en diminuant l'anisotropie d'écoulement (c'est à dire le terme « $a\ d_p$ » de l'équation de Van-Deemter) par comparaison avec la chromatographie en phase liquide qui utilise un flux hydrodynamique de profil parabolique [10].

Si l'on reprend l'exemple précédent comparant les performances de particules de 3µm et de 30 nm, la Figure I-3 montre le kinetic plot t_0 = f (N) pour les petites et les grosses molécules pour les deux diamètres de particules de 3 µm et 30 nm respectivement pour un flux électroosmotique μ_{eof} de 2. 10^{-4} cm².V^{-1}.s^{-1}.

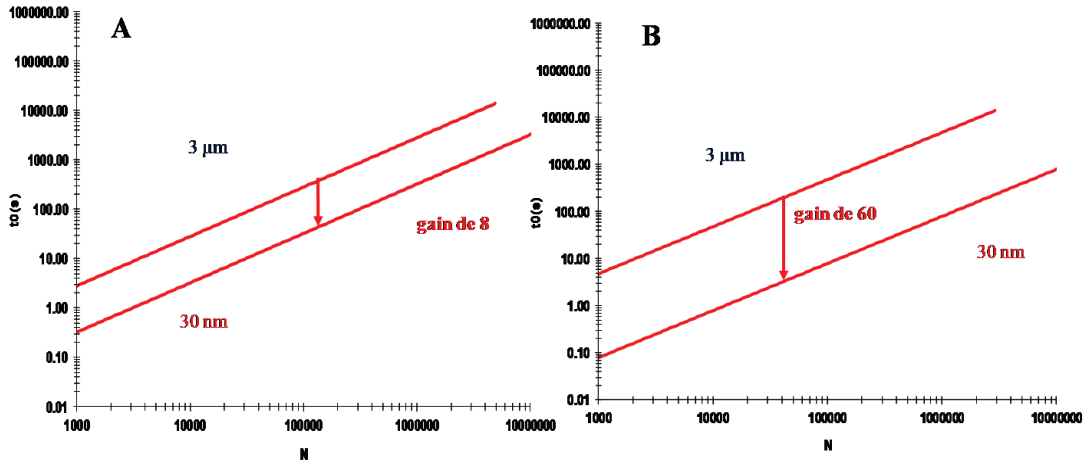

Figure I-3 : Kinetic plot t_0 = f (N) avec E_{max} = 1000 V/cm, μ_{eof} = 2. 10^{-4} cm².V^{-1}.s^{-1} **(A)** pour les petites molécules, D_m = 1.10^{-9} m².s^{-1}, **(B)** pour les grosses molécules, D_m = 0.2.10^{-9} m².s^{-1}.

La Figure I-3(A) montre que pour une même efficacité N, on a un gain en temps d'analyse qui est de 8 pour les petites molécules. Ce gain en temps est beaucoup plus important et passe à 60 pour les grosses molécules pour un coefficient de diffusion moléculaire D_m = 0.2.10^{-9} m².s-^{1} (Figure I-3 (B)).

I.2 Objectif du projet NanoChrom

A partir de ces observations, l'objectif du projet NanoChrom est de démontrer qu'il est possible de réaliser une colonne chromatographique à base de nanoparticules dans laquelle les fluides seront mis en mouvement par électroosmose. Le remplissage de colonnes HPLC par des nanoparticules est techniquement peu réaliste en raison de la pression nécessaire à ce remplissage et à la difficulté à retenir des nanoparticules à l'aide de frittés. Pour ces raisons, l'emploi d'un microsystème comme contenant de ces nouvelles phases stationnaires semble le plus approprié.

I.3 Les microsystèmes séparatifs

Depuis quelques années, la miniaturisation des systèmes séparatifs constitue l'un des développements majeurs de la chimie analytique [11]. Ce domaine se développe continuellement pour répondre aux besoins de notre société en analyses de plus en plus nombreuses et complexes. Cette évolution se justifie par les très faibles volumes d'échantillons disponibles (cellules, tissus…), le coût de certains réactifs (anticorps, enzymes…) mais également par la nécessité de gagner en temps d'analyse, en conservant toujours une bonne qualité de séparation. La notion de microsystème séparatif est apparue au début des années 1990 [12]. Il s'agit d'une structure d'une dizaine de cm^2 comportant un réseau de canaux, dont les dimensions sont typiquement de l'ordre de quelques micromètres, au sein de laquelle sont mises en œuvre une étape d'injection, une étape de séparation et enfin une étape de détection [13].

I.3.1 Les matériaux utilisés

Différents matériaux peuvent constituer les microsystèmes : le silicium, le verre, le quartz ou un matériau plastique tel que le PDMS (Polydiméthylsiloxane), le PMMA (Polyméthacrylate de méthyle), le COC (Copolymère d'Oléfine Cyclique), etc… Le silicium a été le premier matériau utilisé dans des microsystèmes séparatifs [13]. Cependant, en raison de ses propriétés optiques et semi-conductrices et de son coût élevé, le verre ou le quartz l'ont rapidement remplacé. On utilise aussi les microsystèmes plastiques qui, en plus de la simplicité de leur processus de fabrication, sont moins chers que les microsystèmes en verre ou en quartz, ce qui leur confère un caractère jetable [13]. Leur fabrication est en général obtenue par moulage à chaud ou thermo-injection plastique. Les microsystèmes les plus couramment utilisés sont en PMMA, mais dans le cadre de ce projet, afin de mener à bien les synthèses de phases stationnaires et également de pouvoir aisément utiliser l'outil séparatif qui en résulte, nous avons sélectionné des microsystèmes en COC (Copolymère d'Oléfine Cyclique).

Ce matériau présente en effet de nombreux avantages tels que sa résistance aux solvants, pré-requis pour les synthèses de nanoparticules et pour la compatibilité avec les phases mobiles hydroorganiques de l'électrochromatographie; sa transparence dans le domaine UV et sa compatibilité avec les systèmes de détection optique, comme la fluorescence qui est le mode de détection souvent employé avec ces systèmes d'analyse [14, 15]. Le microsystème COC sur lequel nous souhaitons travailler présente une géométrie simple comportant deux micro-canaux en croix et quatre réservoirs situés à chacune de leurs extrémités. Il fait 8.7 cm de long avec une section interne de 75 µm x 75 µm (Figure I-4).

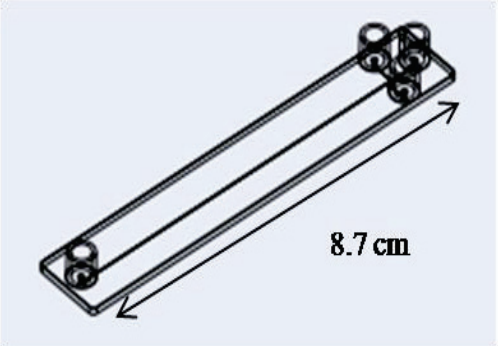

Figure I-4 : Représentation d'un microsystème comportant deux micro-canaux en croix et quatre réservoirs [16].

I.3.2 Les modes de séparation en microsystème

La mise en mouvement des liquides dans des microsystèmes est réalisée soit par pression ou par électroosmose. En microsystème, il est plus facile expérimentalement d'appliquer un champ électrique tout au long du micro-canal afin de générer un flux électroosmotique parfaitement adapté à la miniaturisation. Plusieurs modes de séparation sont possibles sous effet de champ électrique et ont été détaillés dans la revue de Wu [17].

L'électrophorèse de zone (CZE) est la technique la plus simple à mettre en œuvre et la plus utilisée en microsystème [18]. Le principe de cette technique consiste à séparer les espèces chargées positivement ou négativement qui se déplacent par application d'un champ électrique, selon leur charge et leur rayon hydrodynamique.

Un test de criblage à haut débit utilisant l'électrophorèse de zone sur une micro-puce fluidique a été développé par Wheeler *et al.*. [19] pour la détermination des variants de charge d'anticorps monocolonaux (mAb). Cette méthode permet des séparations

rapides (< 90 s) de protéines qui sont étiquetées par fluorescence sans altérer la charge globale. La séparation est plus rapide par rapport aux procédés classiques, tout en maintenant comparable la résolution et sans dénaturer les échantillons.

Dans un autre exemple, Jasmina *et al.* [20] montrent la caractérisation de protéines présentes dans le lait d'ânesse pendant la lactation par électrophorèse sur puces. Les protéines ont été identifiées par leurs masses moléculaires (en kDa) et leurs concentrations relatives en se basant sur la littérature. La Figure I-5 montre la séparation des protéines au début et à la fin de la lactation, dont la famille des protéines caséine qui présente des tailles aux alentours de 30 kDa (αs1- caséine, αs2- caséine, β caséine).

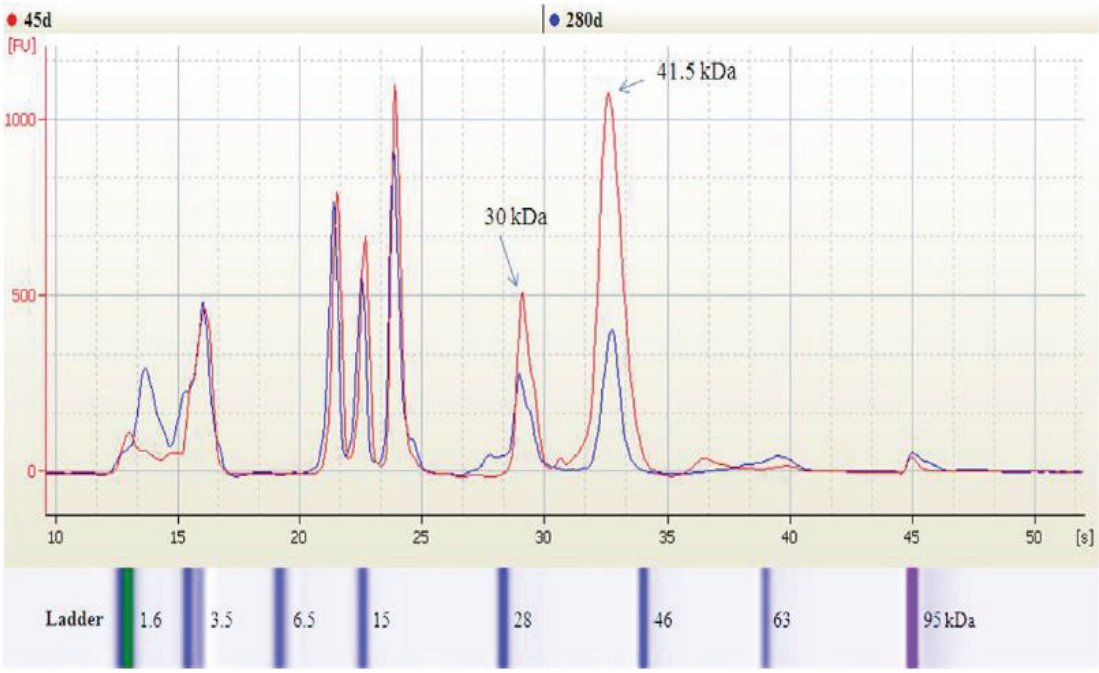

Figure I-5 : Electrophorégrammes des protéines présentes dans le lait d'ânesse [20].

Cependant, si les espèces ont des mobilités électrophorétiques quasi-identiques, c'est-à-dire des rapports charge/masse proches, l'électrophorèse de zone ne permet pas leur séparation. De plus l'électrophorèse de zone ne permet pas de séparer les molécules neutres qui ont une mobilité électrophorétique nulle. Pour répondre à ces problèmes, il est nécessaire d'introduire un mécanisme de séparation de type chromatographique, afin de provoquer une migration sélective des constituants du mélange en générant des interactions des espèces avec une phase stationnaire [21]. La séparation de solutés de mobilités électrophorétiques identiques ainsi que celle des solutés neutres par chromatographie électrocinétique micellaire (MEKC) se fait par l'introduction d'un tensioactif à une concentration supérieure à sa concentration micellaire critique.

Ainsi, les espèces se séparent suivant leur distribution entre le milieu aqueux et les micelles. Ces derniers, dans le cas où le flux électroosmotique est cathodique et le tensioactif est chargé négativement, migrent en direction de l'anode si leur mobilité électrophorétique est supérieure à la valeur du flux électroosmotique ou en direction de la cathode dans le cas contraire [21]. La séparation par chromatographie électrocinétique micellaire (MEKC) en microsystème est utilisée pour la séparation des peptides, des biomarqueurs, des amines biogènes, des œstrogènes, des ADN, des acides aminés et d'autres [22-24]. Par exemple, Culbertson *et al.* [24] ont réussi la séparation de 19 acides aminés en 165 secondes dans un microsystème en verre, avec une efficacité de 280 000 et une résolution minimale entre deux pics adjacents de 1.2.

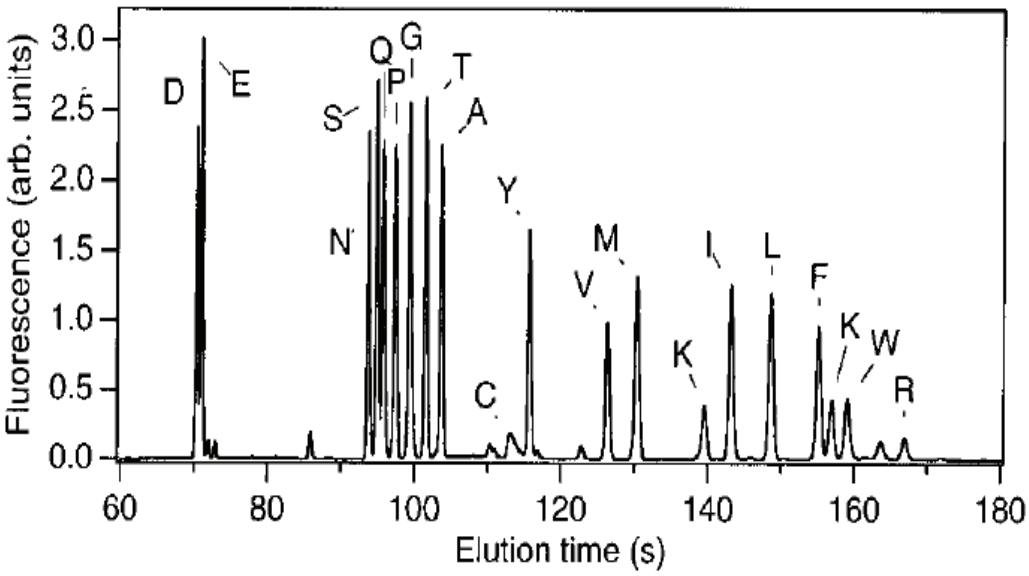

Figure I-6 : Séparation de 19 acides aminés sur un microsystème en verre par chromatographie micellaire critique [24]. Conditions de séparation : électrolyte contenant 10 mM de tétraborate de sodium, 50 mM de SDS avec 10 % (v/v) 2-propanol sous un champ électrique de 770 V/cm avec une détection à 11.87 cm de la coupe d'injection.

Ramsey *et al.* [25] ont également montré une amélioration de la résolution par des séparations multidimensionnelles EC-MECK. Un exemple d'électrophorégramme d'une séparation de peptides sur une puce en verre avec des capacités de pics supérieures à 4200 est illustré dans la Figure I-7.

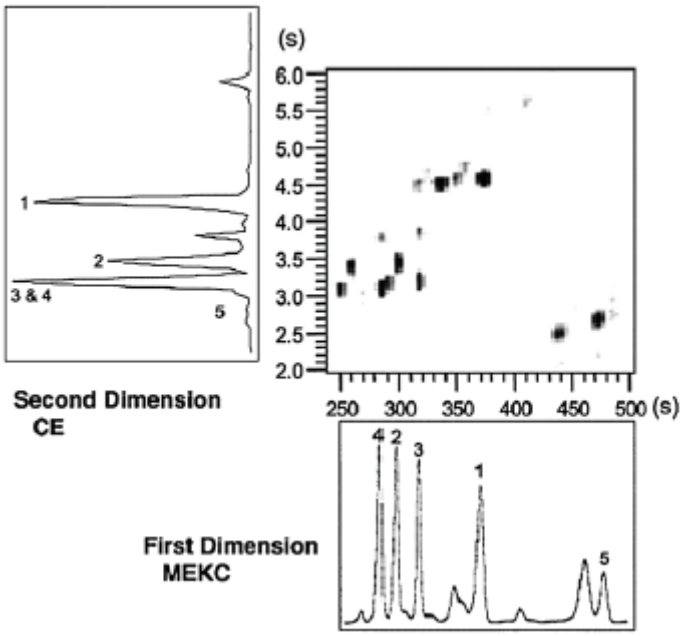

Figure I-7 : Electrophorégramme d'une séparation de peptides standards marqués au FITC affiché en 2D plot. Toutes les 4 secondes, injection des solutés de la 1ère dimension dans la 2ème dimension. (1) leucine encéphaline, (2) angiotensine I, (3) angiotensine III, (4) neurotensine, (5) bradykinine. TamponTEA 50 mM, 25 mM acide acétique, pH 10.7, 10 mM SDS (MEKC) et sans SDS (CE) [25].

Un des inconvénients de la MEKC est qu'elle met en œuvre un électrolyte de force ionique élevée. Le canal de séparation est donc le siège d'un effet Joule important. L'élévation de température qui en résulte peut être la cause d'une mauvaise efficacité de séparation ou d'un manque de stabilité des temps de migration. L'obtention d'une analyse répétable nécessite une régulation de la température assez poussée qui reste difficile à implanter en microsystème.

Pour pallier à cet inconvénient tout en gardant les avantages de la MEKC (possibilité de séparation des molécules neutres et élargissement de la sélectivité pour les solutés chargés), il est intéressant de mettre en œuvre un mécanisme de séparation de type chromatographique. L'association entre l'écoulement électroosmotique et une vraie phase stationnaire rétentive de chromatographie en phase liquide est appelée électrochromatographie (EC).

L'électrochromatographie (EC) a été mise en œuvre en capillaire dans les années 80 par Jorgenson *et al.* [26], puis par Knox *et al.* [27] mais son développement réel date du début des années 90. En EC, la séparation des solutés est basée sur les différences de mobilités électrophorétiques et de distributions entre la phase stationnaire et la phase

mobile qui migre par électroosmose. Cette technique est développée pour combiner les avantages du profil plat du flux électroosmotique en électophorèse capillaire, et l'interaction avec une phase stationnaire plus ou moins spécifique en chromatographie en phase liquide.

Comme en électrophorèse de zone, les solutés chargés ont une mobilité électrophorétique, tandis que les composés neutres ont une mobilité qui est nulle. Les deux types de composés vont évoluer dans une phase mobile dont le mouvement est lié à la force électroosmotique et interagir avec la phase stationnaire présente selon leur facteur de rétention k. La vitesse apparente $v_{app,i}$ d'un soluté i en électrochromatographie résulte simultanément de ces trois phénomènes et se traduit selon l'équation :

$$\mathbf{v_{app,i}} = \left(\frac{\mu_{ep,i}+\mu_{eo}}{1+k_i}\right) \quad \textbf{Équation I-3}$$

Avec $\boldsymbol{\mu_{ep}}$ la mobilité électrophorétique effective, $\boldsymbol{\mu_{eo}}$ la mobilité électroosmotique et $\boldsymbol{k_i}$ le facteur de rétention du composé i.

La phase stationnaire d'électrochromatographie doit donc présenter à la fois des groupements fonctionnels permettant la rétention chromatographique, comme des chaînes alkyles dans le cas d'un mécanisme de rétention de type phase inverse, et des charges fixes permettant la création d'une double couche osmotique et donc la mise en place d'un flux électroosmotique, ces charges pouvant être négatives (flux anodique) ou positives (flux cathodique).

La section suivante va détailler des exemples de phases stationnaires adaptées à l'électrochromatographie en microsystème.

I.4 Les phases stationnaires en microsystème

En électrochromatographie, les solutés sont séparés selon un mécanisme de partage entre la phase mobile et la phase stationnaire. Il existe plusieurs façons d'immobiliser ou de créer une phase stationnaire dans des microcanaux.

I.4.1 Les phases tapissant la paroi interne des canaux.

C'est le moyen le plus simple pour effectuer la chromatographie sur puce. Le matériau des parois du canal (ex : le verre ou un polymère) est directement modifié ou dérivé chimiquement pour apporter des groupements fonctionnels générant de la rétention chromatographique. Les avantages de ce type de microsystème sont la facilité de la préparation de la phase stationnaire et la faible pression nécessaire pour remplir les

canaux. Leur inconvénient est la faible capacité de la phase stationnaire en raison de la faible surface spécifique des films. Elle pourrait être augmentée en utilisant des films épais. Jusqu'à présent, ces phases ont été peu utilisées à cause de l'impossibilité de travailler avec des films de phase stationnaire épais dû au risque d'avoir un flux électroosmotique faible voire négligeable [28]. Pour éviter la différence de vitesses entre le soluté au centre et le soluté dans le film afin d'avoir de bonnes efficacités, il faut travailler dans des canaux de dimension très faible. Dans ce cas, on a un flux électroosmotique faible qui par conséquent rend les analyses lentes.

I.4.2 Les structures COMOSS (COllocated MOnolith Support Structures)

Pour pallier aux faibles capacités de rétention observées avec les canaux fonctionnalisés et augmenter la surface spécifique, Régnier *et al.* [29, 30] ont conçu en 1998 des microsystèmes comportant des microstructures de type « piliers » appelées COllocated MOnolith Support Structures (COMOSS).

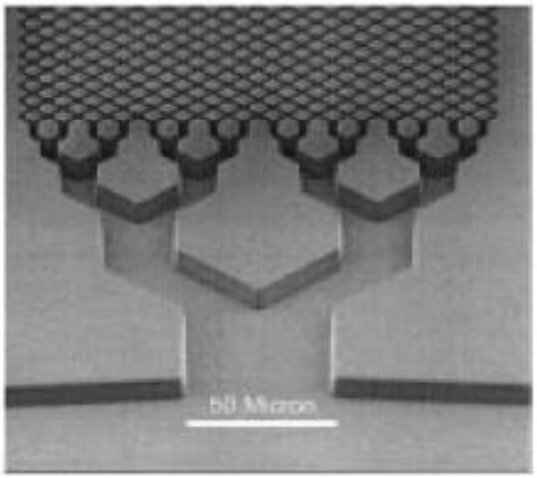

Figure I-8 : Image MEB des microstructures COMOSS dans un microsystème en quartz [30].

Ces microstructures, une fois fonctionnalisées, permettent d'accroître le rapport des volumes entre phase stationnaire et phase mobile. Divers autres avantages sont présentés : la largeur des canaux inter-plots peut être définie indépendamment de la taille et de la forme des microstructures, la distribution des « particules » est uniforme et une grande variété de géométries, plus ou moins efficaces, peut être envisagée. Gustafsson *et al.* [31] ont travaillé sur ce type de phase stationnaire sur un microsystème COC pour des séparations en EC. La Figure I-9 montre ainsi la séparation de trois

amines marquées pour qu'elles fluorescent, avec des hauteurs équivalentes à un plateau théorique comprises entre 3.4 et 22 µm pour les solutés 1 et 2 respectivement.

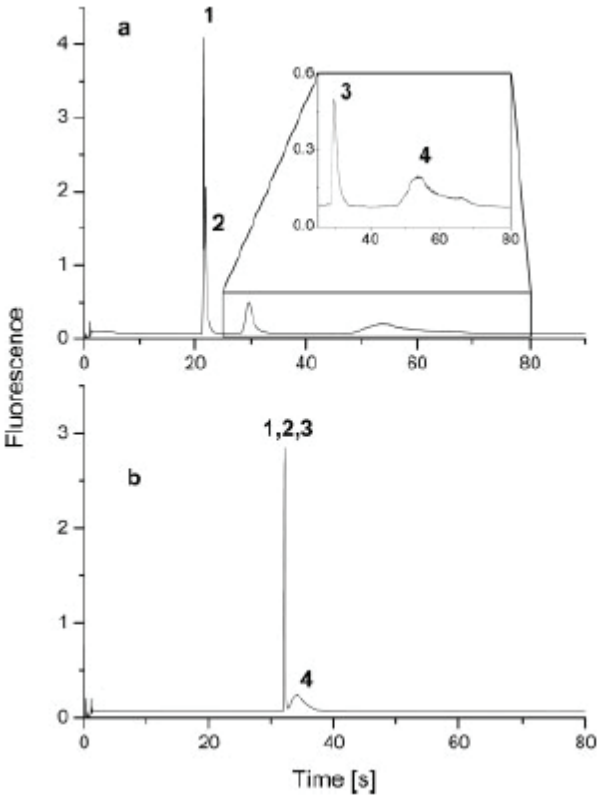

Figure I-9 : Séparations électrochromatographiques sur microsystème COC natif. Analytes: (1) Atto-532, (2) Atto-532-éthanolamine (1.2 mM), (3) Atto-532-hexylamine (2.5 mM), (4) Atto-532-octylamine (3.0 mM). Phase mobile : 10 mM de tampon tétraborate à pH 9.2 contenant : (a) 20% ACN and (b) 50% ACN. Excitation à 532 nm et détection à 568 nm. Longueur effective de la séparation est de 11 mm. Champ électrique de 172 V/ cm [31].

La composition en phase organique influence peu la mobilité électrophorétique. Or, dans cet exemple à 50 % ACN (Figure I-9 b), les solutés ne sont plus séparés, il y a donc ici la démonstration d'un mécanisme de chromatographie liquide en phase inverse (RPLC).

Illa *et al.* [32] ont étudié la rétention sur des phases stationnaires COMOSSs (Figure I-10) dans des microsystèmes COP (polymère d'oléfine cyclique) en chromatographie liquide phase inverse (RPLC) sous pression. Les composés utilisés sont quatre coumarines neutres (Figure I-11).

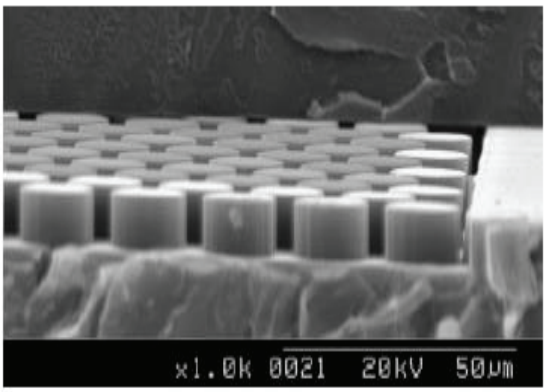

Figure I-10 : Image MEB de la colonne à l'interface d'un canal de 8 µm de profondeur [32].

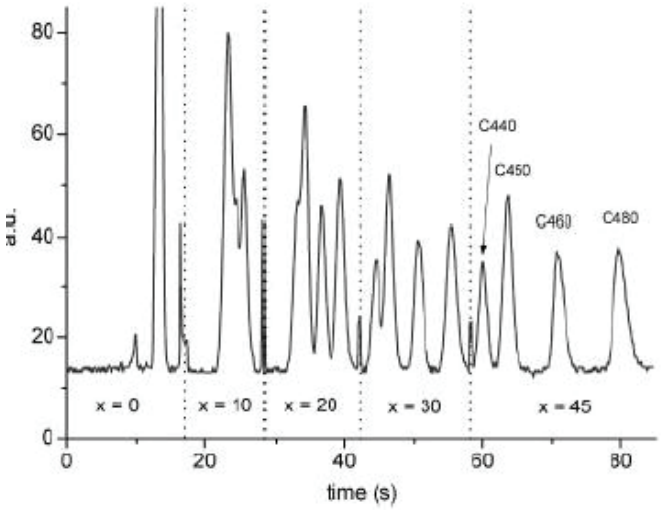

Figure I-11 : Chromatogramme des coumarines C440, C450, C460 et C480 dans 60:40 v/v eau /méthanol (eau tamponnée à pH 7) dans un canal de 8 µm de profondeur, contrôlé à 10, 20, 30 et 45 mm en aval de la fente d'injection. La vitesse linéaire de la phase mobile est de 0.95 mm/s [32].

Les mesures ont été prises à quatre positions de la fente d'injection, de manière à ce que le microscope se déplace vers la 2ème position après que les composants traversent la mise au point du microscope. Les quatre coumarines possèdent différentes rétentions aboutissant à une bonne séparation avec un retour à la ligne de base à la fin de la colonne (x = 45 mm en aval de la fente d'injection) (Figure I-11).

Une structure de type COMOSS permet ainsi d'accroître les capacités de rétention par rapport à la fonctionnalisation simple d'un canal. Néanmoins, les rétentions générées restent faibles car les nanostructures ne sont pas poreuses. De plus, la fabrication de tels microsystèmes nécessite un équipement de nanostructuration très coûteux.

I.4.3 Les phases monolithiques

Les phases monolithiques sont des structures polymériques, continues et poreuses. Leur utilisation en tant que phase stationnaire de séparation dans les techniques classiques, comme la chromatographie en phase liquide ou l'électrochromatographie capillaire, rencontre un intérêt croissant. Il est donc logique de les voir également décrites dans le domaine des microsystèmes séparatifs [33], d'autant plus qu'elles présentent de nombreux avantages et en particulier de pouvoir être synthétisées *in situ*. Il existe deux grandes familles de monolithes selon la nature organique ou inorganique qui constitue le réseau poreux.

Les monolithes inorganiques présentent la plupart du temps un squelette en silice [34-36], même si d'autres matériaux ont été utilisés, notamment en capillaire, comme le titane ou le zirconium [37-39]. Les monolithes à base de silice sont préparés par une réaction sol-gel d'une solution d'alkoxysilane. Ces monolithes sont souvent synthétisés par voie thermique [34], d'où la difficulté de localiser la réaction en microsystème. Harrison *et al.* [40] ont réalisé la synthèse d'une colonne de phase stationnaire d'octadécylsilane (ODS) dans un microsystème en verre et ont montré des séparations de colorants neutres et fluorescents ainsi que d'acides aminés sur une longueur de séparation de 1 à 2 mm. Les performances chromatographiques sont comparables à celles obtenues sur des colonnes conventionnelles de CEC [40]. Giordano *et al.* [41] ont également réussi des séparations de trois explosifs sur une colonne chromatographique de méthyltriméthoxysilane (C1-TMOS) dans un microsystème quartz (Figure I-12). De plus, l'étude de l'influence de la longueur de la chaîne alkyle sur ces phases stationnaires a montré qu'il était possible d'améliorer la résolution de la séparation pour plus de six composés sans perte en efficacité [41].

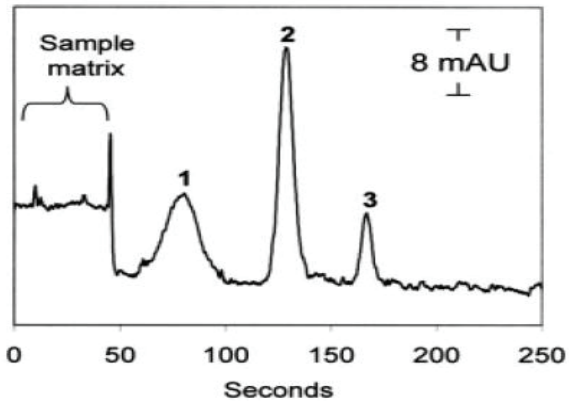

Figure I-12 : Séparation de (1) 1,3,5-trinitrotoluène, (2) 2,4-dinitrotoluène, et (3) 3-nitrotoluène sur la phase stationnaire C1-TMOS. L'échantillon est préparé dans 50 mM Tris (hydroxymethyl) aminométhane pour 2 mg/L de chaque analyte injecté pendant 200 s [41].

Les synthèses sol-gel thermiques sont cependant des synthèses longues, très difficilement transposables en microsystèmes plastiques en raison de la faible transition vitreuse des supports. De plus, la diffusion thermique empêche les réactions localisées. C'est pourquoi les synthèses photochimiques de phases stationnaires en microsystèmes semblent plus appropriées.

En 2002, Morishima *et al.* [42] ont introduit des monolithes hybrides de silice/acrylate synthétisés par voie photochimique dans des microsystèmes en verre. Le microsystème rempli de la solution de synthèse est irradié sous une longueur d'onde de 365 nm pendant 5 minutes sans prétraitement de la surface verre. La morphologie par microscopie électronique à balayage (MEB) (Figure I-13) montre des structures sphériques similaires aux synthèses en capillaire.

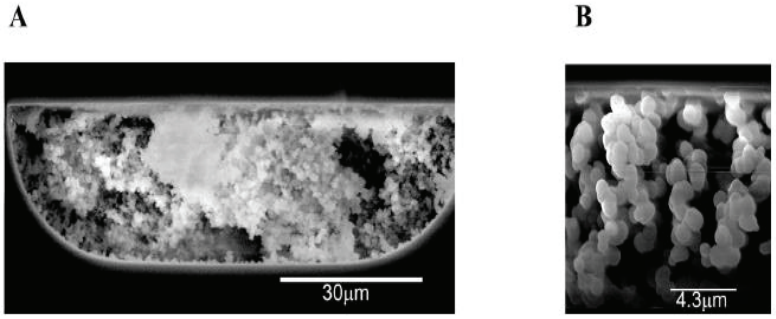

Figure I-13 : Images MEB des monolithes poreux de silice photopolymérisés dans un microsystème en verre. (A) vue de coupe et (B) grossissement x 7 de A [42].

L'intérêt des monolithes poreux de silice photopolymérisés est démontré par la séparation de deux analytes : Coumarine 314 et 510. Une comparaison de deux séparations pour deux points différents de détection est illustrée dans la Figure I-14 et montre qu'il est possible de travailler avec des colonnes très courtes en électrochromatographie [42].

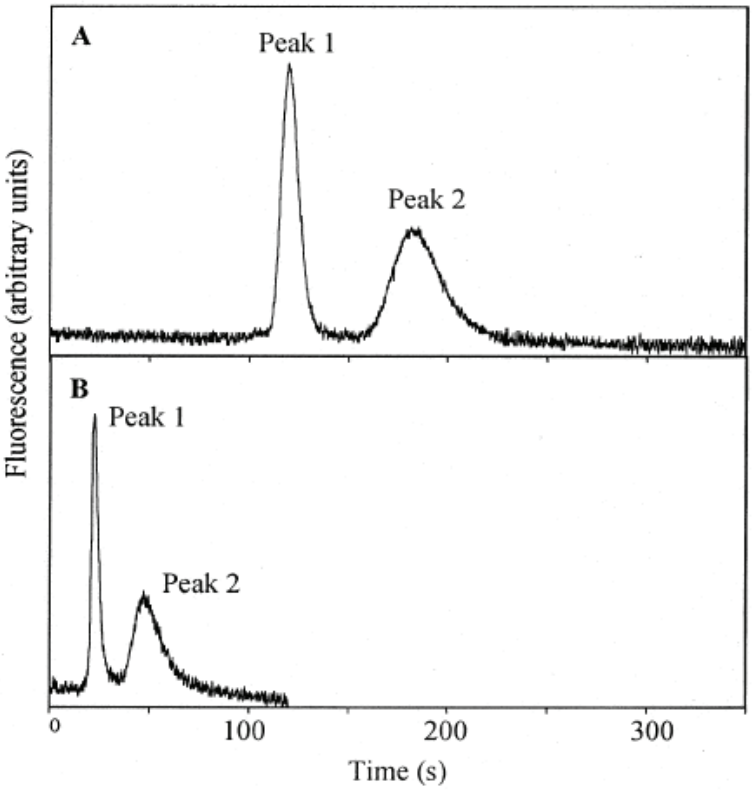

Figure I-14 : Electrochromatogramme d'un mélange de Coumarine 314 (peak 1) et Coumarine 510 (peak 2). **(A)** Détection à 4.7 cm, **(B)** Détection après 1.2 cm de la section de la polymérisation sol gel [42].

Les monolithes purement organiques sont synthétisés par polymérisation radicalaire d'un mélange réactionnel constitué du monomère, d'un porogène et d'un amorceur. Un monomère chargé est ajouté à la composition afin de maintenir des charges à la surface de la colonne permettant la génération d'un flux électroosmotique pour l'électrochromatographie. L'avantage des monolithes acrylates repose sur la possibilité de localiser la synthèse de la phase stationnaire *in situ* dans des microsystèmes car il s'agit d'une photopolymérisation. Svec *et al.* [43] ont été les premiers en 2001 à démontrer la synthèse *in situ* des monolithes par voie photochimique en microsystèmes. Augustin *et al.* [44] ont réussi en 2007 la séparation de trois hydrocarbures aromatiques (HAPs) par électrochromatographie sur une colonne monolithique d'hexyl acrylate

photopolymérisée *in situ* dans des microsystèmes en verre. A l'Institut des Sciences Analytiques, les travaux de cette dernière décennie ont permis d'optimiser différents monolithes organiques localisables dans des microsystèmes en copolymère d'oléfine cyclique (COC) [45-47]. Ainsi, des monolithes à base de lauryl acrylate, présentant de taille de nodules de 1.8 µm (Figure I-15) ont permis la séparation de cinq HAPs avec une hauteur équivalente à un plateau théorique H de 17 µm pour l'anthracène (Figure I-16).

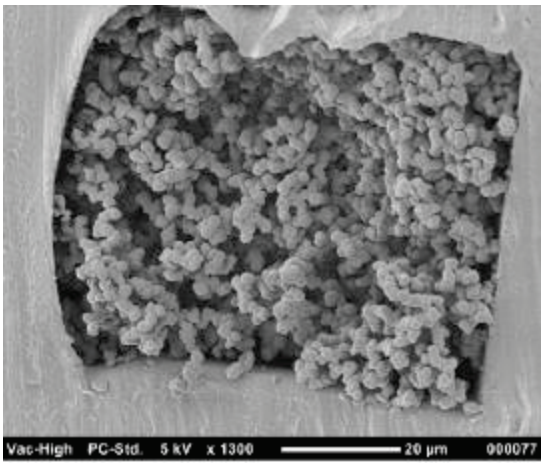

Figure I-15 : Morphologie MEB du monolithe lauryl méthacrylate dans un microsystème COC synthétisé par voie photochimique [46].

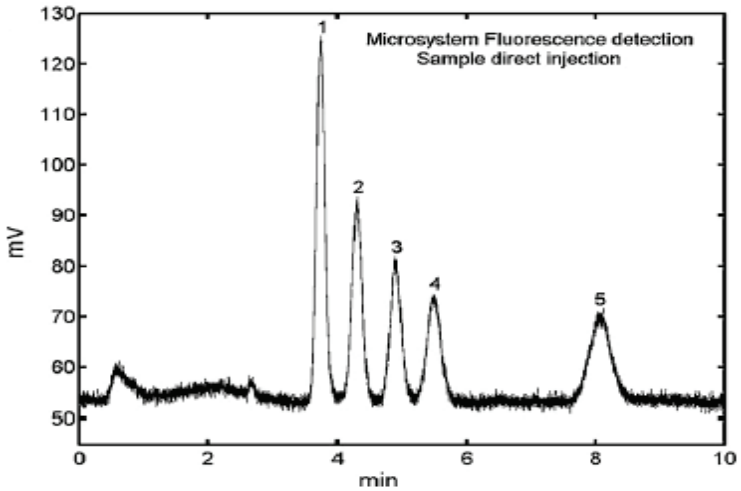

Figure I-16 : Séparations de cinq HAPs en électrochromatographie liquide à phase inverse : (1) Anthracène, (2) Fluoranthène, (3) Pyrène, (4) Benzo-[a]-anthracène and (5) Perylène. Champ électrique: 560 V/cm. Phase mobile 85/15: (v/v) ACN/eau + 2mM $NH_4H_2PO_4$ + 5 mM LiDS. Longueur de la séparation : 6.5 cm [46].

Plus récemment, des monolithes à base d'hexyl acrylate ont également été réalisés pour la séparation électrochromatographique de cinq amines biogènes : l'histamine (1), la putrescine (2), la cadavérine (3), la tyramine (4), la tryptamine (5) [46, 48] dans un échantillon de vin (Figure I-17).

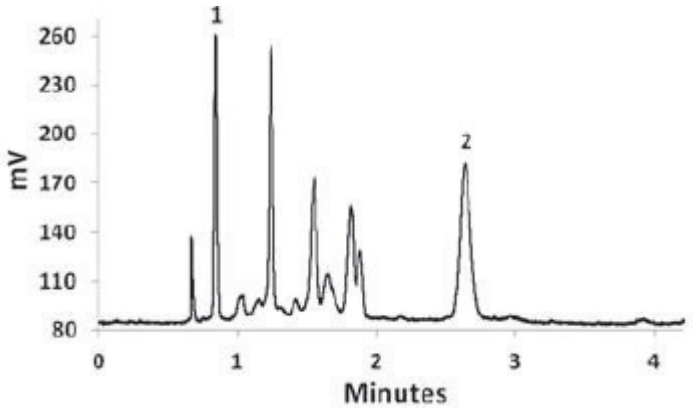

Figure I-17 : Analyse des amines biogènes dérivées par NDA dans un échantillon de vin dopé avec 1.3 mg/L histamine et 1.9 mg/L tyramine. 1 = histamine, 2 = tyramine. Phase mobile: ACN/eau 60:40 (v/v) + 2 mM NH_4 H_2PO_4 + 5 mM LiDS. pH de 13. Longueur de la séparation : 7 cm.

Ladner *et al.* [47] ont démontré qu'une action d'un amorceur sur la surface COC permettait d'améliorer l'ancrage covalent de ces monolithes à la paroi et d'en augmenter les performances chromatographiques.

La synthèse des phases monolithiques dans des microsystèmes est réalisée *in situ* par voie photochimique. Ceci est un avantage sur le remplissage ou la structuration du matériau. La difficulté réside dans la maîtrise de la taille des nodules car beaucoup de paramètres peuvent influencer la morphologie tels que l'intensité et le temps d'irradiation [49], le rapport monomère/porogène, la nature et la concentration d'amorceur. C'est pourquoi la synthèse de monolithes en microsystème reste encore peu accessible.

I.4.4 Les phases particulaires

Comme dans des colonnes chromatographiques conventionnelles, il peut être intéressant de mettre en place des phases stationnaires à base de particules de silice fonctionnalisées. Ainsi, les équipes ont imaginé différents stratagèmes pour tenter d'introduire et d'immobiliser de façon répétable et homogène des particules au sein de microsystèmes, ceci avec plus ou moins de succès. Malgré les difficultés mentionnées, les phases particulaires ont donné lieu à plusieurs publications dans des microsystèmes utilisés en chromatographie liquide [35, 50]. Il faut aussi noter l'existence de deux dispositifs actuellement commercialisés (Chip LC d'Agilent et nano LC d'Eksigent) basés sur ce type de microsystème, utilisant des frittés nanostructurés dans le matériau du microsystème.

Des colonnes en acier inoxydable ou en verre remplies de particules de taille sub-1-micron et utilisables sur des appareils de chromatographie conventionnels (sous pression) ont également été réalisées de manière plus expérimentale. On peut ainsi citer des colonnes d'exclusion stériques à base de particules d'éthylène hybride BEH de diamètre 800 nm [51]. Feng *et al.* [52] ont produit des particules de silice fortement mésoporeuses de taille comprise entre 0.6 µm et 0.9 µm pour la séparation des composés chiraux par chromatographie liquide à ultra haute performance (UHPLC). L'avantage de ces particules comme phase stationnaire repose sur la grande surface spécifique qui est de 480 m^2/g et leur forte porosité qui rend la colonne perméable et permet de générer seulement 500 bars à 2 ml/min sur 5 cm de remplissage. L'utilisation d'instrumentation UHPLC commerciale est alors réalisable. La hauteur équivalente à un plateau chromatographique y est de l'ordre de 1 µm. Cependant, le remplissage étant réalisé de manière conventionnelle, ces colonnes nécessitent des frittés et ne permettent donc pas de diminuer plus, à l'heure actuelle, la taille des particules.

Douglas *et al.* [53] ont réussi un remplissage homogène de nanoparticules de silices de taille de 330 nm dans un capillaire de 75 µm de diamètre interne. Le capillaire est trempé dans les nanoparticules de silice en suspension puis, après quelques jours, les cristaux colloïdaux de silice se forment dans le capillaire sans utilisation de frittés. Les cristaux colloïdaux ont été modifiés chimiquement par polymérisation de trichlorosilane portant le groupe fonctionnel C_{18} et C_1, pour donner une densité de C_{18} de 3 $\mu m/m^2$. Cette phase stationnaire est par la suite utilisée en électrochromatographie. La Figure I-18 montre les efficacités du pic pour quatre valeurs de champs électriques. On remarque que la hauteur équivalente à un plateau théorique est inférieure à 1 µm, ce qui n'a jamais été atteint en HPLC. Le remplissage par précipitation de colloïdes ne nécessite pas de frittés mais est long et ne permet hélas d'obtenir que des longueurs de colonnes très courtes, ici 5 mm.

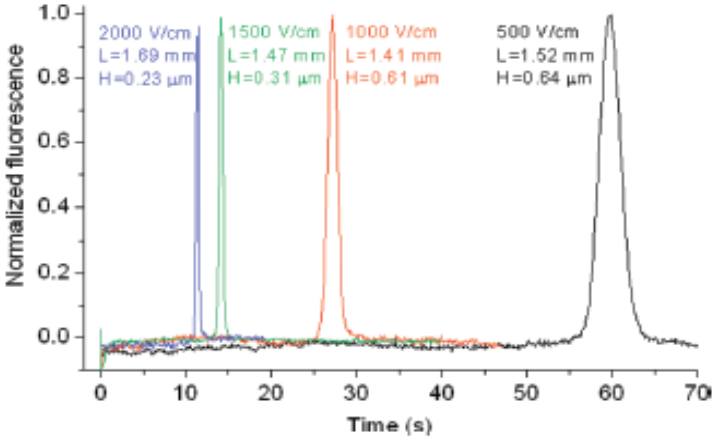

Figure I-18 : Electrochromatogrammes de DiI - C_{12}, pour quatre champs électriques, représentés sur le même axe de temps. Phase mobile 90/10 (v/v) MeOH/Eau avec 0.1 % d'acide formique. Phase stationnaire colloïdale C_{18}/C_1 [53].

Cahier des charges pour des nanoparticules comme phase stationnaire

En réponse au cahier de charges et aux différentes stratégies développées dans la littérature, nous envisageons au cours de cette thèse de synthétiser directement dans la colonne chromatographique des nanoparticules d'hexyl acrylate C_6 comme phase stationnaire pour l'électrochromatographie. Afin de démontrer l'amélioration des performances chromatographiques, un diamètre compris entre 30 nm et 200 nm est visé. Cette synthèse sera réalisée par voie photochimique pour être localisée et rapide, et permettre un ancrage covalent des nanoparticules avec le contenant en matériau COC, évitant ainsi le remplissage par pression et l'emploi de frittés.

Pour ce faire, nous envisageons la polymérisation en émulsion, qui est une voie de synthèse de nanoparticules où les gouttelettes se convertissent en nanoparticules par voie photochimique.

I.5 Les émulsions : généralités

Les émulsions sont des dispersions de gouttes d'un liquide dans un autre : il s'agit d'un mélange de deux phases non (ou partiellement) miscibles, généralement une phase aqueuse et une phase huileuse. Le processus de photopolymérisation des émulsions est initié par l'ajout d'un photoamorceur radicalaire permettant la formation des particules colloïdales de taille plus petite que celle des gouttes de monomère initiales. Ce mécanisme sera détaillé un peu plus loin dans ce chapitre.

Les émulsions sont généralement stabilisées par un ou plusieurs tensioactifs. Ces molécules amphiphiles possèdent une tête polaire hydrophile et une queue hydrophobe qui est une chaîne hydrocarbonée. La tête polaire peut être ionique ou non ionique.

La balance hydrophile-lipophile (HLB) a été proposée par Griffin [54] pour rendre compte de l'équilibre entre les deux caractères (hydrophile et lipophile) des tensioactifs. La HLB varie sur une échelle de 0 à 20, 0 caractérisant les molécules lipophiles et 20 les molécules hydrophiles. Il s'agit d'un guide qualitatif pour choisir un tensioactif selon le type d'émulsion souhaité. Les tensioactifs hydrophiles sont utilisés pour formuler des émulsions directes (de type huile dans l'eau (H/E)) dans lesquelles la phase continue est aqueuse. Les émulsions inverses (de type eau dans l'huile (E/H)) sont obtenues avec des tensioactifs lipophiles.

Dans une solution aqueuse de tensioactif, les molécules de tensioactifs s'adsorbent à l'interface eau/air (Figure I-19). Au-delà de la concentration micellaire critique (CMC), l'interface est saturée et l'on assiste à la formation d'un assemblage moléculaire du tensioactif appelé micelles.

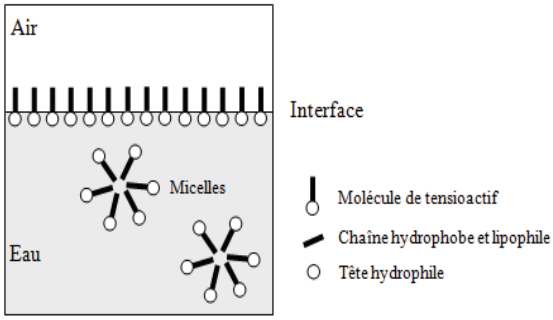

Figure I-19 : Tensioactif en solution aqueuse.

La préparation d'une émulsion consiste à fortement cisailler le mélange huile-eau-tensioactif pour disperser le plus finement possible une phase dans l'autre. L'énergie nécessaire est généralement fournie mécaniquement : on utilise des technologies pemettant de générer de forts cisaillements comme les ultra-turrax ou les homogénéiseurs haute pression [55].

La Figure I-20 présente les différentes étapes du procédé d'émulsification conduisant à la formulation d'une émulsion directe huile dans l'eau (H/E). Au départ, l'eau et l'huile sont séparées par une interface (Figure I-20(a)). Le tensioactif ajouté doit être plutôt

hydrophile. Le cisaillement du mélange permet de générer des gouttes d'huile à la surface desquelles le tensioactif va s'adsorber limitant ainsi le processus de coalescence des gouttes (Figure I-20 (c)). Une fois formulée, l'émulsion tend à se déstabiliser pour revenir à l'état initial thermodynamiquement favorable des deux phases séparées (Figure I-20 (d)). Généralement, on cherche à ralentir le plus possible les cinétiques de déstabilisation en jouant sur la composition des émulsions.

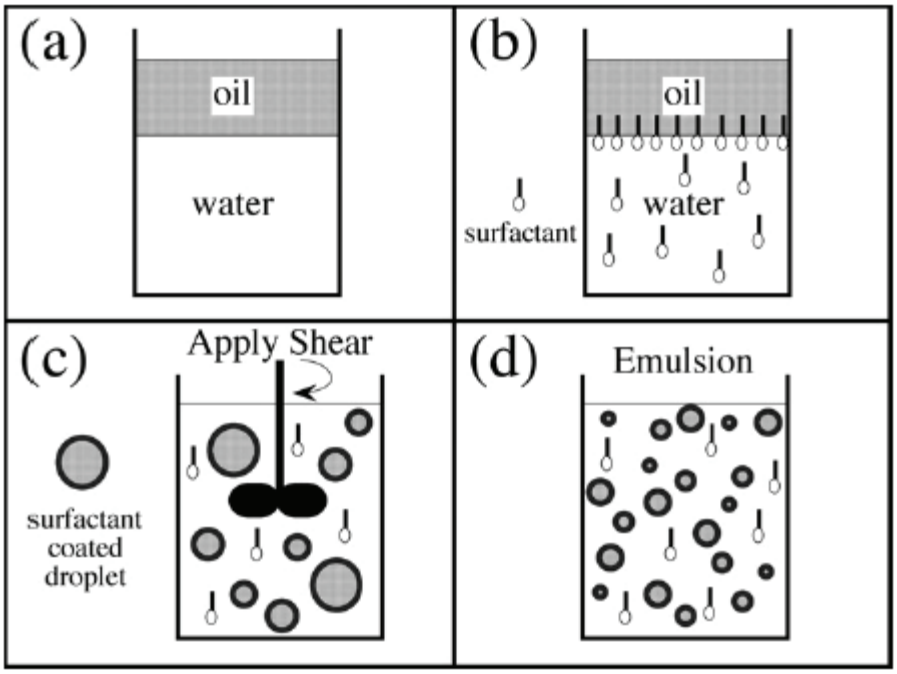

Figure I-20 : Préparation de l'émulsion [56].

Comme nous venons de le voir, lors du procédé d'émulsification, il y a augmentation de l'aire interfaciale eau/huile, ce qui rend le système thermodynamiquement instable. Il tend donc à revenir à la situation où coexistent les deux phases distinctes séparées par une zone interfaciale limitée.

Deux processus de dégradation peuvent conduire à la déstabilisation d'une émulsion et la séparation de phase : le mûrissement d'Oswald dû à la diffusion des molécules de la phase dispersée dans la phase continue et la coalescence par collision des gouttelettes. Les gouttelettes doivent donc être stables face à ces deux processus de dégradation pour que l'émulsion perdure. D'autres mécanismes de déstabilisation peuvent s'ajouter : la sédimentation ou le crémage dus à la différence de densité entre les deux phases et la floculation qui correspond à une agrégation des gouttes sous l'effet des forces attractives (Figure I-21).

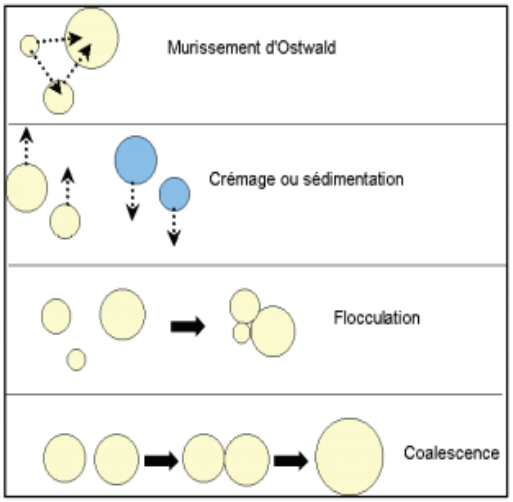

Figure I-21 : Mécanismes de dégradation de l'émulsion [57].

Les émulsions sont des systèmes regroupés sous un terme générique précédé par un préfixe macro, mini (ou nano) et micro selon la taille moyenne des gouttes générées. Les macroémulsions sont constituées de gouttes de taille moyenne supérieure au micron alors que dans les miniémulsions, les tailles moyennes des gouttes sont comprises entre 50 nm et 500 nm environ. Enfin, les microémulsions contiennent des gouttes très petites entre 10 nm et 50 nm ; elles sont transparentes et diffusent fortement la lumière.

I.5.1 Formulation des microémulsions

Comparées aux macroémulsions [58] et aux miniémulsions [59], les microémulsions sont des systèmes thermodynamiquement stables [60], car elles sont liées à l'existence de structures (comme les micelles) dues à l'auto assemblage des molécules de tensioactif pour des concentrations supérieures à sa CMC. Un rapport SDS/ monomère doit être compris entre 1 et 3 pour la formation d'une microémulsion stable de monomètres méthyl et butyl méthacrylates (MMA et BMA) [61]. Plus récemment, Jain *et al.* [62] ont formulé une microémulsion transparente de butyl acrylate (0.09 g/mL d'eau) en présence de SDS (0.2 g/mL d'eau) et de 1-pentanol (0.6 g/mL d'eau) comme co-stabilisant. La préparation des microémulsions ne nécessite pas d'apport important d'énergie (une simple agitation magnétique suffit). Mais, ces systèmes sont aussi très sensibles à la dilution et aux fluctuations de la température alors que les gouttes issues des miniémulsions restent stables dans ces conditions de stress [63].

I.5.2 Formulation des miniémulsions

Une simple agitation magnétique n'est pas suffisante pour former des miniémulsions : on utilise généralement des homogénéisateurs haute pression ou des ultrasons afin d'apporter suffisamment d'énergie (forts cisaillements) pour créer de fines gouttelettes. La Figure I-22 est un schéma représentatif de la formation d'une miniémulsion par action des ultrasons. Après sonication, les gouttes produites sont polydisperses et diminuent pour former de fines gouttes à partir d'une macroémulsion, suite à l'utilisation des ultrasons [59, 64, 65]. La taille d'équilibre des gouttes va dépendre du temps de sonication et de la viscosité des phases.

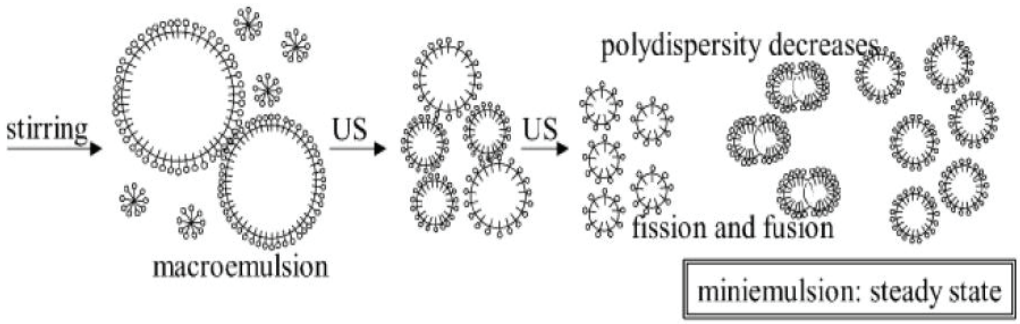

Figure I-22 : Formation d'une miniémulsion par action des ultrasons [66].

Les tensioactifs sont utilisés pour stabiliser les miniémulsions en limitant la coalescence des gouttes. L'importante aire interfaciale de ces systèmes exige une grande quantité de tensioactif adsorbée pour les stabiliser. Ainsi, après l'étape d'émulsification, une faible quantité de tensioactif peut être libre et disponible pour former des micelles même à des concentrations bien au-dessus de la concentration micellaire critique (CMC) [67]. La tension de surface d'une miniémulsion, de gouttes de taille supérieure à 100 nm, est proche de celle de l'eau pure (72 $mN.m^{-1}$), ce qui indique que l'aire de l'interface est suffisamment grande pour que l'équilibre d'adsorption du tensioactif entraîne une faible concentration de tensioactif en solution et l'absence de micelles [68].

Cependant, les tensioactifs n'empêchent pas les différences de pression de Laplace (dû aux différences entre les tailles de gouttes) qui conduisent au phénomène de mûrissement d'Ostwald. C'est l'ajout d'un additif ultra hydrophobe insoluble dans la phase continue qui ralentit ce phénomène [59, 63, 69]. En effet, l'additif choisi est piégé dans les gouttelettes et limite la diffusion d'une gouttelette à une autre. De nombreux composés ultra hydrophobes peuvent être employés pour la formulation des miniémulsions : l'héxadécane [70, 71] est souvent utilisé, mais aussi d'autres alcanes ou des alcools à longues chaines hydrophobes.

Les miniémulsions ne sont pas des systèmes thermodynamiquement stables comme les microémulsions, mais sont considérées comme métastables [72, 73]. En réponse au cahier de charges qui exige la synthèse de nanoparticules monodisperses possédant des charges de surface pour faire de l'électrochromatographie dans des microsystèmes plastiques, nous nous sommes intéressés aux procédés de polymérisation radicalaire en microémulsion et en miniémulsion.

I.6 Polymérisation radicalaire en émulsion

De façon générale, la polymérisation radicalaire en émulsion est un processus en trois étapes (Figure I-23).

La première étape (I) est dite nucléation de particules. Elle constitue un taux de conversion de monomère en polymère entre 0 et 10 %. Après amorçage de la phase aqueuse, le nombre de particules augmente ainsi que la vitesse de polymérisation qui croît jusqu'à la disparition des micelles de tensioactifs. On distingue plusieurs types de nucléations. La nucléation micellaire qui a lieu pour des concentrations en tensioactif supérieures à la concentration micellaire critique (CMC) ou lorsque le monomère présente une faible solubilité dans la phase aqueuse. Les oligoradicaux hydrosolubles issus de la propagation en phase aqueuse peuvent entrer dans les micelles et créer une nouvelle particule ou ils peuvent entrer dans des particules pré-existantes. La nucléation homogène est déclenchée pour toute concentration en tensioactif et quand le monomère présente une solubilité négligeable dans la phase aqueuse. Les oligoradicaux hydrosolubles forment des particules primaires dites *nuclei*, instables. Elles grossissent par gonflement avec le monomère, puis polymérisation, ou par floculation avec d'autres *nuclei.* Une nucléation est dite coagulative lorsque la formation de *nuclei* par un des deux mécanismes déja cités se produit avec une augmentation du nombre de particules par hétérocoagulation avec les précurseurs, ce qui ralentit la production de particules. Un autre phénomène de nucléation a lieu lorsque les radicaux sont capturés par les gouttelettes de monomère. Ce phénomène déstabilise la dispersion. Les techniques de mini et micro-émuslion tirent profit de ce phénomène en diminuant le diamètre des gouttelettes par ultrasonification ou très fort cisaillement. Ainsi, la surface spécifique des gouttelettes augmente ce qui favorise la capture des radicaux [74].

Une deuxième étape de croissance (II) permet la polymérisation dans les particules gonflées de monomère. Le nombre de particules ainsi que la vitesse de polymérisation sont constants. L'approvisionnement en monomère par diffusion de gouttelettes à

travers la phase aqueuse assure la croissance de nanoparticules. La concentration en monomère, est constante, due à la présence de gouttelettes « réservoirs » du monomère qui alimente les particules. Cet intervalle prend fin lorsque les gouttelettes « réservoirs » du monomère ont disparu.

L'étape III de fin de la polymérisation intervient à partir de taux de conversion entre 70 et 80 %. La concentration en monomère dans les particules commence à diminuer et entraîne la chute de la vitesse de polymérisation. Dans cet intervalle, un effet gel peut apparaître [74].

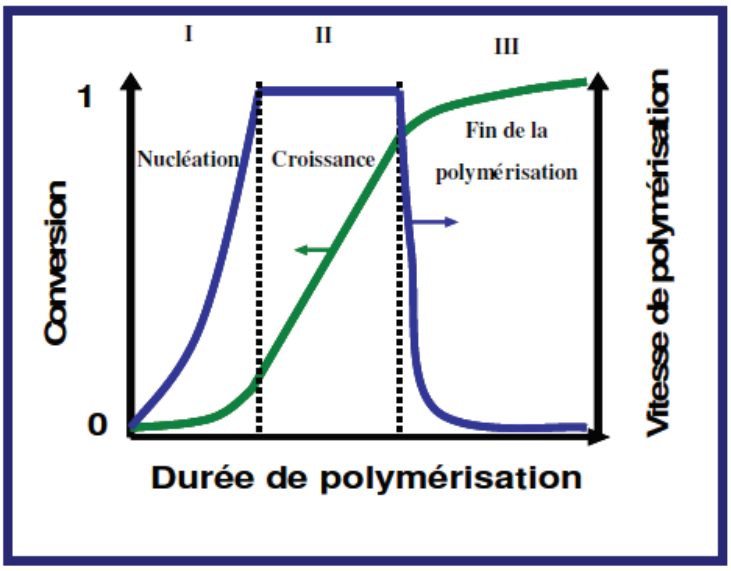

Figure I-23 : Allure des courbes de conversion et de vitesse de polymérisation au cours du temps pour une polymérisation en émulsion [74].

I.6.1 Polymérisation radicalaire en microémulsion

La polymérisation radicalaire en microémulsion est déclenchée selon deux mécanismes de nucléation : la nucléation micellaire et la nucléation homogène. Selon les conditions opératoires, on peut favoriser l'un ou l'autre de ces mécanismes.

Larpent *et al.* [75] décrivent la préparation de microlatex à partir d'une microémulsion de monomère (styrène, méthylmétacrylate ou vinyl acétate). L'émulsion huile dans l'eau est stabilisée par un tensioactif (lauryl sulfate de sodium, dodécyl benzène sulfonate de sodium ou dioctyl sulphosuccinate). Trois méthodes différentes de polymérisation en microémulsion ont été comparées :

- **La polymérisation thermique**

Généralement, la polymérisation thermique des microémulsions est la voie la plus utilisée [76-80]. La polymérisation thermique peut s'initier en présence d'un amorceur soluble dans l'eau tel le persulfate de potassium (KPS), l'azobis-2-méthyl dichlorure propamidinium (AMP) ou d'un amorceur soluble dans la phase huileuse tel l'azobisisobutyronitrile (AIBN) à des températures supérieures à 60° C [75]. Ces températures peuvent cependant provoquer la déstabilisation de la microémulsion.

Norakankorn *et al.* [79] décrivent la polymérisation de nanoparticules de poly(méthylméthacrylate) (PMMA) en présence d'AIBN comme amorceur et SDS (dodécyl sulfate de sodium) comme tensioactif. La polymérisation est amorcée à une température de 70 ° C et sous une agitation constante de 200 tour/min. Comparé aux expériences de He *et al*. [81], le co-tensioactif 1-pentanol n'a pas été utilisé et l'AIBN est utilisé comme amorceur à la place de l'APS (persulfate d'ammonium). L'AIBN étant un amorceur soluble dans la phase huileuse, alors que l'APS est un amorceur soluble dans la phase aqueuse, ceci influence le mécanisme de nucléation. Avec l'AIBN, la concentration des radicaux générés dans la phase aqueuse est plus faible que celle dans la phase organique (du monomère). Par conséquent, la nucléation hétérogène est favorisée alors que dans le cas de l'étude de He *et al.*.[81], c'est la nucléation homogène qui prédomine.

Plusieurs facteurs peuvent influencer la taille des nanoparticules résultant d'une polymérisation radicalaire en microémulsion : la nature ainsi que la concentration du tensioactif, de l'amorceur et du monomère.

Capek *et al.* [80] ont étudié la polymérisation en microémulsion de différents monomères acrylates : éthyl acrylate (EA), butyl acrylate (BA), hexyl acrylate (HA), 2-éthylhexyl acrylate (EHA) avec du persulfate d'ammonium (APS) comme amorceur thermique et le sodium dodécyl sulfate (SDS) comme tensioactif. Le diamètre des particules varie avec le taux de conversion et le monomère (Figure I-24).

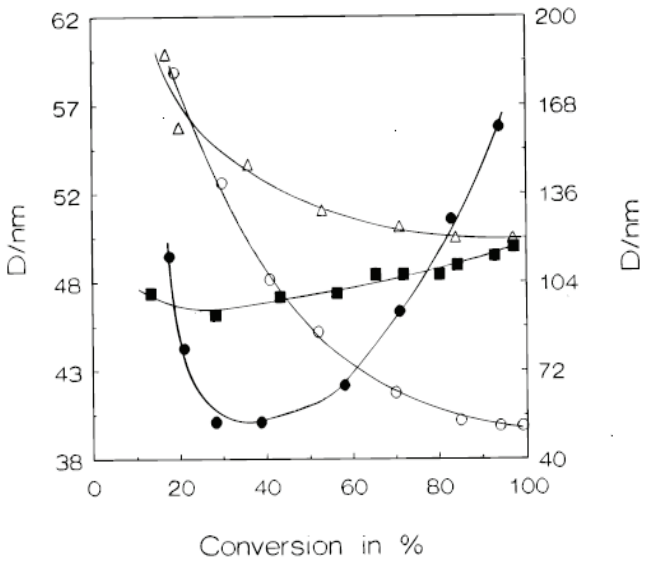

Figure I-24 : Variation du diamètre des particules (D) dans la microémulsion des alkyles acrylates initiés par APS avec taux de conversion et les alkyles acrylates. Monomères : EA ●, BA ■, HA △, EHA ○[80].

Pour des faibles taux de conversion (10 % et 20 %), le diamètre des particules varie dans l'ordre suivant : 200 nm (EHA) > 60 nm (HA) > 50 nm (EA) > 46 nm (BA) (Figure I-24).

En 1998, Ming *et al.* [77] ont synthétisé des nanolatex de poly(méthylméthacrylate) PMMA. Ils ont étudié l'influence des concentrations en monomère (MMA), en tensioactif (bromure de dodécyl triméthylammonium (DTAB)) et en amorceur (persulfate de potassium (KPS)) ainsi que de la température de polymérisation sur les diamètres en nombre et en volume des particules (Figure I-25).

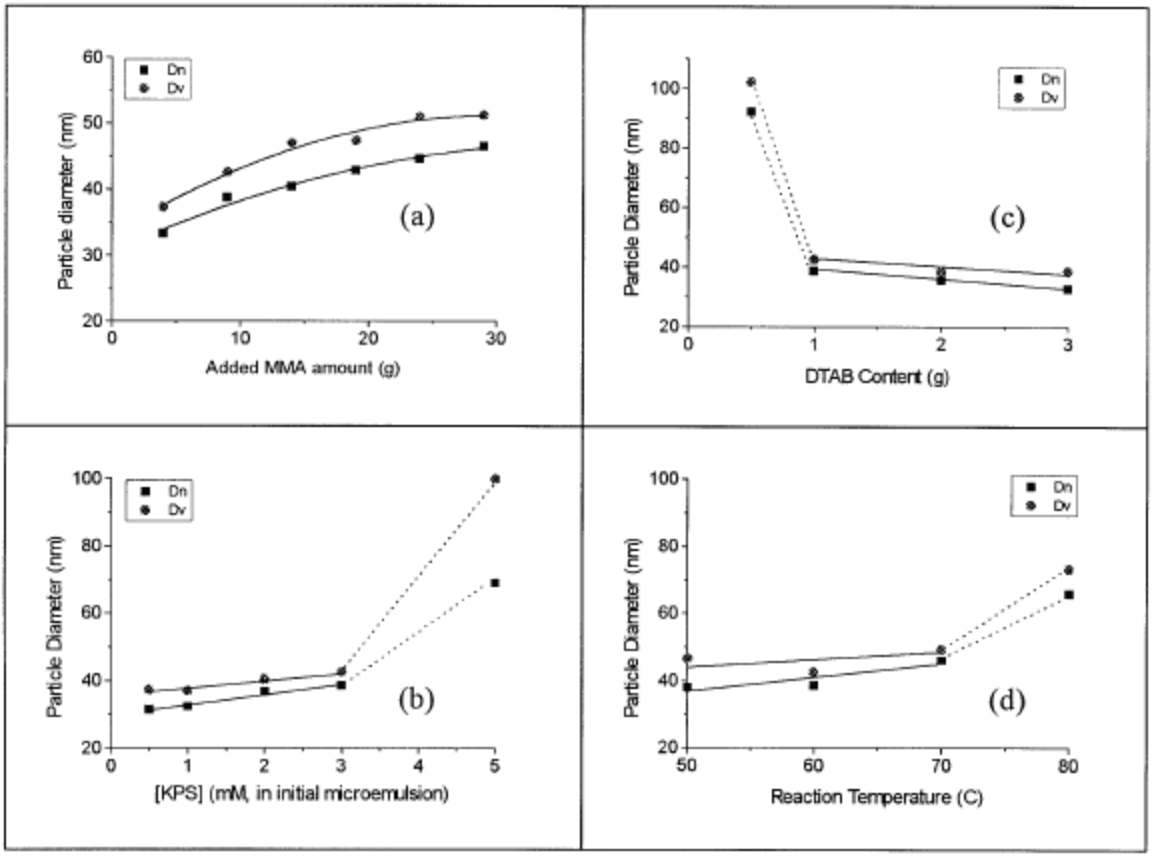

Figure I-25 : Evolution des diamètres en nombre D_n et en volume D_v des particules de PMMA en fonction : **(a)** de la quantité de monomère MMA, **(b)** de la concentration de KPS, **(c)** de la teneur en DTAB, **(d)** et de la température de la réaction [77].

La Figure I-25 (a) montre des diamètres de nanoparticules qui augmentent de 33 nm à 46 nm pour une quantité de MMA qui varie de 4 g à 29 g. Le PDI reste monodisperse aux alentours de 1.1. La Figure I-25 (b) montre que l'augmentation de la quantité du KPS de 0.5 mmol/L à 3 mmol/L entraîne une légère augmentation des diamètres, les particules restant monodisperses. A 5 mmol/L de KPS, le diamètre des nanoparticules croît fortement et la suspension devient trouble du fait de l'agrégation des particules. Les auteurs expliquent ce phénomène par le fait que, à fortes concentrations en amorceurs, la nucléation est très rapide et donc, le nombre de petites particules contenant du polymère est très grand. Cette grande aire interfaciale ne peut plus être suffisamment stabilisée avec 1 % wt. de DTAB. L'influence de la quantité de DTAB est illustrée dans la Figure I-25 (c). La teneur en MMA est fixée à 2 g alors que celle du DTAB varie entre 0.5 g et 3 g. La taille des particules augmente lorsque la quantité en DTAB diminue. Pour 0.5 g, les diamètres sont larges car la quantité de tensioactif est insuffisante pour protéger les particules PMMA de l'agrégation. A partir de 1 g de DTAB, la suspension est stable. Enfin, le rapport D_n/D_v diminue quand la température

augmente de 50°C à 70°C (Figure I-25 (d)). A 80°C, les particules de latex deviennent plus larges : une explication proposée est qu'à 80°C la concentration en petites particules initiées est trop importante par rapport à la quantité de tensioactif disponible pour les stabiliser (situation similaire au cas des fortes concentrations en amorceur).

En 2003, He *et al.* [81] montrent l'influence de la quantité de SDS sur le diamètre moyen de particules PMMA synthétisées par voie thermique, en présence du persulfate d'ammonium APS comme amorceur. Plus la quantité du tensioactif est élevée, plus les tailles des particules résultantes sont petites. Par ailleurs, l'addition du monomère MMA à forte concentration forme des particules plus larges. Une addition de MMA en plusieurs fractions permet de diminuer la taille des particules avec le nombre de fractions, et former des particules plus petites.

La nature de l'amorceur influence également la taille des nanoparticules. Hu *et al.* [82] ont synthétisé des particules de styrène stabilisées avec du bromure de cétyltriméthylammonium (CTAB) par polymérisation photochimique. Ils ont démontré l'influence de deux types d'amorceurs photochimiques 2-hydroxy-1-[4-(2-hydroxyéthoxy)phényl]-2-méthyl-1-propanone (HHPMP) et le 2,2-diméthoxy-2-phénylacétophénone (BDK) et d'un amorceur thermique potassium peroxydisulfate (KPS) sur le diamètre des particules et l'aspect des microémulsions avant et après polymérisation.

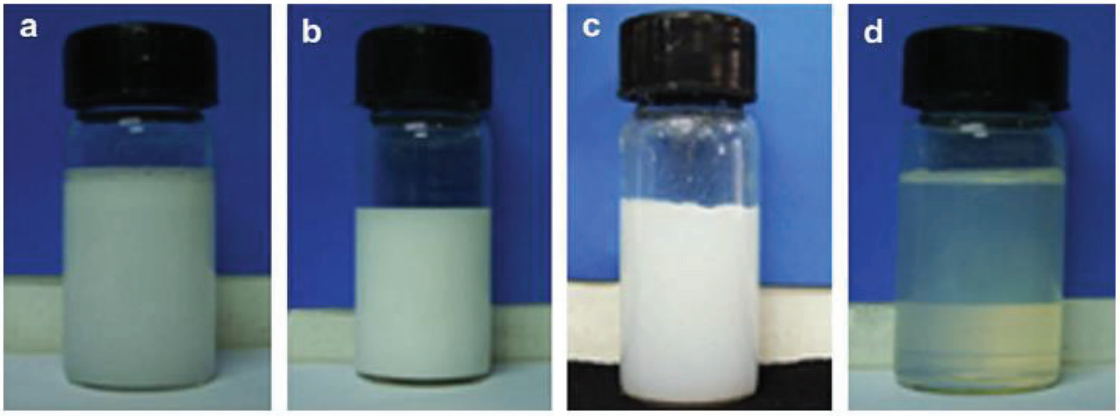

Figure I-26 : Photos (a) émulsion de styrène avant polymérisation, (b) suspension de particules de polystyrène synthétisées thermiquement avec le KPS et pour une concentration de 1% wt. en CTAB, (c) suspension de particules de polystyrène synthétisées photochimiquement avec le BDK et pour une concentration de 4% wt. en CTAB, (d) suspension de particules de synthétisées photochimiquement avec le HHPMP et pour une concentration de 4% wt. en CTAB [82].

La Figure I-26 montre l'aspect de la microémulsion de styrène avant et après polymérisation pour les trois types d'amorceur s. La polymérisation thermique avec le KPS conduit à une suspension opaque et les mesures TEM (microscopie électronique à transmission) indiquent des tailles de particules de styrène de 90 nm (Figure I-26 (b)). Pour les polymérisations initiées par voie photochimique avec le BDK, un amorceur soluble dans la phase huileuse, les suspensions de latex obtenues ont une taille moyenne de 60 nm et sont opaques (Figure I-26 (c)) alors qu'avec le HHPMP, amorceur soluble dans l'eau, elles sont transparentes et leur taille moyenne est de 28 nm (Figure I-26 (d)). L'utilisation d'un amorceur soluble dans l'eau, qui contient des groupements hydroxyles, permet donc la formation de nanolatex de polystyrène transparents (de petite taille).

- **La polymérisation induite chimiquement**

Ce type de polymérisation utilise un système rédox de péroxyde d'hydrogène et d'acide ascorbique à des températures inférieures aux températures de déstabilisation des gouttes, ce qui limite la croissance des particules. Par conséquent, cette voie de polymérisation conduit à la synthèse de nano latex de petite taille comprise entre 18 nm et 24 nm, ce qui est deux à trois fois plus grand que la taille moyenne des gouttes initiales de microémulsion. Ce phénomène s'explique par la coalescence des gouttes de microémulsion durant le processus de polymérisation. Ci-dessous la Figure I-27 montre l'exemple de particules de styrène.

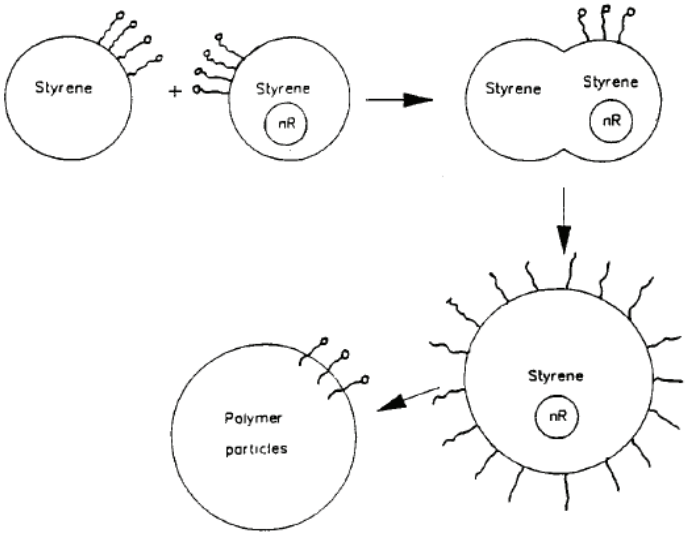

Figure I-27 : Formation de gouttelettes de microémulsion par collision et coalescence de deux ou trois gouttes [75].

Afin de surmonter les problèmes de collisions et coalescence, une alternative à cette voie de polymérisation est la polymérisation photochimique [61, 62, 82-87].

- **La polymérisation photochimique**

Larpent *et al.* [75] continuent par décrire la voie de polymérisation par irradiation UV à température ambiante en présence d'un amorceur photochimique tel que le persulfate de potassium $K_2SO_2O_8$, l'AMP ou l'AIBN. Dans ce cas, la distribution de taille des nanolatex est fine, la taille étant comprise entre 23 nm et 63 nm [75].

Capek *et al*. [84, 86] ont reporté des études sur la photopolymérisation des microémulsions huile dans l'eau (H/E) avec des monomères acrylates : butyl acrylate (BA), éthyl acrylate (EA) et méthyl méthacrylate (MMA). La polymérisation se fait sous irradiation UV à 365 nm et aboutit à la formation de particules de taille comprise entre 30 nm et 50 nm. Ils ont étudié les effets des conditions expérimentales de la réaction et la présence d'additifs sur la vitesse de la polymérisation, sur la taille des particules et sur le taux de conversion. La vitesse de la réaction est proportionnelle à la concentration en monomère et en tensioactif et également au taux de conversion. Kuo *et al.* [83] ont approfondi la photopolymérisation de microémulsion pour synthétiser des nanoparticules de styrène. La polymérisation a lieu principalement dans les gouttes de monomère. Ils ont montré que la vitesse de polymérisation est dépendante de la concentration en amorceur et de l'intensité d'irradiation de la réaction. David *et al.* [61] ont également synthétisé des nanoparticules méthacrylate issues d'une microémulsion stabilisée par du tensioactif SDS et de macromonomères de poly(N-acétyléthylénimine) (PNAEI) comme co-tensioactif et co-monomère. Les tailles des nanoparticules résultantes sont comprises entre 17 nm et 200 nm avec un taux de polymérisation de 75 % à 85 %. Une diminution de la concentration en SDS montre une augmentation de taille des nanoparticules. L'ajout de macromonomère PNAEI permet l'obtention de particules de copolymères de diamètre inférieur à 10 nm et 12 nm, ce qu'on n'arrive pas à atteindre avec le SDS seul. Un rapport SDS/monomère inférieur à 1 permet la formation d'une microémulsion, mais cela est possible à cause de l'effet co-tensioactif du PNAEI (Tableau I-1).

Tableau I-1 : Diamètre moyen des nanoparticules P (MMA/BMA)- PNAEI

Experiment no.	PNAEI Conc. (g/ml)	SDS Conc. (g/ml)	SDS/Monomer weight ratio	D_n (nm)	D_w (nm)	SDI
1	0.002	0.010	0.40	17	20.5	1.20
2	0.002	0.006	0.24	27	30	1.11
3	0.002	0.002	0.08	50	56	1.12
4	0.002	0.0	0.0	200	225	1.12
5	0.004	0.002	0.08	40	45	1.12

avec D_n : diamètre moyen en nombre, D_w : diamètre moyen en poids, et SDI est l'indice de polydispersité qui est égale au rapport D_w/D_n..

En 2009, Hu *et al.* [82] ont discuté l'influence de la quantité de CTAB sur la photopolymérisation d'une microémulsion styrène. Le taux de conversion est supérieur à 90 % pour une polymérisation d'une à deux heures avec une taille de particules comprise entre 20 nm et 40 nm. La concentration en CTAB influence le taux de conversion ainsi que la vitesse de polymérisation pour une concentration fixe en amorceur de 20 mM et sous une intensité d'irradiation de 8000 µW/cm^2 (Figure I-28).

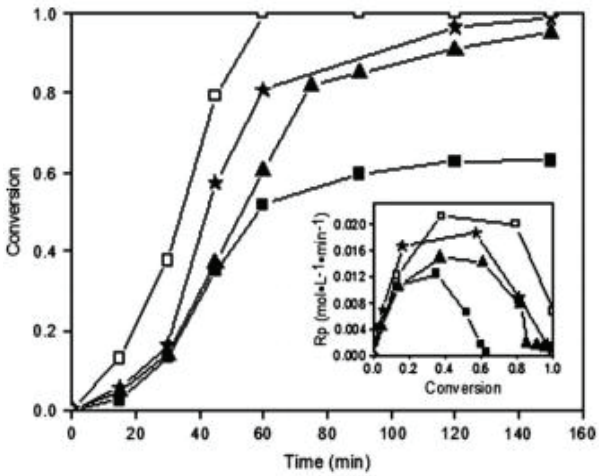

Figure I-28 : Effet de la concentration du CTAB sur le taux de conversion et la vitesse de polymérisation : 0.3 % wt.(■), 0.4 % wt. (▲), 0.5 % wt. (★), et 0.6 % wt.(□). St: 5 g, HHPMP (2-hydroxy-1-[4-(2-hydroxyethoxy)phenyl]-2-methyl-1-propanone) : 20 mM, intensité d'irradiation: 8000 µW/cm^2 [82].

Pour une concentration de 0.6 % wt. CTAB, une conversion complète est obtenue après 1h, alors qu'elle est incomplète (taux de conversion de 60 %) pour 0.3 % wt. de CTAB.

La vitesse de polymérisation diminue à partir d'une conversion de 40 %. Cette diminution est expliquée par la consommation totale du tensioactif.

Pour des fortes concentrations en CTAB, la vitesse de polymérisation augmente. Cela est attribué aux variations en nombre de *loci,* c'est-à-dire, en nombre de gouttes de monomère disponibles pour initier une nucléation homogène. Une concentration élevée en tensioactif génère plus de micelles qui sont converties en particules. Par conséquent, la vitesse de polymérisation augmente.

Les résultats de l'influence de l'intensité d'irradiation sur la vitesse de la polymérisation de nano-latex de polystyrène et sur le taux de conversion sont montrés dans la Figure I-29 ci-dessous [82].

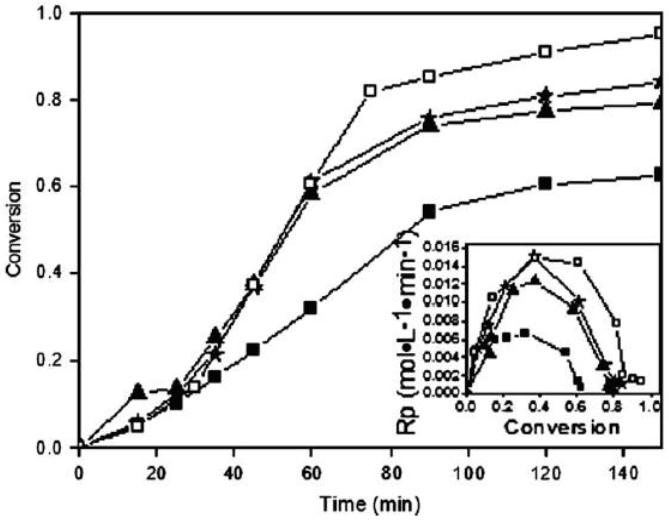

Figure I-29 : Effet de l'intensité d'irradiation sur le taux de conversion et la vitesse de polymérisation : 1300 µW/cm^2 (■), 3000 µW/cm^2 (▲), 5000 µW/cm^2 (★), et 8000 µW/cm^2 (□). St: 5 g, HHPMP (2-hydroxy-1-[4-(2-hydroxyéthoxy)phényl]-2-methyl-1-propanone) : 20 mM, CTAB : 0.4 % wt. [82].

La vitesse de polymérisation augmente avec l'intensité d'irradiation. Pour une intensité de 1300 µW/cm^2, le taux de conversion après 150 min est de 63 %, alors que pour une intensité de 8000 µW/cm^2 le taux de conversion est supérieur à 95%. Cette variation est moins remarquable pour des intensités au-dessus de 3000 µW/cm^2. Les résultats sont facilement interprétables. Pour une concentration fixe en amorceur, plus l'intensité d'irradiation est importante, plus le flux de radicaux primaires est élevé [81] et par conséquent la vitesse de la polymérisation augmente.

L'augmentation de l'intensité d'irradiation aboutit à une nucléation rapide qui est responsable de la formation d'un grand nombre de *loci.* Par conséquent, les particules résultantes deviennent plus petites. La variation de l'intensité d'irradiation de

1300 μW/cm^2 à 8000 μW/cm^2 entraîne une diminution de taille des latex de 43 nm à 28 nm. Ces résultats montrent le rôle important de l'intensité d'irradiation dans la préparation des nano latex transparents puisque seul un flux de radicaux élevé peut générer un nombre important de *loci* dans le but d'obtenir des petites particules.

I.6.2 Polymérisation radicalaire en miniémulsions

Idéalement, la polymérisation de la miniémulsion doit être conduite en l'absence de micelles et sans nucléation homogène. La nucléation au sein des gouttes devient l'unique processus de nucléation de particules pour qu'un ratio de 1:1 de gouttes en particules survienne [72]. Ainsi, dans une miniémulsion optimale, les micelles de tensioactif s'épuisent car les molécules de tensioactifs sont utilisées pour stabiliser l'importante surface des gouttes [67, 69].

La nucléation de particules commence lorsqu'un radical formé dans la phase aqueuse se propage et entre dans une goutte de monomère. Le tensioactif libre est alors disponible pour stabiliser les particules formées. L'amorceur peut être hydro ou organosoluble. La polymérisation se produisant dans la goutte préformée, une miniémulsion permet idéalement d'obtenir des particules de même taille et de même nombre que les gouttes dont elles sont issues (Figure I-30).

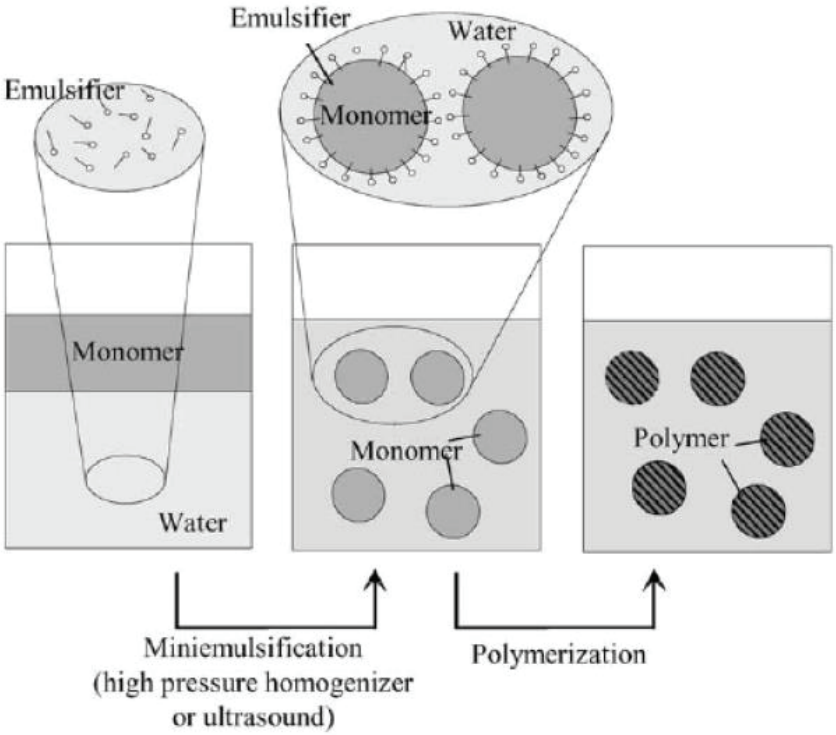

Figure I-30 : Principe de la polymérisation en miniémulsion [66].

La polymérisation des miniémulsions par voie thermique est la voie la plus connue [67, 88]. Soit l'exemple de particules polymériques hybrides de polyester/polystyrène par polymérisation de miniémulsion. Une formulation stabilisée par du lauryl sulfate de sodium SLS et polymérisée à 70 °C sous 500 tour/min [59]. Les polymérisations thermiques nécessitent des heures de production de nanoparticules tel l'exemple de la synthèse des nanoparticules de méthylméthacrylate et de butyl méthacrylate issues d'une microémulsion stabilisée par le dodécyl sulfate de sodium SDS. La synthèse est initiée, en présence du persulfate de potassium KPS, par une polymérisation thermique à 75 °C pendant 6h [60].

La photopolymérisation est une voie alternative de synthèse [61, 70, 71, 84-87, 89-91]. Chemtob *et al.* [70] réalisent la synthèse de nanoparticules issues d'une photopolymérisation de miniémulsion de différents acrylates BA/MMA/AA en présence du tensioactif anionique le Dowfax 2A1, l'hexadécane comme co-stabilisant et le biphosphine oxide phényl bis (2,4,6-triméthyl benzoyl) (BAPO). Leur étude consiste à suivre la variation du taux de conversion de différents monomères en fonction du temps d'irradiation (Figure I-31).

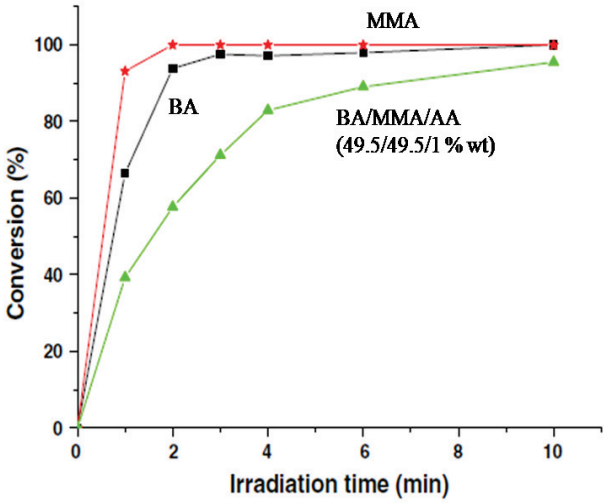

Figure I-31 : Les courbes du taux de conversion en fonction du temps d'irradiation mesuré par gravimétrie de la photopolymérisation de la miniémulsion. Dowfax 2A1 : 3 % wt, Hexadécane : 4 % wt.. [BAPO] : 4 % wt., ϕ : 10 % wt. [70].

Pour le MMA et le BA, le taux de conversion maximal est atteint en 3 min, alors que pour le mélange de monomères BA/MMA/AA la vitesse de réaction est plus lente, et le taux de conversion maximal est atteint après 10 min d'irradiation. Ces résultats sont comparables avec ce qu'on peut obtenir dans d'autres conditions d'irradiation avec une

polymérisation d'une microémulsion [61, 92] qui nécessite des heures pour atteindre ce taux de conversion.

De plus, la concentration de la phase organique influence la cinétique de la réaction et également la taille des nanoparticules résultantes (Figure I-32). Moins de 50 % des monomères sont convertis après 10 min d'irradiation pour la phase organique de 30 % wt., par contre 96 % des monomères sont convertis, pour la même durée, pour 10 % wt. de phase organique. Comme prévu, la taille des nanoparticules augmente avec la phase organique formant de larges particules.

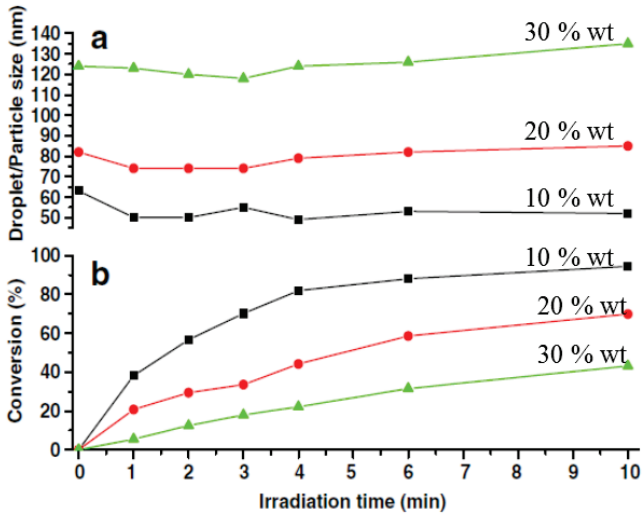

Figure I-32 : Effet de la concentration de la phase organique sur la cinétique de la réaction (a) et sur le diamètre des particules issues de la photopolymérisation de mélange de monomères BA/MMA/AA (49.5/49.5/1 % wt.) (b). Dowfax 2A1 : 3 % wt, Hexadécane : 4 %wt. [BAPO] : 4 %wt., ϕ : 10 % wt.., 20 % wt.., 30 % wt.. [70].

Pablo *et al.* [71] montrent la faisabilité d'une synthèse photochimique de particules d'acrylate sans amorceur par la lampe Hg-Xe conventionnelle dans un milieu aqueux en ajoutant un tensioactif approprié et un co-stabilisant dans la phase huileuse. La polymérisation est déclenchée par une auto-initiation d'un monomère (mélange d'acrylate BA/MAA/AA, 49.5/49.5/1 % wt.) ou d'un tensioactif (le Dowfax 2A1 1.5 % wt. - 3% wt. ou SDS 1.5 % wt.) (% wt. par rapport à l'eau).

A partir d'une réaction de photopolymérisation radicalaire en micro ou en miniémulsion, on envisage de synthétiser des nanoparticules d'hexyl acrylate sur un substrat en copolymère d'oléfine cyclique COC. Les travaux de Wang *et al*. [93-95] montrent la faisabilité de l'ancrage des nanoparticules sur des supports polymériques.

I.7 Synthèse photochimique de nanoparticules sur des substrats polymériques

A partir d'une microémulsion opaque, Wang *et al*. [93] ont réussi la synthèse photochimique de nanoparticules de méthyl méthacrylate/1,2-divinylbenzène (MMA/DVB, rapport molaire de 30:1) de taille comprise entre 30 nm et 50 nm, ancrées sur un support en polypropylène. La microémulsion est stabilisée avec du CTAB à 30 % wt. par rapport à la concentration de monomères. Le processus de polymérisation sur le film de polypropylène se fait en deux étapes comme illustré dans la Figure I-33.

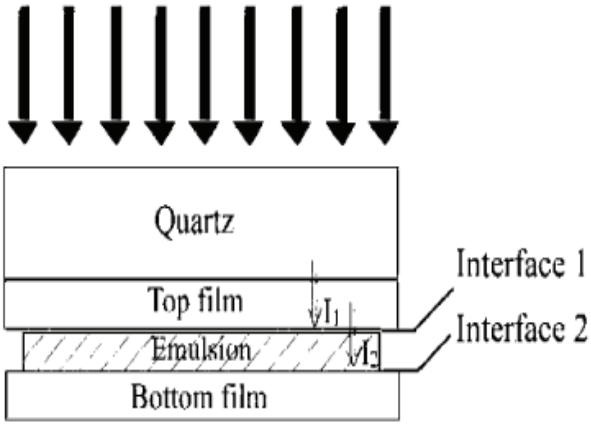

Figure I-33 : Schéma du photogreffage. I_1 est l'intensité d'irradiation de l'interface 1 et I_2 est celle de l'interface 2 [93].

Une première étape consiste à irradier l'amorceur qui est la benzophénone BP pour former des radicaux libres à la surface et permettre l'ancrage des nanoparticules résultant de l'irradiation de la microémulsion. L'épaisseur de la surface greffée est calculée à partir de la relation du taux du greffage et varie de 90 nm à 1.5 µm. Le film de la surface est bien collé pour former de multicouches de nanoparticules. L'épaisseur du greffage est considérée trop importante (1.5 µm) pour former une monocouche de particules et observer leur croissance à la surface. Pour cela, en 2005, Wang *et al*. [94] ont surmonté cette difficulté par une photopolymérisation d'une microémulsion de MMA/DVB (rapport molaire de 20:1) thermodynamiquement stable en présence du CTAB (9 % wt. par rapport à la concentration de monomères). Le greffage d'une monocouche, par deux étapes de polymérisation, forme une monocouche de particules de 60 nm de diamètre, sur la surface du polypropylène. Les morphologies MEB sont illustrées en Figure I-34.

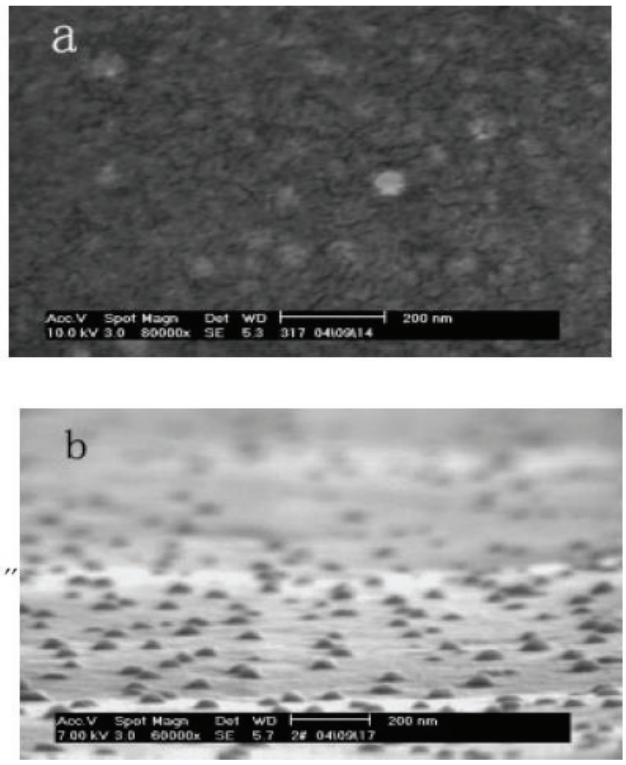

Figure I-34 : Images MEB à la surface du polypropylène. Photogreffage en deux étapes. Concentration en MMA 20 % wt. [94].

La formation de la monocouche est contrôlable avec une croissance de nanoparticules à la surface du polypropylène. La benzophénone est un amorceur qui permet la génération de groupes dormants à la surface du substrat, favorisant la croissance de multicouches. Ce processus sera détaillé dans le chapitre II.

I.8 Conclusion

L'objectif de l'étude est de synthétiser une phase stationnaire de nanoparticules (de taille moyenne inférieure à 200 nm) dans des microsystèmes en copolymère d'oléfine cyclique (COC) pour faire de l'électrochromatographie. La taille visée pour les nanoparticules devrait permettre d'améliorer les performances chromatographiques.

Suite à l'état de l'art sur les microsystèmes et les émulsions, nous avons choisi de tester les procédés de polymérisation radicalaire en microémulsion et en miniémulsion par voie photochimique, qui sont adaptés à une synthèse de nanoparticules *in-situ* dans des systèmes fermés tels que les microsystèmes plastiques (COC). Ce type de procédé peut être réalisé en quelques minutes à température ambiante, et sans agitation. Par conséquent, le chapitre II présentera les essais préliminaires réalisés dans ce cadre, associés à différentes voies d'ancrage des nanoparticules sur des surfaces COC.

Références bibliographiques

1. Knox, J.H. and M. Saleem, *Kinetic Conditions for Optimum Speed and Resolution in Column Chromatography.* Journal of Chromatographic Science, 1969. **7**(10): p. 614-622.
2. Knox, J.H., *Practical Aspects of LC Theory.* Journal of Chromatographic Science, 1977. **15**(9): p. 352-364.
3. Desmet, G., D. Clicq, and P. Gzil, *Geometry-Independent Plate Height Representation Methods for the Direct Comparison of the Kinetic Performance of LC Supports with a Different Size or Morphology.* Analytical Chemistry, 2005. **77**(13): p. 4058-4070.
4. Nguyen, D.T.T., et al., *Chromatographic behaviour and comparison of column packed with sub-2 µm stationary phases in liquid chromatography.* Journal of Chromatography A, 2006. **1128**(1–2): p. 105-113.
5. Cabooter, D., et al., *Kinetic plot and particle size distribution analysis to discuss the performance limits of sub-2 µm and supra-2 µm particle columns.* Journal of Chromatography A, 2008. **1204**(1): p. 1-10.
6. D'Orazio, G., A. Rocco, and S. Fanali, *Fast-liquid chromatography using columns of different internal diameters packed with sub-2 µm silica particles.* Journal of Chromatography A, 2012. **1228**: p. 213-220.
7. Wang, Y., et al., *Sub-2 µm porous silica materials for enhanced separation performance in liquid chromatography.* Journal of Chromatography A, 2012. **1228**: p. 99-109.
8. Dong, M.W., *Modern HPLC for Practicing Scientists*. 2006 A John Wiley and Sons, Inc.
9. Nguyen, D.T.T., et al., *Fast analysis in liquid chromatography using small particle size and high pressure.* Journal of Separation Science, 2006. **29**(12): p. 1836-1848.
10. Gusev, I., X. Huang, and C. Horváth, *Capillary columns with in situ formed porous monolithic packing for micro high-performance liquid chromatography and capillary electrochromatography.* Journal of Chromatography A, 1999. **855**(1): p. 273-290.
11. Li, H.-F. and J.-M. Lin, *Applications of microfluidic systems in environmental analysis.* Analytical and Bioanalytical Chemistry, 2009. **393**(2): p. 555-567.
12. D. J. Harrison, K.F., K. Seiler et al., *Micromachining a miniaturized capillary electrophoresis-based chemical analysis system on a chip.* Science, 1993. **261**: p. 895-897.
13. M. Blas, N.D.-B., J.L. Rocca, *Microsystèmes lab-on-chip et séparations de type chromatographique.* 2005. **246**: p. 17-28.
14. Li, C., et al., *Isoelectric focusing in cyclic olefin copolymer microfluidic channels coated by polyacrylamide using a UV photografting method.* Electrophoresis, 2005. **26**(9): p. 1800-6.
15. Rohr, T., et al., *Surface Functionalization of Thermoplastic Polymers for the Fabrication of Microfluidic Devices by Photoinitiated Grafting.* Advanced Functional Materials, 2003. **13**(4): p. 264-270.
16. *http://www.microfluidic-chipshop.com*.

17. Wu, D., J. Qin, and B. Lin, *Electrophoretic separations on microfluidic chips.* Journal of Chromatography A, 2008. **1184**(1–2): p. 542-559.
18. Dolnik, V. and S. Liu, *Applications of capillary electrophoresis on microchip.* Journal of Separation Science, 2005. **28**(15): p. 1994-2009.
19. Wheeler, T.D., et al., *Microchip Zone Electrophoresis for High-Throughput Analysis of Monoclonal Antibody Charge Variants.* Analytical Chemistry, 2014. **86**(11): p. 5416-5424.
20. Jasmina Gubić, J.T., Aleksandra Torbica, and T.T. Mirela Iličić, Ljubiša Šarić, Sanja Popović, *Characterization of several milk proteins in domestic balkan donkey breed during lactation, using lab-on-a-chip capillary electrophoresis*. Chemical Industry and Chemical Engineering Quarterly 2016 OnLine-First Issue DOI:10.2298/CICEQ150105013G.
21. Blas, J.M., *Développement de microsystèmes séparatifs: mise en place de techniques séparatives électrocinétiques et applications au domaine de la santé, Thèse*. 2006, Université Claude Bernard Lyon 1.
22. Kitagawa, F. and K. Otsuka, *Micellar electrokinetic chromatography on microchips.* Journal of Separation Science, 2008. **31**(5): p. 794-802.
23. Caulum, M.M., et al., *Detection of Cardiac Biomarkers Using Micellar Electrokinetic Chromatography and a Cleavable Tag Immunoassay.* Analytical Chemistry, 2007. **79**(14): p. 5249-5256.
24. Culbertson, C.T., S.C. Jacobson, and J.M. Ramsey, *Microchip Devices for High-Efficiency Separations.* Analytical Chemistry, 2000. **72**(23): p. 5814-5819.
25. Ramsey, J.D., et al., *High-Efficiency, Two-Dimensional Separations of Protein Digests on Microfluidic Devices.* Analytical Chemistry, 2003. **75**(15): p. 3758-3764.
26. Jorgenson, J.W. and K.D. Lukacs, *High-resolution separations based on electrophoresis and electroosmosis.* Journal of Chromatography A, 1981. **218**: p. 209-216.
27. Knox, J.H. and I.H. Grant, *Miniaturisation in pressure and electroendosmotically driven liquid chromatography: Some theoretical considerations.* Chromatographia, 1987. **24**(1): p. 135-143.
28. Kato, M., et al., *Femto Liquid Chromatography with Attoliter Sample Separation in the Extended Nanospace Channel.* Analytical Chemistry, 2010. **82**(2): p. 543-547.
29. He, B. and F. Regnier, *Microfabricated liquid chromatography columns based on collocated monolith support structures.* Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis, 1998. **17**(6–7): p. 925-932.
30. He, B., N. Tait, and F. Regnier, *Fabrication of Nanocolumns for Liquid Chromatography.* Analytical Chemistry, 1998. **70**(18): p. 3790-3797.
31. Gustafsson, O., K.B. Mogensen, and J.P. Kutter, *Underivatized cyclic olefin copolymer as substrate material and stationary phase for capillary and microchip electrochromatography.* Electrophoresis, 2008. **29**(15): p. 3145-3152.
32. Illa, X., et al., *Experimental study of the retention properties of a cyclo olefin polymer pillar array column in reversed-phase mode.* Journal of Separation Science, 2010. **33**(21): p. 3313-3318.

33. Legido-Quigley, C., et al., *Advances in capillary electrochromatography and micro-high performance liquid chromatography monolithic columns for separation science.* Electrophoresis, 2003. **24**(6): p. 917-944.
34. Kang, J., D. Wistuba, and V. Schurig, *A silica monolithic column prepared by the sol-gel process for enantiomeric separation by capillary electrochromatography.* ELECTROPHORESIS, 2002. **23**(7-8): p. 1116-1120.
35. Ishida, A., et al., *Reversed-phase liquid chromatography on a microchip with sample injector and monolithic silica column.* Journal of Chromatography A, 2006. **1132**(1–2): p. 90-98.
36. Nischang, I., O. Brueggemann, and F. Svec, *Advances in the preparation of porous polymer monoliths in capillaries and microfluidic chips with focus on morphological aspects.* Analytical and Bioanalytical Chemistry, 2010. **397**(3): p. 953-960.
37. Randon, J., J.-F. Guerrin, and J.-L. Rocca, *Synthesis of titania monoliths for chromatographic separations.* Journal of Chromatography A, 2008. **1214**(1–2): p. 183-186.
38. Abi Jaoudé, M. and J. Randon, *Capillary monolithic titania column for miniaturized liquid chromatography and extraction of organo-phosphorous compounds.* Analytical and Bioanalytical Chemistry, 2011. **400**(5): p. 1241-1249.
39. Wang, H., et al., *Monoliths with immobilized zirconium ions for selective enrichment of phosphopeptides.* Journal of Separation Science, 2011. **34**(16-17): p. 2113-2121.
40. Jemere, A.B., R.D. Oleschuk, and D.J. Harrison, *Microchip-based capillary electrochromatography using packed beds.* Electrophoresis, 2003. **24**(17): p. 3018-3025.
41. Giordano, B.C., A. Terray, and G.E. Collins, *Microchip-based CEC of nitroaromatic and nitramine explosives using silica-based sol–gel stationary phases from methyl- and ethyl-trimethoxysilane precursors.* Electrophoresis, 2006. **27**(21): p. 4295-4302.
42. Morishima, K., et al., *Toward sol-gel electrochromatographic separations on a chip.* Journal of Separation Science, 2002. **25**(15-17): p. 1226-1230.
43. Yu, C., et al., *Monolithic Porous Polymer for On-Chip Solid-Phase Extraction and Preconcentration Prepared by Photoinitiated in Situ Polymerization within a Microfluidic Device.* Analytical Chemistry, 2001. **73**(21): p. 5088-5096.
44. Augustin, V., et al., *Online preconcentration using monoliths in electrochromatography capillary format and microchips.* Journal of Separation Science, 2007. **30**(17): p. 2858-2865.
45. Faure, K., et al., *Development of an acrylate monolith in a cyclo-olefin copolymer microfluidic device for chip electrochromatography separation.* Electrophoresis, 2008. **29**(24): p. 4948-4955.
46. Ladner, Y., G. Crétier, and K. Faure, *Electrochromatography in cyclic olefin copolymer microchips: A step towards field portable analysis.* Journal of Chromatography A, 2010. **1217**(51): p. 8001-8008.

47. Ladner, Y., et al., *New "one-step" method for the simultaneous synthesis and anchoring of organic monolith inside COC microchip channels.* Lab on a Chip, 2012. **12**(9): p. 1680-1685.
48. Ladner, Y., G. Crétier, and K. Faure, *Electrochromatography on acrylate-based monolith in cyclic olefin copolymer microchip: A cost-effective and easy-to-use technology.* Electrophoresis, 2012. **33**(19-20): p. 3087-3094.
49. Ladner, Y., G. Crétier, and K. Faure, *Fabrication of acrylate monolith using photopolymerization: Effect of light intensity on electrochromatographic performance.* Journal of Separation Science, 2012. **35**(15): p. 1940-1944.
50. Gaspar, A., M.E. Piyasena, and F.A. Gomez, *Fabrication of Fritless Chromatographic Microchips Packed with Conventional Reversed-Phase Silica Particles.* Analytical Chemistry, 2007. **79**(20): p. 7906-7909.
51. Thompson, J.W., R.A. Lieberman, and J.W. Jorgenson, *Hydrodynamic chromatography for the size classification of micron and sub-micron sized packing materials.* Journal of Chromatography A, 2009. **1216**(45): p. 7732-7738.
52. Ai, F., et al., *Sub-1-micron mesoporous silica particles functionalized with cyclodextrin derivative for rapid enantioseparations on ultra-high pressure liquid chromatography.* Journal of Chromatography A, 2010. **1217**(48): p. 7502-7506.
53. Malkin, D.S., et al., *Submicrometer Plate Heights for Capillaries Packed with Silica Colloidal Crystals.* Analytical Chemistry, 2010. **82**(6): p. 2175-2177.
54. Griffin, W.C., *Classification of surface-active agents by HLB*. 1949, J. Soc. Cosmet. Chem. 11. p. 311-326.
55. Hénon, B.C.e.S., *Liquides Solutions, dispersions, émulsion, gels*, Belin, Editor. 2003.
56. T. G. Mason, J.N.W., K Meleson, C B Chang, S M Graves, *Nanoemulsions: formation, structure, and physical properties.* Journal of Physics: Condensed Matter, 2006. **18**(41): p. R635.
57. Souilem, I., *Elaboration de miniémulsions dans un mélangeur à écoulement élongationnel : Influence des paramètres du procédé et de la formulation, Thèse*. 2012, Université de Strasbourg.
58. Kundu, P., et al., *Stability of oil-in-water macro-emulsion with anionic surfactant: Effect of electrolytes and temperature.* Chemical Engineering Science, 2013. **102**(0): p. 176-185.
59. Jahanzad, F., et al., *Hybrid polymer particles by miniemulsion polymerisation.* Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects, 2007. **302**(1–3): p. 424-429.
60. Babaç, C., et al., *Production of nanoparticles of methyl methacrylate and butyl methacrylate copolymers by microemulsion polymerization in the presence of maleic acid terminated poly(N-acetylethylenimine) macromonomers as cosurfactant.* European Polymer Journal, 2004. **40**(8): p. 1947-1952.
61. David, G., et al., *Microemulsion photopolymerization of methacrylates stabilized with sodium dodecyl sulfate and poly(N-acetylethylenimine) macromonomers.* European Polymer Journal, 2002. **38**(1): p. 73-78.

62. Jain, K., J. Klier, and A.B. Scranton, *Photopolymerization of butyl acrylate-in-water microemulsions: Polymer molecular weight and end-groups.* Polymer, 2005. **46**(25): p. 11273-11278.
63. Anton, N. and T. Vandamme, *Nano-emulsions and Micro-emulsions: Clarifications of the Critical Differences.* Pharmaceutical Research, 2011. **28**(5): p. 978-985.
64. Fontenot, K. and F.J. Schork, *Batch polymerization of methyl methacrylate in mini/macroemulsions.* Journal of Applied Polymer Science, 1993. **49**(4): p. 633-655.
65. Landfester, K., *Miniemulsion Polymerization and the Structure of Polymer and Hybrid Nanoparticles.* Angewandte Chemie International Edition, 2009. **48**(25): p. 4488-4507.
66. Antonietti, M. and K. Landfester, *Polyreactions in miniemulsions.* Progress in Polymer Science, 2002. **27**(4): p. 689-757.
67. Hecht, L.L., et al., *Surfactant Concentration Regime in Miniemulsion Polymerization for the Formation of MMA Nanodroplets by High-Pressure Homogenization.* Langmuir, 2011. **27**(6): p. 2279-2285.
68. Pichot, J.C.D.e.C., *Les latex synthétiques*, Lavoisier, Editor. 2006. p. 833-869.
69. Schork, F.J., et al., *Miniemulsion Polymerization*, in *Polymer Particles*, M. Okubo, Editor. 2005, Springer Berlin Heidelberg. p. 129-255.
70. Chemtob, A., et al., *Photoinduced miniemulsion polymerization.* Colloid and Polymer Science, 2010. **288**(5): p. 579-587.
71. Hoijemberg, P.A., A. Chemtob, and C. Croutxé-Barghorn, *Two Routes Towards Photoinitiator-Free Photopolymerization in Miniemulsion: Acrylate Self-Initiation and Photoactive Surfactant.* Macromolecular Chemistry and Physics, 2011. **212**(22): p. 2417-2422.
72. Landfester, K., et al., *Formulation and Stability Mechanisms of Polymerizable Miniemulsions.* Macromolecules, 1999. **32**(16): p. 5222-5228.
73. Landfester, K., *Recent developments in miniemulsions — formation and stability mechanisms.* Macromolecular Symposia, 2000. **150**(1): p. 171-178.
74. Nguyen, D., *Etude de la nucléation contrôlée de latex polymère à la surface de nanoparticules d'oxyde pour l'élaboration de colloïdes hybrides structurés, Thèse, Université Bordeaux I.* 2008.
75. Larpent, C. and T.F. Tadros, *Preparation of microlatex dispersions using oil-in-water microemulsions.* Colloid and Polymer Science, 1991. **269**(11): p. 1171-1183.
76. Capek, I., et al., *Microemulsion Polymerization of Butyl Acrylate under Ultrasound Irradiation.* Polym. J, 2006. **38**(3): p. 264-276.
77. Ming, W., F.N. Jones, and S. Fu, *Synthesis of nanosize poly(methyl methacrylate) microlatexes with high polymer content by a modified microemulsion polymerization.* Polymer Bulletin, 1998. **40**(6): p. 749-756.
78. Katime, I., et al., *Synthesis and characterization of poly(n-hexyl methacrylate) in three-component microemulsions.* European Polymer Journal, 2001. **37**(11): p. 2273-2279.
79. Norakankorn, C., et al., *Synthesis of poly(methyl methacrylate) nanoparticles initiated by azobisisobutyronitrile using a differential microemulsion*

polymerization technique. Journal of Applied Polymer Science, 2009. **113**(1): p. 375-382.
80. Capek, I., et al., *Microemulsion Radical Polymerization of Alkyl Acrylates.* Polymer International, 1997. **43**(1): p. 1-7.
81. He, G., Q. Pan, and G.L. Rempel, *Synthesis of Poly(methyl methacrylate) Nanosize Particles by Differential Microemulsion Polymerization.* Macromolecular Rapid Communications, 2003. **24**(9): p. 585-588.
82. Hu, X., J. Zhang, and W. Yang, *Preparation of transparent polystyrene nano-latexes by an UV-induced routine emulsion polymerization.* Polymer, 2009. **50**(1): p. 141-147.
83. Kuo, P.L., et al., *Photoinitiated polymerization of styrene in microemulsions.* Macromolecules, 1987. **20**(6): p. 1216-1221.
84. Capek, I. and J.P. Fouassier, *Kinetics of photopolymerization of butyl acrylate in direct micelles.* European Polymer Journal, 1997. **33**(2): p. 173-181.
85. Xu, X., et al., *Microemulsion polymerization of methyl methacrylate initiated with BPO.* European Polymer Journal, 1999. **35**(11): p. 1975-1978.
86. Capek, I., *Photopolymerization of alkyl(meth)acrylates and polyoxyethylene macromonomers in fine emulsions.* European Polymer Journal, 2000. **36**(2): p. 255-263.
87. Peinado, C., et al., *Photoinitiated polymerization in bicontinuous microemulsions: Fluorescence monitoring.* Journal of Polymer Science Part A: Polymer Chemistry, 2006. **44**(18): p. 5291-5303.
88. Yu, Z.-Q., et al., *Miniemulsion copolymerization of methyl methacrylate and butyl acrylate in the presence of vinyl siloxane rubber.* Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects, 2004. **242**(1–3): p. 9-15.
89. Chen, J. and Z. Zhang, *Radiation-induced polymerization of methyl methacrylate in microemulsion with high monomer content.* European Polymer Journal, 2007. **43**(4): p. 1188-1194.
90. Dou, J., et al., *Magnetic nanoparticles encapsulated latexes prepared with photo-initiated miniemulsion polymerization.* Colloid and Polymer Science, 2010. **288**(18): p. 1751-1756.
91. Roose, P., et al., *UV-nanoparticles: Photopolymerized polymer colloids from aqueous dispersions of acrylated oligomers.* Progress in Organic Coatings, 2014. **77**(10): p. 1569-1576.
92. Capek, I., *Photopolymerization of Butyl Acrylate Microemulsion. Effect of Reaction Conditions and Additives on Fates of Desorbed Radicals.* Polym J, 1996. **28**(5): p. 400-406.
93. Wang, Y. and W. Yang, *MMA/DVB Emulsion Surface Graft Polymerization Initiated by UV Light.* Langmuir, 2004. **20**(15): p. 6225-6231.
94. Wang, Y., et al., *Directly Fabricating Monolayer Nanoparticles on a Polymer Surface by UV-Induced MMA/DVB Microemulsion Graft Polymerization.* Macromolecular Rapid Communications, 2005. **26**(2): p. 87-92.
95. Wang, H. and H.R. Brown, *UV grafting of methacrylic acid and acrylic acid on high-density polyethylene in different solvents and the wettability of grafted high-density polyethylene. II. Wettability.* Journal of Polymer Science Part A: Polymer Chemistry, 2004. **42**(2): p. 263-270.

Chapitre II

Synthèse de nanoparticules par photopolymérisation sur plaques en copolymère d'oléfine cyclique (COC) : études préliminaires

II.1 Introduction

L'objectif de ce chapitre est d'étudier les principaux paramètres affectant la synthèse par photopolymérisation ainsi que l'ancrage simultané de nanoparticules dans des microsystèmes en copolymère d'oléfine cyclique (COC).

L'approche consiste, dans une première étape, à formuler une émulsion stable à base d'hexyl acrylate qui, après photopolymérisation, permettra la synthèse de nanoparticules relativement monodisperses ayant un diamètre moyen inférieur à 200 nm. Deux types d'émulsions ont été envisagés :

1/ les microémulsions qui sont des systèmes thermodynamiquement stables [1] permettant d'aboutir, après polymérisation, à la synthèse de nanoparticules ayant un diamètre compris entre 10 nm et 50 nm.

2/ les miniémulsions qui sont des systèmes métastables [2, 3] permettant de synthétiser des nanoparticules de tailles moyennes comprises entre 50 nm et 500 nm.

Les essais préliminaires réalisés pour synthétiser, par voie photochimique, des nanoparticules à partir de micro ou miniémulsions seront détaillés dans ce chapitre. Pour démontrer la faisabilité de notre approche, nous avons considéré tout d'abord une microémulsion issue des travaux de l'équipe de Capek [4] qui décrit une formulation basée sur un monomère hexyl acrylate stabilisé par un tensioactif dodécyl sulfate de sodium. Suivant les recommandations de Weihua *et al.* [5], le 1-pentanol sera utilisé comme
co-stabilisant, ce qui permet d'introduire des concentrations, en monomères, plus importantes.

Cette première formulation servira de point de départ afin d'évaluer la stratégie de synthèse et d'ancrage simultanés des nanoparticules issues des émulsions par voie photochimique sur des supports microfluidiques. On distingue trois voies possibles pour créer une liaison covalente entre la nanoparticule en formation et le support sur lequel on souhaite l'ancrage, selon le type d'amorceur choisi pour la polymérisation radicalaire : une voie dite « émulsion vers surface », une voie dite « surface vers émulsion » et une voie qui combine les deux.

- **Voie « Emulsion vers surface »**

Un amorceur de type clivage (type I) tel l'azobisisobutyronitrile (AIBN) ou la benzoine méthyléther (BME) agit majoritairement pour former des radicaux libres [6, 7]. Ladner *et al.* [8] ont montré que ces amorceurs ont également une action minoritaire d'abstraction d'hydrogène, qui a permis à cette équipe d'ancrer un monolithe organique aux parois de microsystèmes en COC en une seule étape.

Dans cette première stratégie, l'amorceur est ajouté à l'émulsion, et la photopolymérisation se déclenche tout d'abord dans la formulation, pour conduire à la formation des nanoparticules. Si des gouttes d'émulsion ou micelles viennent au contact des parois, les molécules d'amorceurs peuvent également abstraire des hydrogènes et les radicaux de surface ainsi formés peuvent réagir avec les monomères.

- **Voie « Surface vers émulsion »**

On distingue un autre type d'amorceur agissant majoritairement par abstraction d'hydrogène, comme la benzophénone par exemple [9-14]. Le mécanisme d'abstraction d'hydrogène de la benzophénone est le suivant : la benzophénone absorbe un photon et passe à un état singulet excité BP^S, puis passe à un état triplet excité BP^T plus stable. L'état triplet excité réagit avec le C-H du substrat par abstraction d'hydrogène et forme les deux radicaux libres : le semi-pinacol et l'alkyle. Ces deux derniers se recombinent pour former une nouvelle liaison C-C et produire le benzopinacol [13]. Le site semi-pinacol ainsi formé sur le COC (Figure II-1) est stable et peut, sous irradiation, se cliver pour réagir avec des monomères et créer ainsi un film polymérique, ou amorcer la formation de nanoparticules à partir de la surface. Dans ce cas, il n'est pas nécessaire d'apporter d'amorceur dans la formulation de monomères, l'amorceur étant déjà présent sur la surface à fonctionnaliser.

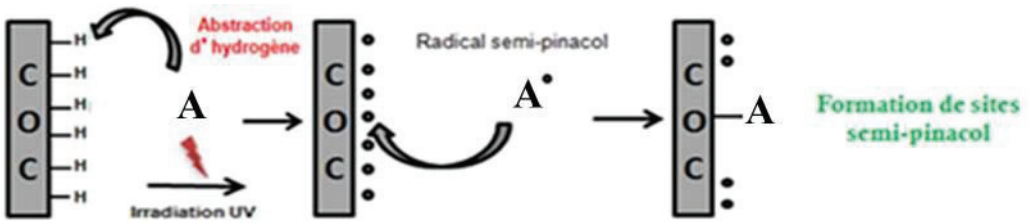

Figure II-1 : Mécanisme d'abstraction d'hydrogène sur une surface en copolymère d'oléfine cyclique (COC). A : Amorceur.

Par cette stratégie, Wang *et al.* ont synthétisé des nanoparticules par voie photochimique sur support en polypropylène (PP) à partir d'une microémulsion sans amorceur [15, 16]. La synthèse est réalisée en deux étapes. Une première étape d'irradiation UV de l'amorceur qui est la benzophénone (BP) permet de former des groupes dormants selon le mécanisme d'abstraction d'hydrogène de la surface. Une deuxième étape de polymérisation a ensuite lieu depuis le support où les groupes semi-pinacol dormants réagissent avec la microémulsion. Cette croissance de nanoparticules permet la formation d'une monocouche (Figure II-2). L'auteur stipule que les groupes dormants étant transférables, des multicouches peuvent être envisagées.

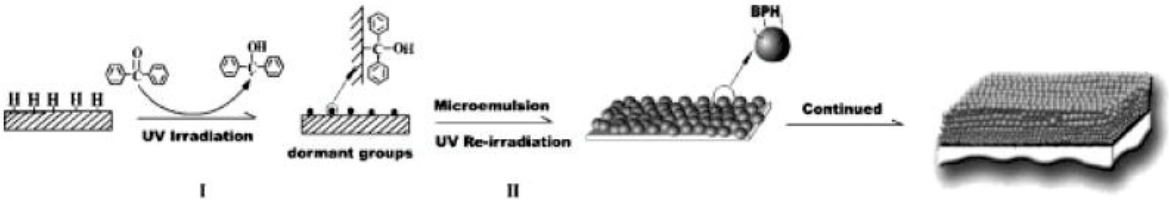

Figure II-2 : Mécanisme d'abstraction d'hydrogène de la benzophénone sur du COC. **(I)** Formation des groupes semi-pinacols dormants, **(II)** Formation d'une monocouche de nanoparticules par polymérisation, **(III)** Formation de multicouches [15].

- **Combinaison des deux stratégies**

Une troisième stratégie d'ancrage des nanoparticules consiste à combiner les deux types d'amorceurs. Dans ce cas, on active la surface avec de la benzophénone pour créer des groupes dormants qui réagissent avec l'émulsion contenant la BME comme amorceur afin de favoriser l'ancrage des nanoparticules résultantes et la formation de multicouches (Figure II-3).

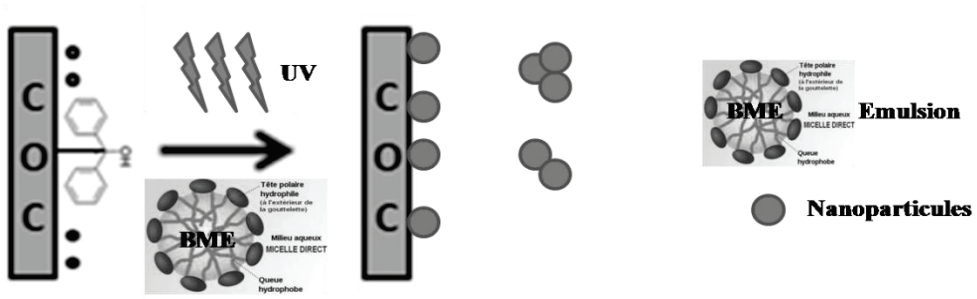

Figure II-3 : Schéma représentatif de la synthèse photochimique des nanoparticules sur une surface activée avec la benzophénone.

Ces différentes stratégies d'ancrage seront évaluées dans ce chapitre en combinaison avec une microémulsion.

Par la suite nous verrons qu'il peut être intéressant de se tourner plutôt vers une miniémulsion qui, certes, génère de plus grosses nanoparticules, mais nécessite une quantité moindre de tensioactifs. Pour vérifier cette hypothèse, nous utiliserons une formulation dérivée des travaux de Chemtob *et al.* [17] et Hu *et al.* [18] et modifiée au laboratoire lors de travaux précédant cette thèse.

II.2 Matériels et méthodes

II.2.1 Réactifs

Les différents produits chimiques, dodécyl sulfate de sodium (SDS), acide 2-acrylamido-2-méthylpropane sulfonique (AMPS), hexyl acrylate (HA), pentan-1-ol et benzoine méthyléther (BME), sont fournis par Sigma Aldrich (Isle d'Abeau, France). Les émulsions formulées sont constituées d'une phase aqueuse préparée dans de l'eau ultra pure (Milli-Q de résistivité de 18 MΩ) et d'une phase organique.

La phase aqueuse est constituée de tensioactif anionique (SDS) et forme des micelles chargées négativement pour une concentration supérieure à sa concentration critique micellaire (CMC) qui est de 6 à 8 mM. L'ajout d'un monomère chargé (AMPS) dans la formulation devrait permettre de générer, de manière permanente, des charges négatives à la surface des nanoparticules résultantes. Ces charges sont nécessaires pour générer un flux électroosmotique pour l'électrochromatographie en microsystèmes.

La phase organique est constituée d'hexyl acrylate (HA), de la benzoine méthyléther (BME) et du pentan-1-ol.

II.2.2 Formulation des microémulsions

Toutes les microémulsions sont préparées dans un volume d'eau de 20 mL. Les produits sont pesés sur une balance de précision dans un flacon puis mélangés sous agitation pendant 30 s sous ultraturrax à une vitesse de 13000 tr/min.

Les pourcentages des réactifs ont été choisis à partir de la littérature [4] et suite à des essais préliminaires de formulation de microémulsions. La concentration en SDS varie de 10 % wt. à 20 % wt. et celle du monomère HA entre 5 wt. et 10 % wt. avec un pourcentage fixe de 1-pentanol et d'AMPS. Les teneurs des différents réactifs qui constituent la microémulsion testée, sont exprimées en pourcentage massique par rapport à l'eau (% wt.) dans le Tableau II-1.

Tableau II-1 : Composition de la microémulsion testée.

Composition	Rôle	Molécule	Teneur (% massique par rapport à l'eau, % wt.)
φ_{aq}	Tensioactif	SDS	20
	Monomère chargé	AMPS	0.075
φ_{org}	Monomère neutre	HA	15
	Co - stabilisant	Pentan -1- ol	2.6
	Amorceur photochimique	BME	pourcentage variable

II.1.1 Formulation des miniémulsions

Les réactifs de la miniémulsion sont pesés sur une balance de précision dans un flacon puis mélangés sous agitation pendant 30 s sous ultraturrax à une vitesse de 13000 tr/min. La composition de la miniémulsion préparée dans 10 mL d'eau est présentée dans le Tableau II-2.

Tableau II-2 : Composition de la miniémulsion.

Composition	Rôle	Molécule	Teneur (% massique par rapport à l'eau, % wt.)
φ_{aq}	Tensioactif	SDS	0.1
	Monomère chargé	AMPS	0.05
φ_{org}	Monomère neutre	HA	10
	Amorceur photochimique	BME	0.25

II.2.3 Synthèse photochimique des nanoparticules

Les micro et miniémulsions sont irradiées dans un four UV (Biolink cross-Linker, VWR International Strasbourg, France), équipé de cinq tubes de 8 watts, émettant à 365 nm.

La photopolymérisation dite « en milieu libre » a lieu dans un flacon en verre. La photopolymérisation en milieu fermé est réalisée entre deux plaques de copolymère d'oléfine cyclique (COC). Les plaques en COC sont commercialisées par Microfluidic ChipShop (Jena, Allemagne). Le matériau est du Topas de 1 mm d'épaisseur et de dimensions 75.5 mm × 25.5 mm.

Pour réaliser la polymérisation en milieu fermé, le protocole suivant est effectué : les plaques COC sont rincées à l'acétone puis séchées à l'azote avant usage. Elles sont ensuite positionnées l'une au contact de l'autre, séparées par une feuille de téflon de 0.5 mm d'épaisseur, le tout contenu dans un support qui maintient l'étanchéité du système tout en permettant son irradiation comme illustré sur le schéma (Figure II-3). L'une des deux plaques est percée pour permettre le remplissage de l'espace inter-plaques par la formulation à l'aide d'une seringue plastique. Le dispositif est ensuite introduit dans le four UV où la photopolymérisation est réalisée à 365 nm dans des conditions d'irradiation, temps d'irradiation et intensité d'irradiation, définies selon l'expérience souhaitée.

Après irradiation, les plaques sont sorties du dispositif et rincées 30 min dans du méthanol puis dans de l'acétone.

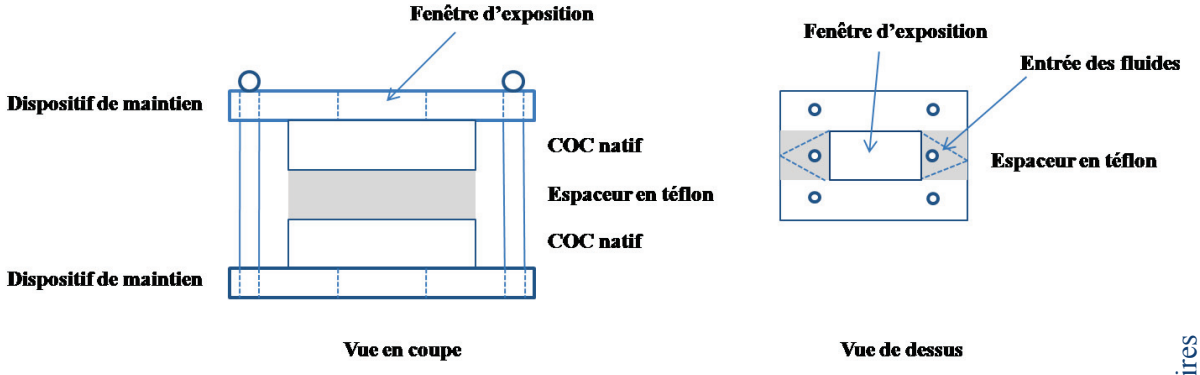

Figure II-3 : Dispositif fluidique simulant un microcanal.

II.1.2 Activation de la surface par la benzophénone

La benzophénone est solubilisée dans de l'acétone à une concentration de 5 % wt. sous une agitation magnétique. Le mélange est dégazé par ultrasons puis introduit dans le

système fermé entre les deux plaques en copolymère d'oléfine cyclique (COC). La photopolymérisation se fait pendant 20 min sous une intensité d'irradiation de 1.7 mW/cm².

II.3 Caractérisation des nanoparticules

- **Distribution granulométrique par diffusion dynamique de la lumière (DLS)**

La taille des particules obtenues en milieu libre peut être déterminée par diffusion dynamique de la lumière ou DLS pour Dynamic Light Scattering. Cette technique est une analyse spectroscopique qui mesure les variations d'intensité de la lumière diffusée par une dispersion soumise au mouvement Brownien (émulsion ou suspension colloïdale).

Le mouvement Brownien dépend de la taille des objets dispersés, de la viscosité du fluide ainsi que de la température. Le traitement du signal conduit à une fonction d'autocorrélation dont la modélisation par la méthode des cumulants permet de déterminer la distribution granulométrique de l'échantillon. Cette distribution est caractérisée par un diamètre moyen d et un facteur de polydispersité (que nous noterons dans la suite PdI_{DLS}) donné comme une équivalence de la variance sur une distribution gaussienne [19-21]. Cet indicateur de polydispersité ne doit pas être assimilé à l'indice de polydispersité PDI utilisé en science des polymères et défini par $PDI = D_w / D_n$ avec les diamètres de particules moyens D_n en nombre et D_w en poids.

Dans le cadre de notre projet, la mesure des tailles moyennes des gouttes ainsi que des particules résultantes obtenues après irradiation est réalisée dans une cellule en verre de 12 mm à l'aide d'un zetasizer nano ZS de Malvern Instruments. Les gouttes ainsi que les particules, sont diluées 200 fois dans de l'eau ultra-pure avant mesure.

- **Potentiel Zeta : électrophorèse par effet Doppler**

Lorsqu'une particule chargée se déplace dans un liquide, seule une fraction de la couche liquide contenant les contre-ions est entraînée avec la particule. La limite entre la partie mobile et immobile est appelée plan de cisaillement. Le potentiel Zeta, lié aux charges de surface de la particule, correspond à la différence de potentiel observée entre le plan de cisaillement et la solution.

La mesure du potentiel Zeta ζ est réalisée avec le même appareil que précédemment, mais dans une cellule de mesure spécifique : il s'agit d'un capillaire permettant de soumettre l'échantillon à un champ électrique. La mobilité électrophorétique μ_e des particules est mesurée par effet Doppler et permet de déterminer le potentiel Zeta à partir de l'équation de Henry associée à la formule d'Ohshima [22, 23].

Les mesures de potentiel Zeta sont effectuées en diluant l'échantillon dans une solution de NaCl à 10^{-3} M.

- **Caractérisation morphologique des nanoparticules**

La microscopie électronique à balayage (MEB) est utilisée pour observer la morphologie structurale des nanoparticules synthétisées en milieu libre ou ancrées sur des surfaces en COC. Les photos MEB sont obtenues avec un appareil FEI Quanta FEG 250**.**

Les nanoparticules issues de la synthèse photochimique en milieu libre, sont diluées dans un volume d'eau 200, 500, ou 1000 fois puis déposées sur des plots métalliques. L'analyse des plaques se fait après coupe à l'aide d'un massicot. L'échantillon COC est collé sur le plot MEB par du scotch carbone ou de la laque argent.

Un dépôt d'une couche de métal Platine (Pt) ou Or - Palladium (Au-Pd) conductrice, d'environ 10 nm - 20 nm d'épaisseur est ensuite réalisé par une pulvérisation cathodique. Ceci est nécessaire pour limiter les phénomènes de charge à la surface du matériau non conducteur.

II.4 Synthèse de nanoparticules à partir d'une microémulsion

II.4.1 Formulation d'une microémulsion en milieu libre

Afin d'obtenir des nanoparticules de taille inférieure à 50 nm, les premiers tests ont porté sur la photopolymérisation d'une microémulsion basée sur les travaux de Capek [4] pour laquelle nous avons fait varier le taux de monomère dans une gamme de 5 % wt. à 10 % wt. et une concentration en SDS de 10 % wt. à 20 % wt.. Comme attendu, les microémulsions obtenues se sont avérées très stables dans le temps et il n'y a pas eu de déphasage observé, même plusieurs jours après préparation. Les gouttelettes ont une taille moyenne de 25 nm. Nous avons souhaité augmenter la teneur en monomères dans la formulation pour nous assurer ainsi que ces monomères pourront à terme rencontrer des points d'ancrage sur le support.

Une augmentation de la teneur en hexyl acrylate de 10 % wt. à 20 % wt., pour une teneur constante en SDS de 20 % wt. entraîne non seulement un élargissement de la distribution en taille des gouttelettes (de 10 nm à 100 nm), mais également l'apparition de grosses gouttes de l'ordre de 800 nm. L'ajout du 1-pentanol comme co-surfactant à 2.6 % wt. nous a permis d'obtenir une microémulsion stable pouvant contenir jusqu'à 15 % wt. d'hexyl acrylate (pour 20 % wt. SDS) avec de gouttelettes monodisperses de tailles moyenne 30 nm (PdI_{DLS} = 0.086).

L'ajout de l'amorceur photochimique, la benzoine méthyléther (BME) n'a pas eu d'influence sur la stabilité de la microémulsion ni sur la distribution des gouttes. Deux formulations ont été testées pour évaluer la quantité d'amorceur à utiliser, à savoir 0.075 % wt. et 0.375 % wt. de BME par rapport à la masse d'eau respectivement. Suite à une irradiation de 20 min sous une intensité de 1.7 mW /cm², les diamètres moyens des particules synthétisées sont de l'ordre de 35 nm et de 30 nm respectivement avec un indice de polydispersité (PDI_{DLS}) de 0.1 indiquant des distributions granulométriques relativement monodisperses (Figure II-4).

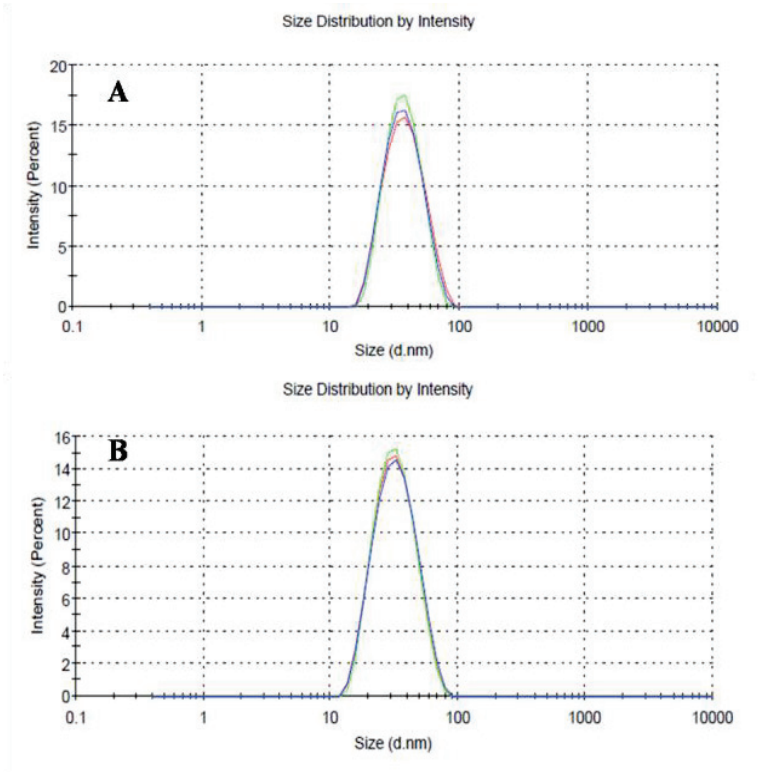

Figure II-4 : Distribution en taille des nanoparticules issues de deux compositions de microémulsions. **A :** 0.075 % wt. BME, 35 nm et PdI_{DLS} de 0.09. **B :** 0.375 % wt. BME, 30 nm et PdI_{DLS} de 0.11. Photopolymérisation de 20 min sous une intensité d'irradiation de 1.7 mW /cm².

Ces résultats montrent que, dans le cas d'une photopolymérisation en milieu libre et sur la gamme de variation étudiée, le pourcentage de BME n'a pas d'influence significative sur la distribution granulométrique des particules synthétisées. Pourtant, ce pourcentage en amorceur est connu avoir une influence remarquable sur l'ancrage dans un microsystème [8]. En conséquent, nous avons choisi de conserver, par la suite, une concentration relativement élevée de 0.375 % wt. BME, afin de favoriser le nombre de points d'initiation pour une polymérisation sur COC. Cette formulation reste stable une semaine, et conduit, après photopolymérisation, à des nanoparticules monodisperses de diamètre moyen 30 nm.

II.4.2 Synthèse et ancrage simultanés des nanoparticules sur plaque en copolymère d'oléfine cyclique (COC)

A partir de cette microémulsion, les trois voies de synthèse photochimique présentées en introduction ont été envisagées pour initier la polymérisation et ancrer les nanoparticules à la surface du copolymère d'oléfine cyclique (COC) par le mécanisme d'abstraction d'hydrogène.

II.4.3 Initiation par la benzophénone (BP) à partir de la surface COC

La synthèse des particules à partir de la surface est amorcée par la benzophénone (BP). La surface est activée sous irradiation, par contact entre les protons labiles du COC (situés sur le norbornène) et la benzophénone en état excité. L'abstraction d'hydrogène devrait créer des groupes semi-pinacols à la surface. Dans un deuxième temps, une microémulsion sans amorceur est amenée au contact de la surface activée et, sous irradiation, les monomères contenus dans les gouttes devraient voir leur polymérisation s'initier lors de la réactivation des sites semi-pinacols. Les nanoparticules résultantes seraient donc ancrées à la surface de manière covalente. La Figure II-5 est un exemple de morphologie de particules visualisées par microscopie électronique à balayage (MEB), obtenues après activation de la surface à la benzophénone, puis irradiation de la microémulsion sans amorceur au contact de cette surface activée.

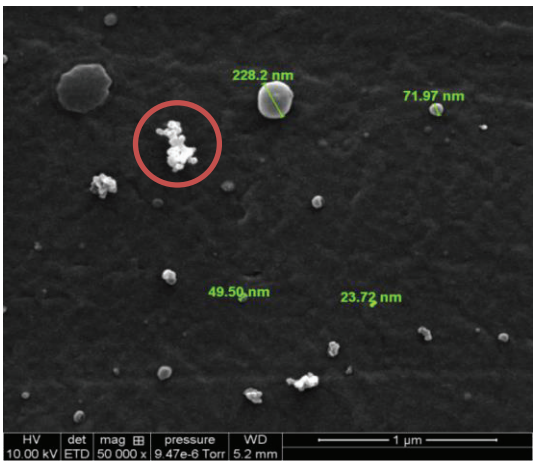

Figure II-5 : Morphologie MEB des particules initiées à partir de la surface en COC. Activation de la surface 5 % wt. BP dans de l'acétone, P = 1.7 mW/cm², t = 20 min. Polymérisation en microémulsion sans amorceur, P = 1.7 mW/cm², t = 20 min. Grossissement MEB × 50000. Tension 10 kV.

La Figure II-5 montre une morphologie non homogène de la surface COC où l'on distingue l'ancrage d'un faible nombre de particules de tailles comprises entre 23 nm et 230 nm. Il est à noter qu'une fonctionnalisation de la surface avec de la benzophénone aboutit à la formation de chapelets de nanoparticules qui sont intéressants pour la formation de multicouches, mais dans ces conditions elles sont trop peu nombreuses.

Dans le but d'augmenter le nombre de particules à la surface, nous avons dans un premier temps essayé d'augmenter le temps d'irradiation de la microémulsion de 20 min à 40 min, afin de favoriser la réticulation des monomères en particules (Figure II-6 A). Le résultat n'était pas satisfaisant. Une autre hypothèse consiste à amener un nombre plus important de micelles au contact des sites semi-pinacols. Pour cela, nous avons réalisé, après activation de la surface à la benzophénone, trois passages de microémulsion avec trois irradiations successives. Les essais réalisés n'ont pas été concluants : les particules perdent leurs formes sphériques et s'étalent pour former des couches d'acrylates comme montré dans la Figure II-6 B.

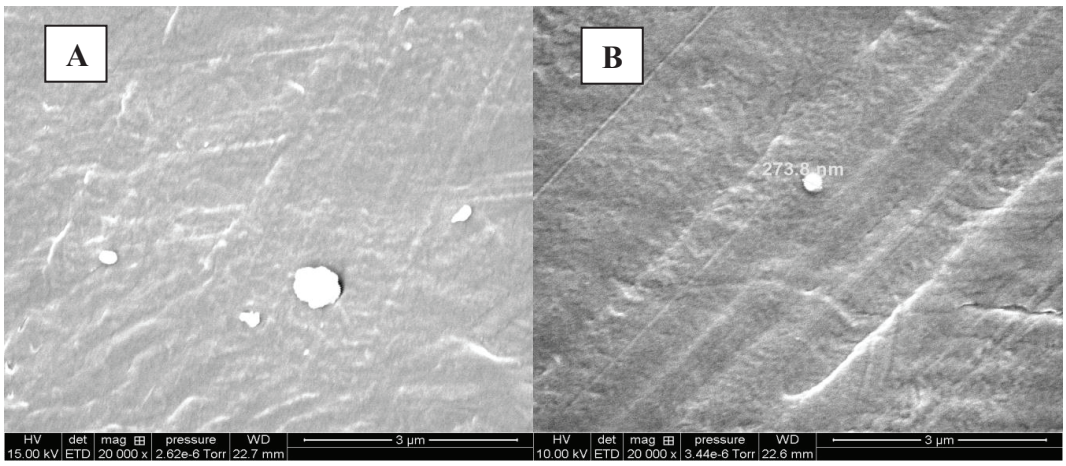

Figure II-6 : Morphologies MEB des particules sur une plaque en COC. **A –** Activation 5 % wt. BP dans de l'acétone, P = 1.7 mW/cm², t = 20 min, Polymérisation d'une microémulsion sans amorceur, P = 1.7 mW/cm², t = 40 min. Grossissement MEB × 20000. Tension 15 kV**.**
B – Activation 5 % wt. BP dans de l'acétone, P = 1.7 mW/cm², t = 20 min suivie de trois polymérisations successives de microémulsions sans amorceur, P = 1.7 mW/cm², t = 20 min x 3. Grossissement MEB × 20000. Tension 10 kV**.**

Cette voie de synthèse permet, par le biais de la benzophénone, d'initier la photopolymérisation à partir de la surface en créant différents points d'ancrage sur le COC. Le nombre de particules ancrées reste cependant insuffisant.

II.4.4 Initiation à partir de la microémulsion

Dans cette stratégie de synthèse, l'amorceur est incorporé à la microémulsion. En revanche, la surface COC est laissée native. Par conséquent, la BME est ajoutée à la phase organique, pour amorcer la photopolymérisation dans la microémulsion. Les radicaux libres formés sous irradiation dans la microémulsion initient la polymérisation des monomères acrylates et génèrent des particules sphériques. Si un processus de polymérisation a lieu à proximité de la surface COC, la BME peut également engendrer l'abstraction d'un hydrogène de la surface et créer un radical de surface qui pourrait ensuite réagir avec des monomères et ancrer de manière pérenne le polymère acrylate à la surface COC.

Les particules présentes sur la surface COC grâce à ce type d'initiation (Figure II-7) sont des particules sphériques peu nombreuses qui se distribuent d'une façon non homogène tout au long de la surface. La gamme de taille est plus resserrée que précédemment, de 100 nm à 200 nm.

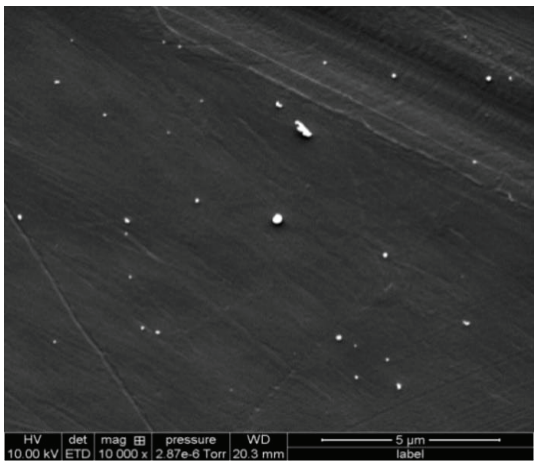

Figure II-7 : Morphologie MEB des particules sur une plaque en COC. 0.375 % wt. BME, P = 1.7 mW/cm², t = 20 min. Grossissement MEB × 10000. Tension 10 kV.

Comme précédemment, on a cherché à augmenter le nombre de particules ancrées en augmentant la durée de polymérisation à 40 min et en réalisant trois polymérisations de nanoparticules successives. Ces tests mettent en évidence la formation de couches épaisses de monomères à la surface COC (Figure II-8).

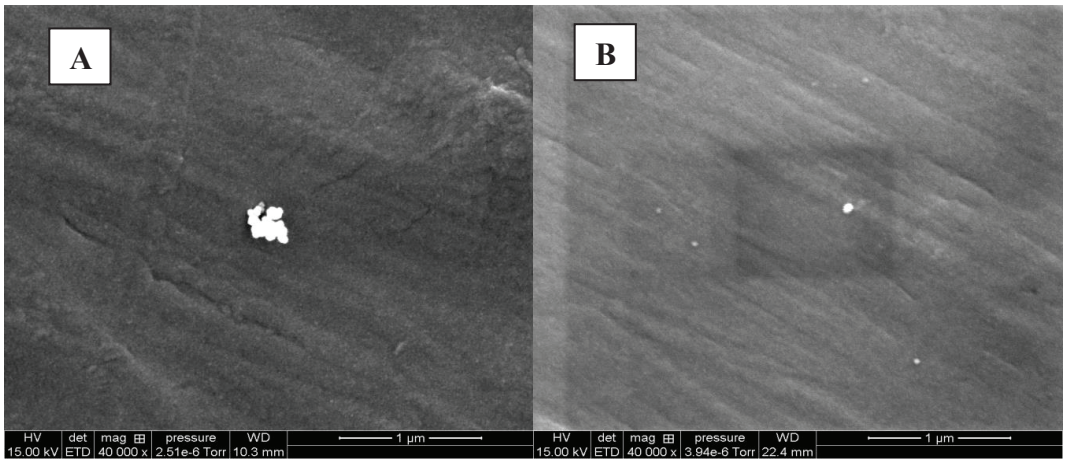

Figure II-8 : Morphologie MEB des particules sur une plaque en COC. Grossissement MEB × 40000. Tension 15 kV**. A -** 0.375 % wt. BME, P = 1.7 mW/cm², t = 40 min. **B -** 0.375 % wt. BME, P = 1.7 mW/cm², t = 20 min × 3.

L'initiation de la photopolymérisation par la BME présente dans la microémulsion montre un très faible ancrage de particules sphériques à la surface du COC.

II.4.5 Combinaison des deux types d'initiation

La combinaison des deux types d'amorceurs peut éventuellement créer plus de points d'initiation de la polymérisation, ce qui pourrait augmenter le nombre de particules

formées à la surface. Dans ce cas, la polymérisation s'amorcerait de la surface, majoritairement par la BP, et à partir de la microémulsion, par le biais de la BME.

Une première étape d'irradiation de la benzophénone solubilisée dans de l'acétone forme des sites semi-pinacol qui permettraient, suite à une deuxième irradiation, l'ancrage des nanoparticules résultant d'une microémulsion contenant 0.375 % wt. BME à la surface du COC. Le résultat n'est hélas pas celui attendu, car on observe, par cette voie de synthèse, une fusion des particules ainsi qu'une formation de couches d'acrylates (Figure II-9).

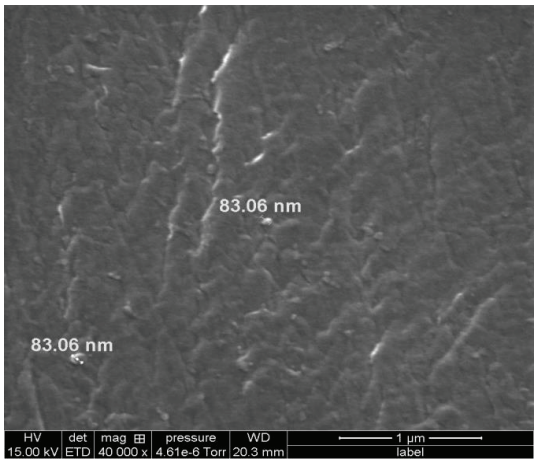

Figure II-9 : Morphologie MEB des particules sur une plaque en COC. Grossissement MEB × 40000. Tension 15 kV. Activation : 5 % wt. BP dans de l'acétone, P = 1.7 mW/cm², t = 20 min, Polymérisation d'une microémulsion contenant 0.375 % wt. BME, P = 1.7 mW/cm², t = 20 min.

II.4.6 Conclusion

Les deux voies d'ancrage découlant de la littérature n'ont pas apporté de résultats concluants, avec un très faible nombre de particules ancrées sur la surface COC et des problèmes de répétabilité et d'homogénéité. L'une des hypothèses pouvant expliquer ces mauvais résultats est l'utilisation de fortes concentrations en tensioactif dans la microémulsion qui, en s'adsorbant à la surface COC très hydrophobe, gênerait l'ancrage des nanoparticules.

Afin de surmonter ces problèmes, deux solutions peuvent être envisagées :

1/ Chercher à minimiser la teneur en tensioactif de la formulation en réalisant des miniémulsions plutôt que des microémulsions.

2/ Diminuer le caractère hydrophobe du COC, par un greffage d'un monomère hydrophile.

La solution proposée est alors d'effectuer la synthèse photochimique des nanoparticules en deux étapes. La première est celle de la fonctionnalisation de la surface par un monomère hydrophile tel le polyéthylène glycol diacrylate PEGDA [24]. Ensuite, une miniémulsion contenant un amorceur, est irradiée au contact de la surface COC fonctionnalisée.

II.5 Synthèse de nanoparticules à partir d'une miniémulsion : essais préliminaires

A partir de la littérature traitant des miniémulsions photopolymérisées [17, 18], nous avons développé une première formulation d'intérêt composée de 10 % wt. d'hexyl acrylate et 0.1 % wt. SDS (% wt. par rapport à l'eau). Cette minémulsion présente une distribution granulométrique polydisperse en absence du co-surfactant avec des tailles de gouttes plus importantes que celle des microémulsions mais une quantité de tensioactif utilisée 200 fois inférieure. Cette formulation a été utilisée pour chercher à valider les deux hypothèses proposées :

1/ L'influence délétère du SDS sur l'ancrage des nanoparticules au COC.

2/ L'intérêt de diminuer le caractère hydrophobe du COC.

II.5.1 Influence de la quantité de tensioactif

Nous disposons au laboratoire de latex de polyméthylméthacrylate (PMMA) cationiques ou anioniques synthétisés par polymérisation radicalaire sans tensioactif [25].

Brièvement, la réaction de polymérisation est conduite durant 5 heures dans un réacteur en verre équipé d'une double enveloppe maintenue à 80°C et d'une turbine d'agitation dont la vitesse est ajustée à 300 tr /min. 150 ml d'eau distillée sont introduits dans le réacteur et portés à température. Ensuite, le monomère (du méthyl méthacrylate ou MMA) puis l'amorceur sont ajoutés.

Les latex obtenus sont monodisperses et, selon les conditions opératoires, présentent des tailles moyennes comprises entre 80 nm et 700 nm. Ils ne présentent pas d'intérêt pour notre application car ils ont été synthétisés par polymérisation thermique, non compatible avec les microsystèmes plastiques. Mais nous en avons utilisé un lot afin de vérifier l'hypothèse selon laquelle la présence de tensioactif a une influence délétère sur l'ancrage des nanoparticules sur le COC.

Le lot de latex considéré est une suspension de nanoparticules anioniques de PMMA de taille moyenne de 196 nm (Figure II-10) obtenu avec 5% wt. de MMA par rapport à l'eau et du persulfate d'ammonium (APS) (2 % wt.. par rapport au monomère) comme amorceur. Ces latex sans tensioactif ont été choisis comme « modèle » car ils sont similaires en taille et en potentiel Zeta aux nanoparticules d'HA que nous avons synthétisées à partir de la miniémulsion.

La suspension de latex a été caractérisée par DLS et au MEB après avoir été diluée 200 fois soit dans de l'eau pure soit dans de l'eau contenant 0.1 % wt. SDS (% wt. par rapport à l'eau). Comme attendu, les deux distributions de tailles sont similaires : on observe une population monomodale de particules de taille moyenne 196 nm avec un PdI_{DLS} de 0.04 (Figure II-10).

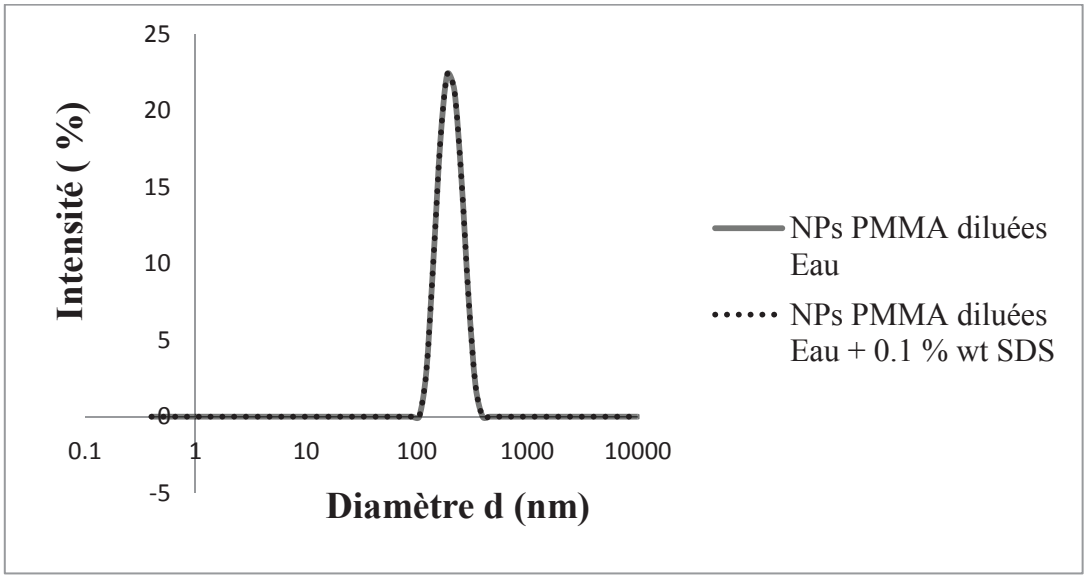

Figure II-10 : Distribution de taille des nanoparticules PMMA. Diamètre moyen *d* de 196 nm avec un PdI_{DLS} de 0.04.

Alors que l'ajout de SDS à une faible concentration n'a pas d'influence sur la taille et la monodispersité des particules en suspension mesurées par DLS, les morphologies de ces PMMA (disposés sur un plot métallique, séchés puis métallisés avec de l'Or/Palladium avec une couche de l'ordre de 10 nm) observées au MEB apparaissent différentes : en présence de SDS, on observe une sorte de filmification (Figure II-11 A et B).

Ces observations sont encore plus flagrantes lorsque l'on met en contact la suspension de PMMA (avec et sans tensioactif) avec la surface COC (Figure II-11 C et D). Pour ces PMMA « modèle », on voit donc l'impact très négatif du SDS même à une

concentration relativement faible. Cela pourrait expliquer pourquoi des nanoparticules à base d'hexyl acrylate, dont la synthèse par microémulsion nécessite une forte teneur en SDS, peuvent être difficilement observables par MEB. Les résultats MEB obtenus n'ont montré que des films et des croûtes et non des formes sphériques.

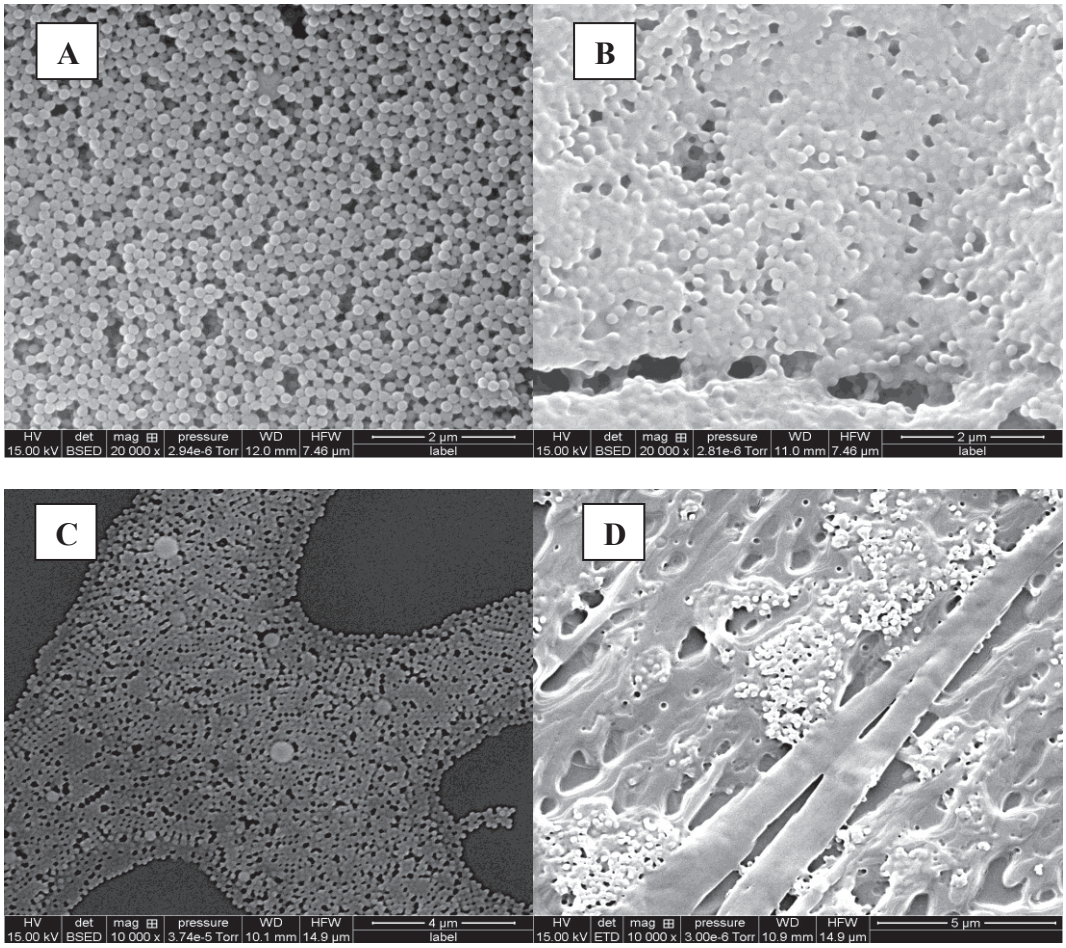

Figure II-11 : Morphologies MEB des nanoparticules PMMA diluées 200 fois : Dans l'eau en milieu libre **(A)** et sur une plaque en COC **(C)** Dans l'eau + 0.1 % wt. SDS (% wt. par rapport à l'eau) en milieu libre **(B)** et sur une plaque en COC **(D)**. Grossissement MEB × 20000 (A-B) × 10000 (C-D). Tension 15 kV.

Même si le comportement des nanoparticules en présence de SDS n'est pas élucidé, ces observations confirment qu'il est préférable de minimiser les apports en SDS qui auront non seulement un impact sur l'approche des gouttes à la surface COC mais également un impact très négatif sur l'aspect final, observé au MEB, des nanoparticules obtenues après polymérisation.

II.5.2 Intérêt de la diminution du caractère hydrophobe du COC

Dans cette voie de synthèse, un amorceur photochimique crée par abstraction d'hydrogène des sites actifs à la surface du COC natif sur lesquels on vient faire réagir

des monomères de diacrylate PEGDA, créant un réseau de chaines hydrophiles (Figure II-12) [24, 26].

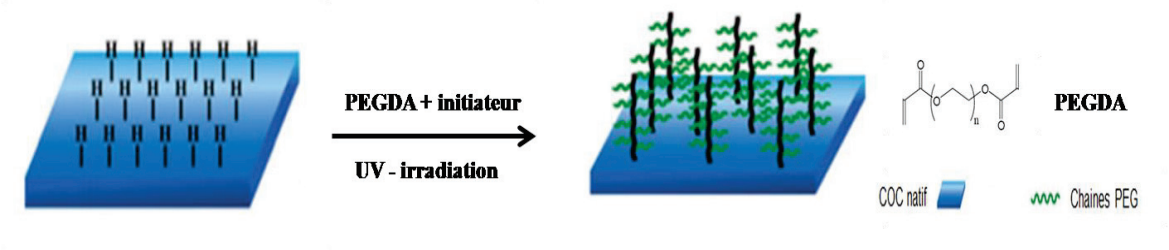

Figure II-12 : Schéma de la fonctionnalisation de la surface par un monomère hydrophile (exemple du polyéthylène glycol diacrylate PEGDA) [24].

Nous avons choisi d'utiliser la BME comme amorceur, à une concentration de 2.5 % wt. par rapport à la masse du monomère PEGDA. Ces deux réactifs sont solubilisés dans 50/50 (v/v) acétone/eau et irradiés au contact de la surface COC. Le choix des réactifs est lié à des travaux préliminaires réalisés sur la fonctionnalisation de la surface du COC au sein du laboratoire [27].

Après rinçage du microsystème avec 50/50 (v/v) acétone/eau puis avec 100 % d'eau, il est rempli avec la miniémulsion d'intérêt. Sous irradiation UV, les gouttes polymérisent et forment des nanoparticules. La miniémulsion contenant moins de tensioactif sera peut-être plus compatible avec la surface du matériau que la microémulsion et permettrait d'ancrer les nanoparticules résultantes aux chaînes acrylate accessibles sur la surface COC.

La photopolymérisation de la miniémulsion sur une surface COC native montre l'absence de particules dans un canal hydrophobe non fonctionnalisé (Figure II-13 A). Par contre, lorsque le canal est traité avec le mélange PEGDA 0.1 M et BME à 2.5 % wt. par rapport au monomère dans 50/50 (v/v) acétone/eau (irradiation 10 min, 1.7 mW/cm²), on observe l'ancrage de nombreuses particules (Figure II-13 B). La diminution du caractère hydrophobe du matériau par le greffage PEGDA a considérablement amélioré l'ancrage des nanoparticules à la paroi du COC.

Ainsi, la combinaison d'une étape de traitement avec du PEGDA pour rendre la surface COC hydrophile avec l'utilisation d'une formulation à teneur diminuée en SDS a permis d'observer des nanoparticules sphériques, de taille relativement proches et ancrées à la paroi COC.

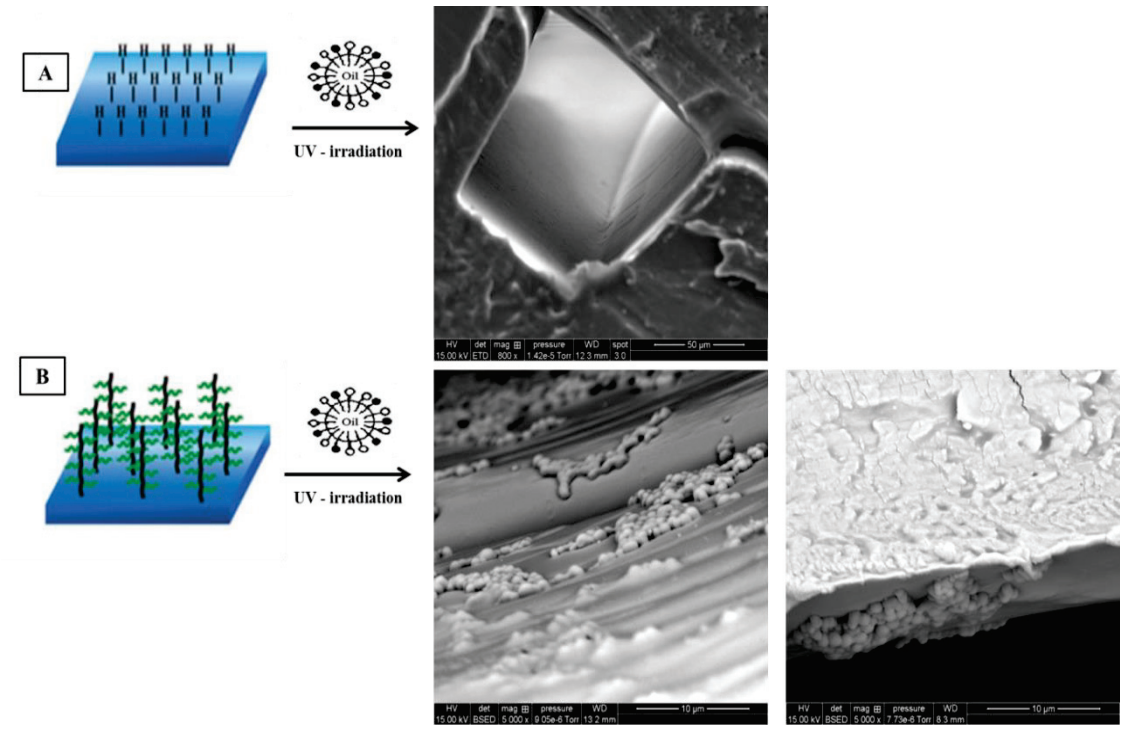

Figure II-13 : Morphologies MEB des particules dans **(A)** un microsystème en COC natif et **(B)** un microsystème fonctionnalisé avec une solution de (0.1 M PEGDA + 2.5 % wt. BME dans 50/50 (v/v) acétone/eau irradiée 10 min, 1.7 mW/cm². Miniémulsion irradiée 10 min, 1.7 mW/cm². Grossissement MEB × 800 (a) × 5000 (b). Tension 15 kV.

II.6 Conclusions

Ces expériences préliminaires montrent une voie prometteuse de la synthèse des nanoparticules dans des microsystèmes en COC fonctionnalisés par un monomère hydrophile.

L'approche d'une miniémulsion huile dans l'eau sur une surface COC nécessite un greffage de chaînes PEG hydrophiles avant la photopolymérisation des gouttes. Pour cela une étude poussée d'optimisation de la composition de la formulation ainsi que de l'étape de modification de surface est nécessaire.

Dans un premier temps, l'objectif est d'optimiser la composition de la miniémulsion, afin d'obtenir une formulation stable avec un minimum de tensioactif favorisant la synthèse après photopolymérisation de nanoparticules relativement monodisperses avec des tailles moyennes inférieures à 200 nm qui permettraient de répondre au cahier de charges préalablement défini (chapitre I). Cette optimisation sera l'objet du chapitre suivant. Puis dans le chapitre IV, nous montrerons comment la modification de surface du COC par des chaines hydrophiles influence également la formation de nanoparticules à sa surface.

Références bibliographiques

1. Babaç, C., et al., *Production of nanoparticles of methyl methacrylate and butyl methacrylate copolymers by microemulsion polymerization in the presence of maleic acid terminated poly(N-acetylethylenimine) macromonomers as cosurfactant.* European Polymer Journal, 2004. **40**(8): p. 1947-1952.
2. Landfester, K., et al., *Formulation and Stability Mechanisms of Polymerizable Miniemulsions.* Macromolecules, 1999. **32**(16): p. 5222-5228.
3. Landfester, K., *Recent developments in miniemulsions — formation and stability mechanisms.* Macromolecular Symposia, 2000. **150**(1): p. 171-178.
4. Capek, I., et al., *Microemulsion Radical Polymerization of Alkyl Acrylates.* Polymer International, 1997. **43**(1): p. 1-7.
5. Ming, W., et al., *Formation of Irreversible Nearly Transparent Physical Polymeric Hydrogels during a Modified Microemulsion Polymerization.* Macromolecules, 1999. **32**(2): p. 528-530.
6. Bandilla, D. and C.D. Skinner, *Protein separation by monolithic capillary electrochromatography.* Journal of Chromatography A, 2003. **1004**(1–2): p. 167-179.
7. Bedair, M. and R.D. Oleschuk, *Lectin affinity chromatography using porous polymer monolith assisted nanoelectrospray MS/MS.* Analyst, 2006. **131**(12): p. 1316-1321.
8. Ladner, Y., et al., *New "one-step" method for the simultaneous synthesis and anchoring of organic monolith inside COC microchip channels.* Lab on a Chip, 2012. **12**(9): p. 1680-1685.
9. Yang, W. and B. Rånby, *Radical Living Graft Polymerization on the Surface of Polymeric Materials.* Macromolecules, 1996. **29**(9): p. 3308-3310.
10. Ma, Y., L. Liu, and W. Yang, *Photo-induced living/controlled surface radical grafting polymerization and its application in fabricating 3-D micro-architectures on the surface of flat/particulate organic substrates.* Polymer, 2011. **52**(19): p. 4159-4173.
11. Ma, H., R.H. Davis, and C.N. Bowman, *A Novel Sequential Photoinduced Living Graft Polymerization.* Macromolecules, 1999. **33**(2): p. 331-335.
12. Rohr, T., et al., *Surface Functionalization of Thermoplastic Polymers for the Fabrication of Microfluidic Devices by Photoinitiated Grafting.* Advanced Functional Materials, 2003. **13**(4): p. 264-270.
13. Zhao, C., Z. Zhang, and W. Yang, *A remote photochemical reaction for surface modification of polymeric substrate.* Journal of Polymer Science Part A: Polymer Chemistry, 2012. **50**(18): p. 3698-3702.
14. Schneider, M.H., Y. Tran, and P. Tabeling, *Benzophenone Absorption and Diffusion in Poly(dimethylsiloxane) and Its Role in Graft Photo-polymerization for Surface Modification.* Langmuir, 2011. **27**(3): p. 1232-1240.
15. Wang, Y., et al., *Directly Fabricating Monolayer Nanoparticles on a Polymer Surface by UV-Induced MMA/DVB Microemulsion Graft Polymerization.* Macromolecular Rapid Communications, 2005. **26**(2): p. 87-92.
16. Wang, Y. and W. Yang, *MMA/DVB Emulsion Surface Graft Polymerization Initiated by UV Light.* Langmuir, 2004. **20**(15): p. 6225-6231.

17. Chemtob, A., et al., *Photoinduced miniemulsion polymerization.* Colloid and Polymer Science, 2010. **288**(5): p. 579-587.
18. Hu, X., J. Zhang, and W. Yang, *Preparation of transparent polystyrene nano-latexes by an UV-induced routine emulsion polymerization.* Polymer, 2009. **50**(1): p. 141-147.
19. Frisken, B.J., *Revisiting the method of cumulants for the analysis of dynamic light-scattering data.* Applied Optics, 2001. **40**(24): p. 4087-4091.
20. Koppel, D.E., *Analysis of Macromolecular Polydispersity in Intensity Correlation Spectroscopy: The Method of Cumulants*. 1972, Journal of Chemical Physics. p. 4814.
21. *Malvern Instruments, Guide pratique de la granulométrie laser* 1997.
22. Ohshima, H., T.W. Healy, and L.R. White, *Accurate analytic expressions for the surface charge density/surface potential relationship and double-layer potential distribution for a spherical colloidal particle.* Journal of Colloid and Interface Science, 1982. **90**(1): p. 17-26.
23. Hunter, R.J., *Zeta potential in colloid science Principles and Applications*. 1981, Academic Press : London, New York.
24. Feng, Y., et al., *Grafting of poly(ethylene glycol) monoacrylates on polycarbonateurethane by UV initiated polymerization for improving hemocompatibility.* Journal of Materials Science: Materials in Medicine, 2013. **24**(1): p. 61-70.
25. Ouadah, N., et al., *Correlation between the Charge of Polymer Particles in Solution and in the Gas Phase Investigated by Zeta-Potential Measurements and Electrospray Ionization Mass Spectrometry.* Langmuir, 2013. **29**(46): p. 14074-14081.
26. Stachowiak, T.B., et al., *Hydrophilic surface modification of cyclic olefin copolymer microfluidic chips using sequential photografting.* J Sep Sci, 2007. **30**(7): p. 1088-93.
27. Ladner, Y., *Développement de microsystèmes électrochromatographiques en copolymère d'oléfine cyclique (COC)*. 2012, Thèse, Université Claude Bernard Lyon1.

Chapitre III

Optimisation de la composition de la miniémulsion par plan d'expériences

Ce chapitre a fait l'objet d'une publication présentée en annexe:

« Response surface optimization of miniemulsion: application to UV synthesis of hexyl acrylate nanoparticles » in Colloid and Polymer Science Journal.

III.1 Introduction

Dans le chapitre précédent, nous avons observé que l'ancrage des nanoparticules de polyhexyl acrylate sur une surface en copolymère d'oléfine cyclique (COC) était fortement défavorisé par l'utilisation dans la formulation initiale de quantités importantes de tensioactif anionique (SDS). Nous avons donc écarté les microémulsions : ces systèmes, bien que thermodynamiquement stables et permettant l'obtention après photopolymérisation de nanoparticules monodisperses de taille moyenne inférieure à 100 nm, nécessitent de grandes quantités de tensioactif à des concentrations supérieures à la concentration micellaire critique (CMC). Nous avons alors choisi de travailler sur la base de miniémulsions d'hexyl acrylate.

L'objectif de ce chapitre est d'optimiser la composition de la miniémulsion pour obtenir une formulation stable conduisant, après photopolymérisation, à des nanoparticules relativement monodisperses (de diamètre moyen < à 200 nm) avec une quantité minimale de SDS. La démarche a consisté à utiliser un plan d'expériences afin d'étudier l'influence de la quantité du sodium dodecyl sulfate (SDS), de l'hexyl acrylate (HA) et du pentadécane (C_{15}) sur la distribution granulométrique des gouttes (diamètre moyen d et indice de polydispersité PdI_{DLS}) mesurée par diffusion dynamique de la lumière (DLS). L'analyse en DLS nécessitant de fortes dilutions de l'échantillon et les miniémulsions pouvant y être sensibles, des expériences préliminaires ont été réalisées pour valider la robustesse de cette technique pour la caractérisation des miniémulsions d'hexyl acrylate.

Après avoir décrit le protocole expérimental suivi ainsi que les méthodes de caractérisation physico-chimiques utilisées, les résultats issus de l'étude de robustesse ainsi que du plan d'expériences seront présentés et discutés. Les principaux résultats de ce chapitre font l'objet d'une publication.

III.2 Matériels et méthodes

III.2.1 Réactifs

Les produits chimiques sont fournis chez Sigma Aldrich (Isle – d'Abeau, France) et sont utilisés tels que reçus : dodécyl sulfate de sodium (SDS), acide 2-acrylamido-2-méthylpropane sulfonique (AMPS), hexyl acrylate (HA), pentadécane (C_{15}), benzoine méthyléther (BME). Les émulsions formulées sont de type huile dans eau avec une phase aqueuse préparée dans de l'eau ultra pure (Milli-Q de résistivité de 18 MΩ).

III.2.2 Protocole expérimental

Le dodécyl sulfate de sodium (SDS) et l'acide 2-acrylamido-2-méthylpropane sulfonique (AMPS) sont solubilisés dans l'eau pour constituer la phase aqueuse. La phase organique est préparée en mélangeant l'hexyl acrylate (HA), l'amorceur qui est la benzoine méthyléther (BME) et le co-stabilisant, le pentadécane (C_{15}), qui est un alcane hydrophobe qui limitera le mûrissement d'Ostwald.

Les deux phases sont mélangées dans un bécher pendant 10 min sous agitation magnétique à 700 tr/min. La pré-émulsion ainsi obtenue est ensuite soniquée à l'aide d'un sonificateur (W450 DigitalBranson) pendant 3 min sous une amplitude de 50 % et une agitation magnétique de 300 tr/min.

La miniémulsion produite est ensuite irradiée sous UV ce qui permet de former des nanoparticules (Figure III-1).

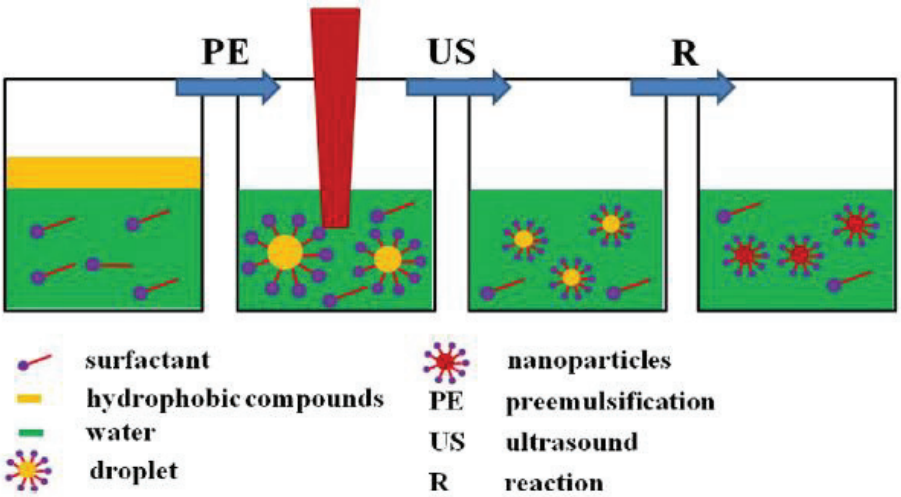

Figure III-1 : Schéma représentatif du protocole expérimental de préparation d'une miniémulsion suivie d'une réaction photochimique des gouttes en nanoparticules [1].

III.2.3 Synthèse photochimique

La synthèse des nanoparticules en milieu libre se fait dans un flacon en verre irradié sous UV pendant un temps d'irradiation bien défini et sous une intensité d'irradiation contrôlée par la distance qui sépare l'échantillon des lampes UV et mesurée par un capteur VLX-3W. La température lors de la synthèse photochimique est fixée à 30 °C par un effet Peltier (Electronic Micro Systems Ltd, UK).

III.2.4 Caractérisation des gouttes et des nanoparticules résultantes

III.2.4.1 Suivi de la stabilité des miniémulsions par diffusion multiple de la lumière

Lorsqu'un faisceau lumineux éclaire une dispersion (suspension, émulsion), la lumière subit un processus de diffusion/absorption qui est fonction de la longueur d'onde Λ de la lumière incidente et des propriétés optiques des phases dispersées et continues (indices de réfraction).

Dans le cas de dispersions diluées ou transparentes (régime de diffusion simple de la lumière), les photons du faisceau lumineux incident subissent, au plus, une diffusion dans le milieu et le traversent : le flux lumineux est transmis. Dans le cas de dispersions concentrées ou opaques (régime de diffusion multiple de la lumière), les photons ne peuvent pas traverser le milieu et sont rétrodiffusés. Les flux lumineux transmis et rétrodiffusés sont influencés par l'évolution du diamètre moyen et de la fraction volumique des particules dispersées (ou gouttelettes dans le cas des émulsions). Une instabilité physico-chimique de la dispersion (floculation, coalescence,…) ou une migration des particules (sédimentation, crémage,…) se traduit alors par une variation spatiale ou temporelle du flux transmis ou rétrodiffusé par le milieu. Des modèles physiques ainsi que la théorie de Mie permettent de relier l'évolution des niveaux de transmission et de rétrodiffusion aux paramètres physiques du milieu que sont le diamètre moyen et la fraction volumique en particules (gouttelettes) [2, 3].

Le Turbiscan MA 2000 (Formulaction, Toulouse) est un appareil de caractérisation optique des dispersions concentrées, basé sur le principe de la diffusion multiple de la lumière. Il permet un balayage vertical d'une cellule de mesure (tube en verre) contenant l'échantillon à analyser. Une diode luminescente infra-rouge (longueur d'onde $\Lambda = 0.85$ µm) éclaire le tube et deux photo-détecteurs captent respectivement les flux lumineux rétrodiffusés R sous un angle de 45° (par rapport au faisceau incident) et les flux transmis T sous un angle de 180° par la dispersion (Figure III-2). Le Turbiscan analyse les variations du flux lumineux transmis ou rétrodiffusé sur la hauteur du tube tous les 40 µm.

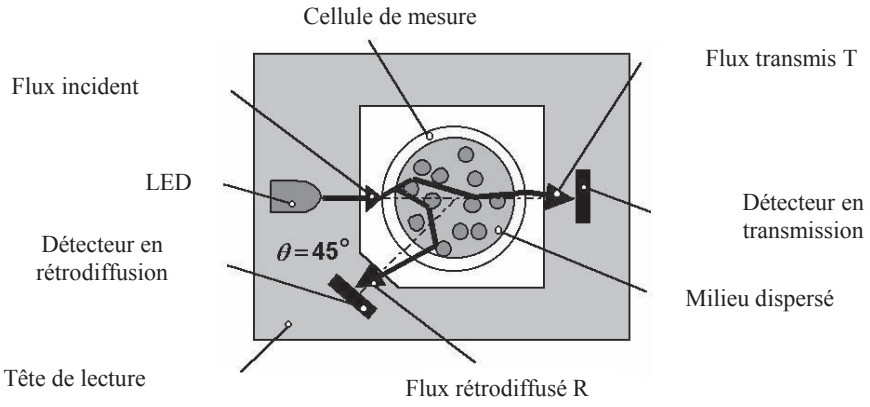

Figure III-2 : Schéma simplifié de la tête de lecture du Turbiscan coupe transversale.

Nos miniémulsions étant opaques, elles seront caractérisées par un flux rétrodiffusé R.

III.2.4.2 Distribution de taille

Les gouttes, ainsi que les nanoparticules résultantes de la photopolymérisation de la miniémulsion, sont caractérisées par diffusion dynamique de lumière (DLS) en terme de diamètre *d* et d'indice de polydispersité PdI_{DLS} (cf. partie II.2.6).

L'échantillon est dilué 200 fois dans un volume d'eau avant analyse. Dans le cas des miniémulsions, l'analyse est réalisée 2 h après leur préparation.

III.2.4.3 Taux de conversion

Le taux de conversion des monomères en nanoparticules est suivi par une analyse thermogravimétrique (TGA Q50 – TA instruments). La thermogravimétrie est une méthode d'analyse thermique qui permet de suivre la variation de masse d'un échantillon en fonction du temps ou de la température dans une atmosphère contrôlée. L'échantillon de nanoparticules est placé dans une nacelle en platine maintenue dans une atmosphère inerte par balayage d'azote N_2 afin d'éviter les réactions d'oxydation ou d'autres réactions indésirables lors de l'analyse.

La méthode sélectionnée consiste à appliquer un isotherme à 30°C pendant 100 min, suivi d'une augmentation de la température par un gradient de 10°C/min jusqu'à 600°C.

III.2.5 Plan d'expériences

Pour pouvoir prédire la granulométrie des miniémulsions en fonction des quantités de pentadécane C_{15} (X1), de tensioactif SDS (X2) et de monomère HA (X3), nous avons utilisé une matrice composite face centrée. La granulométrie est décrite par deux

grandeurs qui ont été utilisées comme réponse dans le plan d'expériences : Y1 qui est la mesure de la taille moyenne des gouttes *d* après 2 h de préparation et Y2 qui est la valeur de l'indice de polydispersité PdI_{DLS}.

Ce type de plan d'expériences permet de postuler un modèle quadratique du second degré :

$$\boldsymbol{Y = b_0 + b_1X_1 + b_2X_2 + b_3X_3 + b_{12}X_1X_2 + b_{13}X_1X_3 + b_{23}X_2X_3 + b_{11}X_1^2 + b_{22}X_2^2 + b_{33}X_3^2}$$ **Équation III-1**

où Y représente les valeurs des réponses (Y1 et Y2), X_i sont les variables codées, b_{ij} les termes d'interaction d'ordre 1 et b_{ii} les coefficients quadratiques.

Le plan d'expérimentation est composé de 17 expériences : un plan factoriel complet 2^3 correspondant à toutes les combinaisons possibles pour 3 facteurs à deux niveaux codés, 6 points dits axiaux à une distance $\alpha = 1$ du centre du domaine et l'expérience au centre répétée 3 fois pour évaluer la reproductibilité de la formulation. Les facteurs expérimentaux et leurs niveaux sont présentés dans le Tableau III-1

Le domaine expérimental varie entre 0.1 % wt. – 0.6 % wt. pour la quantité de C_{15}, 1 % wt. – 3% wt. pour la quantité de SDS (correspondant à 5 x CMC $_{SDS}$ – 15 x CMC $_{SDS}$) et 5 % wt. – 15 % wt. de HA par rapport à la masse d'eau (Tableau III-1). La quantité de C_{15} correspond à 2 % wt. – 4 % wt. par rapport au monomère comme indiqué dans la littérature [4, 5].

Tableau III-1 : Domaine expérimental pour chaque facteur, exprimé en pourcentage massique par rapport à la masse d'eau.

Niveaux codés	**C_{15} (% wt.)**	**SDS (% wt.)**	**HA (% wt.)**
-1	0.1	1	5
0	0.35	2	10
1	0.6	3	15

Les coefficients du modèle de régression linéaire multiple ont été calculés par la méthode des moindres carrés. L'analyse de variance (ANOVA) et des résidus associés aux modèles développés ont été obtenus à l'aide du logiciel NemrodW® (LPRAI, Marseille, France).

III.3 Résultats et discussion

Des expériences préliminaires ont été réalisées pour définir le domaine expérimental à étudier avec le plan d'expériences mais aussi pour s'assurer de la fiabilité des réponses mesurées, car les mesures DLS sont réalisées après dilution, et les miniémulsions peuvent y être sensibles. Après avoir présenté ces expériences préliminaires, les résultats issus du plan d'expériences seront analysés.

III.3.1 Expériences préliminaires

III.3.1.1 Stabilité des miniémulsions

L'évolution temporelle du flux rétrodiffusé par une miniémulsion (0.1 % wt. SDS, 0.025 % wt. d'AMPS, 5 % wt. HA, 0.35 % wt. C_{15} et 0.125 % wt. BME par rapport la m_{eau}) est mesurée à l'aide du Turbiscan avec un scan complet toutes les 10 minutes sur les deux premières heures puis toutes les 30 minutes pendant 16 heures (Figure III-3). A chaque temps (un temps correspond à une couleur sur le graphe), le niveau de rétrodiffusion R est constant sur l'ensemble de l'échantillon (partie (b)), ce qui est caractéristique d'une émulsion homogène. Par contre, ce niveau augmente au cours du temps indiquant une évolution de la miniémulsion. Pour mieux observer cette évolution, la Figure III-4 illustre le flux rétrodiffusé mesuré à mi-hauteur de l'échantillon en fonction du temps. La mesure ayant été réalisée trois fois, la valeur moyenne de R et les barres d'erreur correspondant à l'écart-type (déterminé par les répétitions d'expériences) sont présentés sur le graphe : les résultats traduisent une grande reproductibilité des mesures ce qui permet de confirmer la robustesse du protocole de mesure en DLS. La valeur moyenne de R évolue de 53 à 70 % avec une cinétique plus rapide dans les premières heures. Au-delà de 10 h, les variations de R ne sont plus significatives.

D'un point de vue théorique, à fraction volumique constante, le niveau de rétrodiffusion d'une dispersion augmente avec le diamètre moyen des particules jusqu'à $d \approx \Lambda = 850$ nm, puis diminue. Cette évolution est due au fait que des particules de dimension faible devant Λ, la longueur d'onde de la diode de mesure, diffusent la lumière de façon isotrope alors que des particules plus grosses diffusent préférentiellement vers l'avant, ce qui diminue le flux lumineux rétrodiffusé.

En considérant une fraction volumique en gouttes constante dans l'échantillon (pas de phénomènes de sédimentation ou de crémage), le diamètre moyen des gouttes peut être approximé à partir du niveau de rétrodiffusion et sur la base de la théorie de Mie

(avec les indices de réfraction de 1.33 et 1.43 pour l'eau et l'hexyl acrylate respectivement). La Figure III-4 permet également d'observer l'évolution temporelle du diamètre moyen théorique des gouttes correspondant à celle du R mesuré. On observe une augmentation du diamètre moyen en fonction du temps : il évolue d'environ 210 à 260 nm sur 18 h. L'évolution est plus rapide sur les premières heures, avec une augmentation de 210 nm à 240 nm en 5 heures. Ces résultats sont en accord avec les travaux de Landfester *et al.* [6] qui ont repéré une évolution lente de la distribution en taille d'une miniémulsion au cours du temps pour atteindre un état colloidal stable après 100 h.

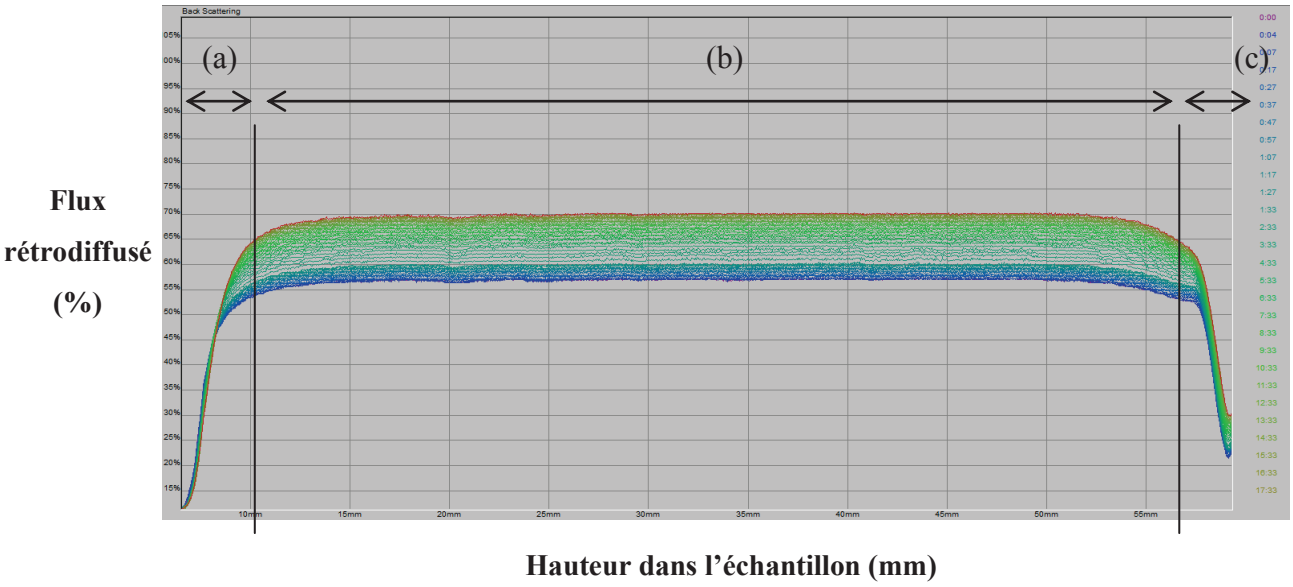

Figure III-3 : Evolution temporelle du flux rétrodiffusé R (%) en fonction de la hauteur dans l'échantillon. La partie (a) correspond à l'interface entre le bouchon au bas de la cellule de mesure et l'échantillon, la partie (b) à l'échantillon et la partie (c) à l'interface échantillon-air en haut de la cellule de mesure.

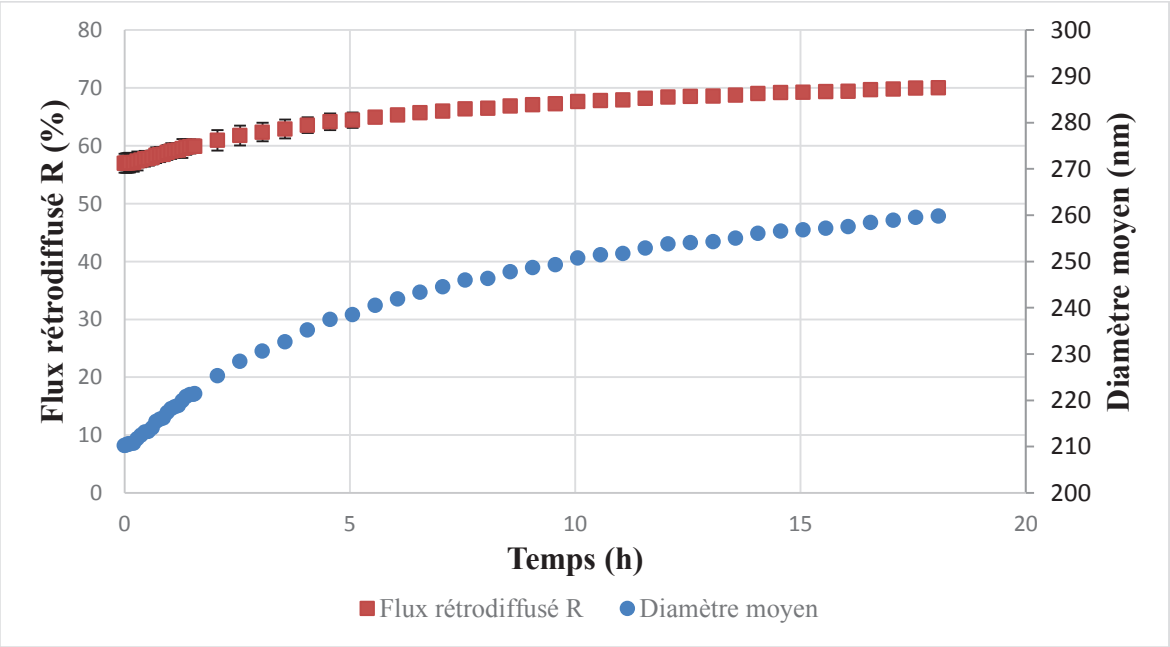

Figure III-4 : Evolution temporelle du flux rétrodiffusé R par une miniémulsion composée de 0.1 % wt. SDS, 0.025 % wt. d'AMPS, 5 % wt. HA, 0.35 % wt. C_{15} et 0.125 % wt. BME et évolution correspondante du diamètre moyen théorique des gouttes de la miniémulsion.

Par ailleurs, compte-tenu de la reproductibilité des mesures, et pour pouvoir réaliser le même jour la formulation de la miniémulsion et la synthèse associée des nanoparticules par photopolymérisation, nous avons choisi de caractériser la distribution granulométrique des miniémulsions après 2 heures de préparation. C'est donc à partir de la distribution granulométrique de la miniémulsion mesurée après 2 heures que les deux réponses du plan d'expériences (diamètre moyen des gouttes et indice de polydispersité) seront obtenues.

III.3.1.2 Influence du pentadécane

La Figure III-5 met en évidence l'influence de l'ajout du pentadécane sur la distribution en taille des gouttes. Le diamètre moyen passe de 1,8 µm avec une distribution bimodale (PdI_{DLS} de 0.24) à une taille de gouttes monodisperses de 174 nm avec un PdI_{DLS} de 0.06 pour 4 % wt. de pentadécane par rapport à la masse du monomère HA. Ce gain en diamètre et en monodispersité montre l'intérêt d'optimiser la quantité du pentadécane dans la formulation pour limiter le mûrissement d'Ostwald [7-9].

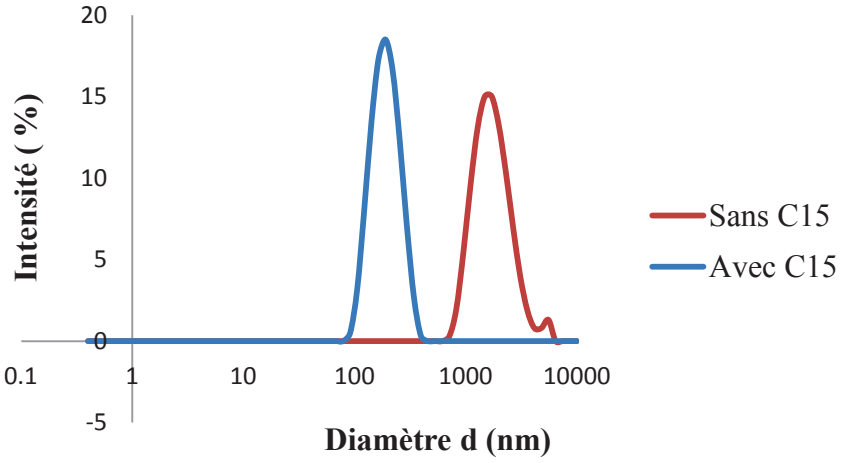

Figure III-5 : Distribution de taille de gouttes issues d'une formulation contenant : 1.5 % wt. SDS dans l'eau et 10 % wt. HA (% wt. par rapport à l'eau) sans C_{15} (en rouge) et avec 4 % wt. C_{15} par rapport à m_{HA} (en bleu).

III.3.1.3 Corrélation entre les distributions en taille des gouttes avant et après photopolymérisation

Pour une composition de miniémulsion simple (sans amorceur ni monomère chargé), l'addition de l'amorceur photochimique BME est indispensable à la synthèse des nanoparticules. L'ajout de monomère chargé AMPS est également réalisé de façon à avoir suffisamment de charges négatives à la surface des nanoparticules pour générer un flux électroosmotique nécessaire à l'électrochromatographie. Par conséquent, des expériences préliminaires ont été réalisées dans le but i) de vérifier que ces ajouts ne déstabilisent pas la miniémulsion et ii) de suivre la corrélation entre les distributions en taille des gouttes et celles des nanoparticules résultantes.

Deux miniémulsions qui présentent deux granulométries très différentes ont ainsi été réalisées pour une concentration en hexyl acrylate HA = 15 % wt. par rapport à la quantité d'eau. L'une, contenant une quantité maximale en co-stabilisant de 0.6 % wt., est monomodale et relativement monodisperse (Figure III-6a) avec un diamètre moyen de 175 nm et le PdI_{DLS} de 0.14 et l'autre, formulée avec une quantité faible de co-stabilisant de 0.1 % wt., est bimodale (Figure III-6b) avec un diamètre moyen 325 nm et le PdI_{DLS} de 0.5.

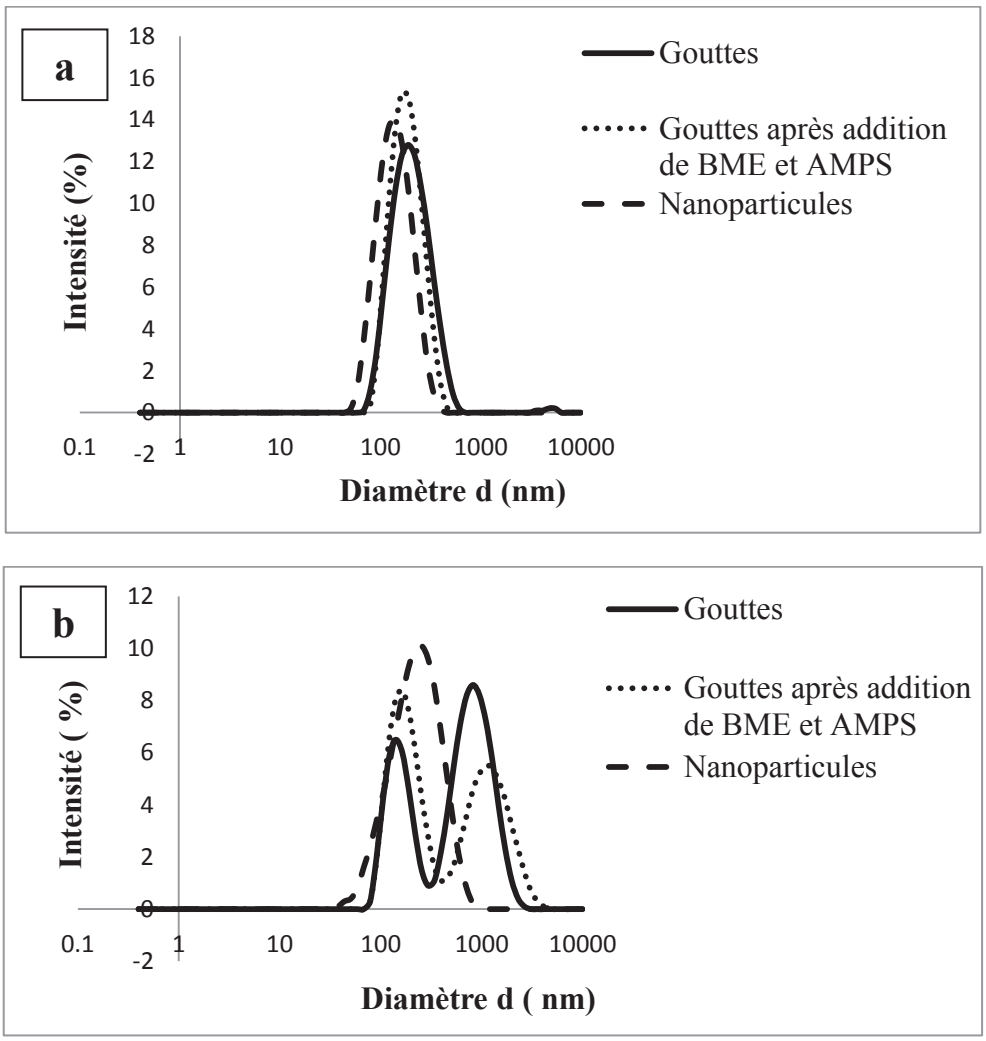

Figure III-6 : Distribution en tailles des gouttes avant (tiret plein) et après ajout de BME et d'AMPS (en pointillé). Les nanoparticules résultantes suite à l'irradiation de 30 min à 30 °C et sous une intensité d'irradiation P de 2.7 mW/cm² sont tracées en tiret. **Formulation (a)** : 1 % wt. SDS + **0.6 %** wt. $\mathbf{C_{15}}$ + 15 % wt. HA + 0.075 % wt. AMPS + 0.375 % wt. BME dans 100 g d'eau. **Formulation (b) :** 1 % wt. SDS + **0.1 %** wt. $\mathbf{C_{15}}$ + 15 % wt. HA + 0.075 % wt. AMPS + 0.375 % wt. BME dans 100 g.

L'ajout de BME et d'AMPS en pourcentage fixe de 0.375 % wt. et 0.075 % wt. par rapport à la masse d'eau respectivement n'a pas d'influence significative sur les distributions granulométriques des gouttes en termes de polydispersité pour ces deux formulations : la première miniémulsion reste relativement monodisperse avec un PdI_{DLS} de 0.14 et la seconde reste bimodale avec un PdI_{DLS} de 0.47.

Les miniémulsions issues de ces formulations ont ensuite été irradiées dans les conditions suivantes : temps d'irradiation de 30 min sous une intensité d'irradiation de 2.7 mW/cm².

La distribution granulométrique des nanoparticules résultant de la minémulsion monodisperse présente un diamètre moyen plus petit (d = 130 nm) et un indice de polydispersité PdI_{DLS} de 0.13 (Figure III-6 a). Ces caractéristiques permettent de répondre au cahier de charge. Les nanoparticules issues de la formulation polydisperse (b) présentent également une distribution en taille bimodale (Figure III-6 b).

III.3.1.4 Conclusion

Ces expériences préliminaires ont permis de valider les mesures DLS pour la caractérisation des miniémulsions. L'évolution lente de ces milieux sur une quinzaine d'heures nous a conduits à réaliser les analyses DLS après 2 h de préparation. Ces expériences ont par ailleurs aidé à montrer la corrélation entre la distribution en taille des gouttes et celle des nanoparticules résultantes après photopolymérisation, qui ont des tailles moyennes plus petites ou au mieux égales à celles des gouttes initiales, et des indices de polydispersité similaires.

Ainsi, l'analyse de la distribution en taille des gouttes permet de présager des caractéristiques des nanoparticules finales.

Sur la base de ces résultats, nous avons choisi de travailler à l'optimisation de la formulation de miniémulsion. Pour cela, nous avons utilisé un plan d'expériences pour étudier l'influence de la quantité en tensioactif SDS, en monomère HA et en co-surfactant le pentadécane sur la distribution en taille des gouttes de minémulsions. L'objectif est d'obtenir des gouttes monodisperses de diamètre inférieur à 200 nm pour synthétiser des nanoparticules ayant les mêmes caractéristiques.

III.3.2 Optimisation de la formulation par plan d'expériences

L'objectif est d'optimiser les quantités de tensioactif, de monomère et de pentadécane C_{15} en déterminant, par plan d'expériences, l'influence de ces composés sur la distribution en taille (d et PdI_{DLS}) des gouttes obtenues.

Ici, toutes les concentrations (dont la concentration en SDS) ont été exprimées en % massique par rapport à la quantité d'eau, de façon à ce que les facteurs expérimentaux étudiés via le plan d'expériences correspondent à des variables indépendantes (on peut fixer leur valeur indépendamment de celle des autres).

Dans la littérature dédiée aux miniémulsions, la concentration en tensioactif évolue entre 0.1 et 50 % wt. (par rapport au monomère), ce qui implique souvent des conditions de concentration au-dessus de la CMC.

Le domaine expérimental étudié évolue pour le SDS de 1 à 3 % wt. (soit environ entre 5 et 15 fois la CMC du SDS qui est de 0.2% wt. par rapport à l'eau), pour le monomère de 5 à 15 % wt. et pour le pentadécane de 0.1 à 0.6% wt.. Les quantités de C_{15} correspondent à 2 à 4% wt. par rapport à la quantité de monomère et ont été définies sur la base de la littérature [4, 5, 10-17].

Les formulations correspondantes ainsi que les réponses expérimentales sont reportées dans le Tableau III-2. Les formulations 15, 16 et 17 sont les répétitions de l'expérience au centre du domaine. Selon les expériences, la taille moyenne des gouttes des miniémulsions évolue entre 140 nm et 325 nm et les PdI_{DLS} sont compris entre 0.1 et 0.5.

Tableau III-2 : Matrice d'expériences (variables codées), plan d'expérimentation (variables naturelles) et les deux réponses mesurées par DLS : Y_1 qui représente *d* et Y_2 qui est le PdI_{DLS}.

Formulation	Facteurs expérimentaux						Réponses	
	X1	X2	X3	C_{15} (% wt.)	SDS (% wt.)	HA (% wt.)	Y_1 : d (2h- nm)	Y_2 PdI_{DLS}
1	-1	-1	-1	0.1	1	5	210	0.26
2	1	-1	-1	0.6	1	5	147	0.13
3	-1	1	-1	0.1	3	5	178	0.24
4	1	1	-1	0.6	3	5	140	0.11
5	-1	-1	1	0.1	1	15	325	0.50
6	1	-1	1	0.6	1	15	185	0.16
7	-1	1	1	0.1	3	15	282	0.46
8	1	1	1	0.6	3	15	175	0.14
9	-1	0	0	0.1	2	10	235	0.41
10	1	0	0	0.6	2	10	160	0.14
11	0	-1	0	0.35	1	10	182	0.18
12	0	1	0	0.35	3	10	169	0.17
13	0	0	-1	0.35	2	5	150	0.12
14	0	0	1	0.35	2	15	189	0.23
15	0	0	0	0.35	2	10	180	0.16
16	0	0	0	0.35	2	10	171	0.19
17	0	0	0	0.35	2	10	174	0.17

Les 17 expériences ont été utilisées pour l'estimation des coefficients du modèle quadratique. Seuls les coefficients ayant une significativité (associée au t de Student) inférieure à 5 % sont conservés dans les modèles (Tableau III-3). Les résultats de l'ANOVA (tests de Fisher) indiquent que les modèles expliquent globalement bien les variations observées pour Y1 et Y2 : les valeurs de la statistique F sont de 78.8 et de 183.7 pour *d* et PdI_{DLS} respectivement, ce qui correspond à une probabilité < 0.01 % à ce que les variations des réponses ne soient dues qu'au bruit expérimental.

Tableau III-3 : Estimations des coefficients de régression pour les réponses d et PdI_{DLS} (avec un niveau de signification < 5 %).

Coefficients	d	PdI_{DLS}
b0	173.49	0.180
b1	-42.22	-0.119
b2	-10.51	-0.010
b3	33.18	0.063
b11	29.95	0.085
b22	-	-
b33	-	-0.013
b12	7.18	-
b13	-18.23	-0.049
b23	-	-

Le modèle de régression peut être évalué en comparant l'écart-type expérimental (SD_{exp}) (estimé par les points répétés du centre du domaine) et l'écart-type résiduel (SD_{res}). Des valeurs similaires de SD_{exp} et SD_{res} sont obtenues en modélisant les diamètres *d* et les PdI_{DLS} (Figure III-7). Les coefficients de détermination (R^2 et R^2a), issus de l'ANOVA, sont proches de 1 prouvant la qualité des régressions (Tableau III-4).

L'évaluation des modèles se fait aussi en analysant chaque résidu : pour chaque expérience, on calcule l'écart (appelé résidu) entre la valeur expérimentale de Y et la valeur prédite par le modèle. Le modèle est validé si les résidus sont de l'ordre de l'erreur expérimentale (que l'on commet en mesurant la réponse) estimée ici par l'intervalle de confiance à 95% soit 3 x SD_{exp}. Les résidus étant majoritairement dans cet intervalle de confiance, on peut alors valider les modèles développés et les utiliser pour prédire chaque réponse dans l'ensemble du domaine expérimental (Tableau III-4).

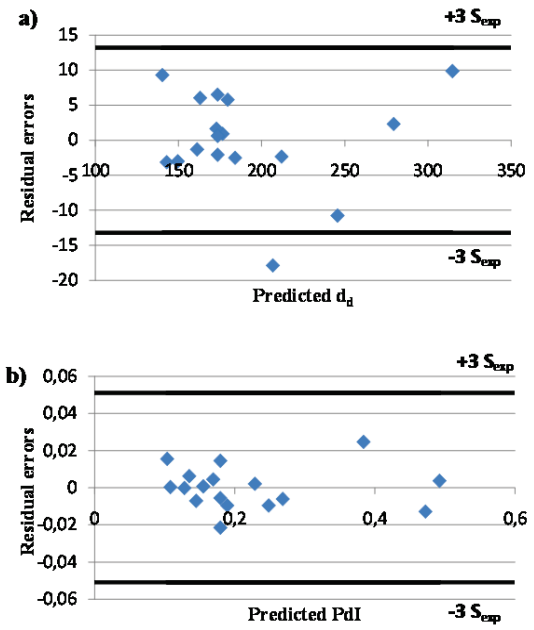

Figure III-7 : Les résidus obtenus pour (a) le diamètre moyen des gouttes d et (b) l'indice de polydispersité PdI_{DLS}.

Tableau III-4 : Estimations et statistiques des coefficients pour les réponses *d* et PdI_{DLS}.

	d Model	**PdI_{DLS} Model**
R^2	0.979	0.991
R^2adj	0.967	0.986
SD_{exp}[1]	4.400	0.017
SD_{res}[2]	8.812	0.014

[1]Estimation de l'écart type expérimental à partir de trois répétitions au centre du domaine.
[2] Estimation de l'écart type résiduel avec un degré de liberté égal à 10.

Nous pouvons alors tracer les courbes isoréponses qui vont nous permettre de proposer des conditions opératoires optimales pour la formulation de la miniémulsion. L'influence de la quantité de SDS et du pentadécane est représentée pour les deux pourcentages extrêmes du monomère (HA = 5 % wt. et HA = 15 % wt. par rapport à la m_{eau}) par des courbes isoréponses pour le diamètre moyen des gouttes ainsi que le PdI_{DLS} (Figure III-8).

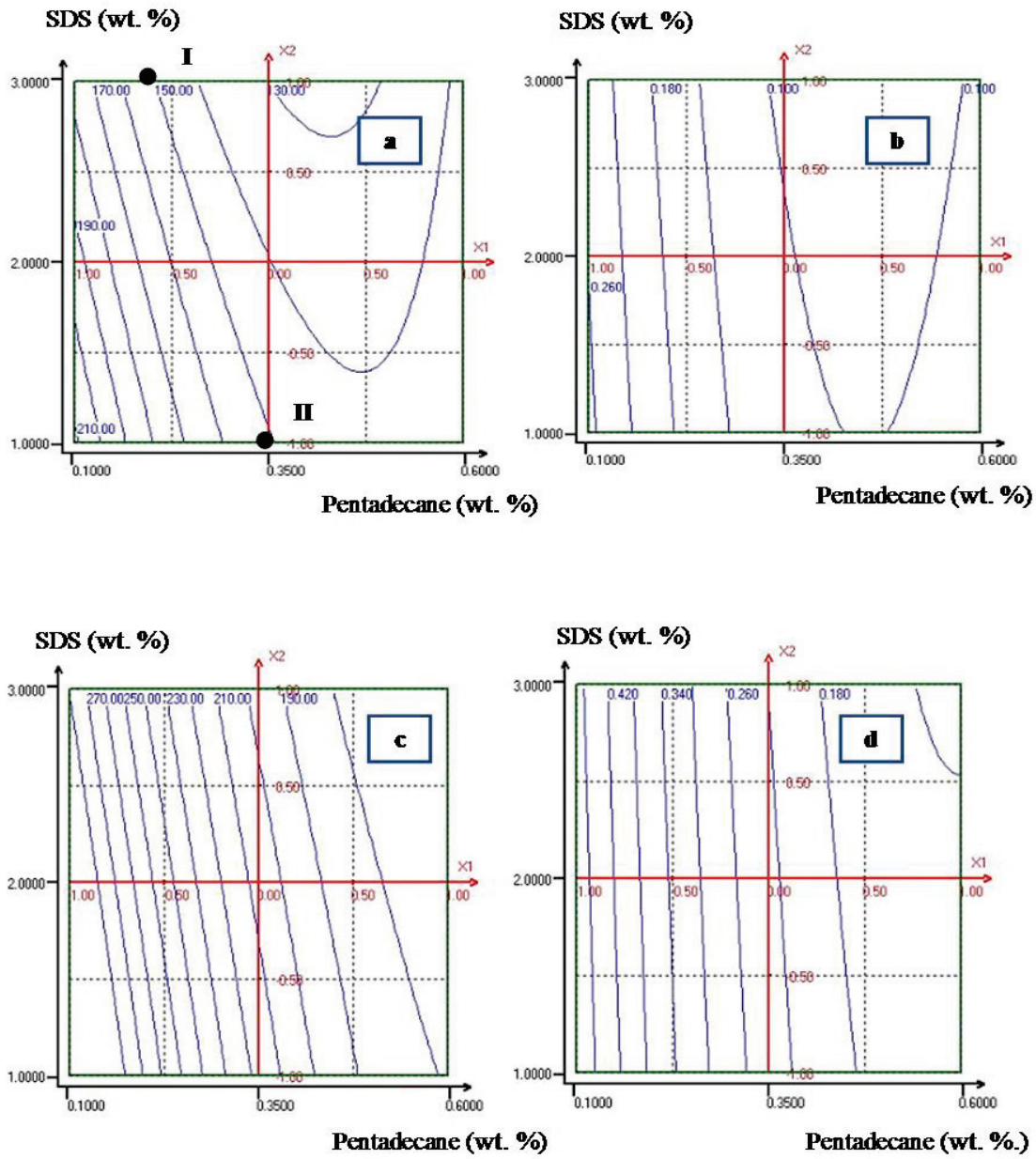

Figure III-8 : Représentation des courbes isoréponses : pour HA = 5%wt.. **(a)** diamètre moyen des gouttes *d*, **(b)** PdI_{DLS}. (Composition des formulations I : φ_{aq} : 3 % wt. SDS dans 100 g d'eau + φ_{org} : 5 % wt. HA+ 0.2 % wt. C_{15}, II : φ_{aq} : 1 % wt. SDS dans 100 g d'eau + φ_{org} : 5 % wt. HA+ 0.35 % wt. C_{15}), pour HA = 15% wt.. **(c)** diamètre moyen *d* des gouttes, **(d)** PdI_{DLS}.

La Figure III-8 indique que le diamètre moyen des gouttes varie significativement, de 130 nm à 210 nm avec des PdI_{DLS} compris entre 0.1 et 0.2 pour 5% wt. HA et de 175 nm à 300 nm avec des PdI_{DLS} de 0.14 à 0.46 pour 15 % wt. HA. Ceci dit, plus la concentration en monomère est importante, plus il y a formation de larges gouttes avec des PdI_{DLS} plus grands. La concentration de C_{15} affecte également les distributions en taille des gouttes: pour HA = 5 % wt. (Figure III-8a et b), l'augmentation de la concentration en C_{15} de 0.1 à 0.35 % wt. entraîne une diminution du diamètre moyen de

210 nm à 150 nm et du PdI_{DLS} de 0.26 à 0.1. Pour HA = 15 % wt. (Figure III-8 c et d), la même évolution de C_{15} se traduit par une diminution du diamètre de 270 nm à 210 nm avec des PdI_{DLS} qui passent de 0.42 à 0.26. La quantité en SDS influe légèrement sur la taille et le PdI_{DLS}, surtout pour des fortes concentrations en monomère. Pour les faibles quantités de HA, le SDS peut influencer les caractéristiques des gouttes à des fortes concentrations en C_{15} (> 0.35 % wt.).

A partir des modèles développés, on peut optimiser la formulation de la miniémulsion. Les plus petites gouttes monodisperses de tailles de 130 nm sont formulées à une concentration de HA égale à 5 % wt..

L'intérêt de ces modèles et donc des courbes isoréponses correspondantes réside dans le fait qu'ils permettent de connaître les différentes compositions de miniémulsion possibles pour obtenir une distribution spécifique en taille des gouttes.

Pour vérifier expérimentalement la faible influence de la quantité de SDS (dans le domaine étudié) sur les caractéristiques de la miniémulsion, deux formulations à 5% wt. d'HA ont été réalisées : l'une contenant 1% wt. de SDS (quantité minimale étudiée) et 0.2 % wt. de pentadécane (formulation I) et l'autre contenant 3% wt. de SDS (quantité maximale étudiée) et 0.35 % wt. de C_{15} (formulation II) (Figure III-8a). D'après les modèles développés, ces deux compositions devraient permettre de formuler une miniémulsion ayant des gouttes de taille moyenne environ 150 nm et un PdI_{DLS} de l'ordre de 0.1.

Pour la formulation I, nous avons mesuré d = 155 nm avec un PdI_{DLS} = 0.11 et pour la formulation II, d = 152 nm avec un PdI_{DLS} = 0.12 (Figure III-9). Ces valeurs expérimentales sont non seulement similaires mais aussi très proches des valeurs prédites par les modèles développés (d = 150 nm avec un PdI_{DLS} de 0.1). Ces résultats confirment le pouvoir prédictif des modèles développés dans le domaine expérimental étudié.

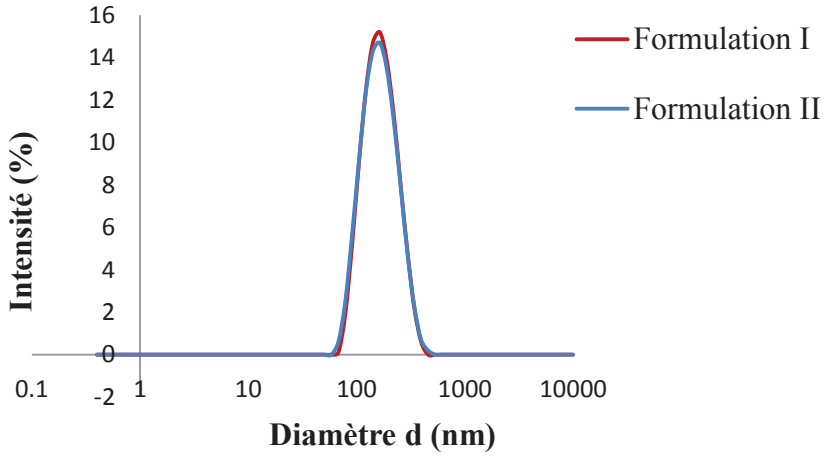

Figure III-9 : Distribution de tailles de gouttes issues de deux formulations :
Formulation I: 3 % wt. SDS, 0.2 % wt. C_{15} et 5 % wt. HA (d = 155 nm, PdI_{DLS} = 0.11).
Formulation II: 1 % wt. SDS, 0.35 % wt. C_{15} et 5 % wt. HA (d = 152 nm, PdI_{DLS} = 0.12).

La quantité de SDS n'ayant qu'une faible influence sur la taille des gouttes pour des concentrations comprises entre 1 % wt. et 3 % wt. (Figure III-8a), nous avons cherché à diminuer davantage cette teneur en travaillant à des concentrations de SDS inférieures à 1 % wt.. Les modèles n'ayant pas été validés pour ces nouvelles conditions opératoires, une nouvelle étude expérimentale a été menée. Une faible quantité de SDS serait en faveur de la mise en place des nanoparticules comme colonne chromatographique.

III.3.3 Diminution de la quantité de SDS

Nous avons fait varier la teneur de SDS dans la phase aqueuse de 1% à 0.01% wt.. La phase organique est fixée et contient 5 % wt. HA et 0.35 % wt. C_{15}. L'objectif est de minimiser la quantité de SDS sans perdre la monodispersité de la distribution en tailles des gouttes de la miniémulsion et en atteignant des tailles moyennes inférieures à 200 nm.

La variation du pourcentage massique du SDS de 1 % wt. à 0.05 % wt. qui correspond à 5 x CMC_{SDS} et 0.25 x CMC_{SDS} montre des tailles de gouttes qui passent de 150 nm à 175 nm avec un PdI_{DLS} satisfaisant compris entre 0.1 et 0.13 (Figure III-10).

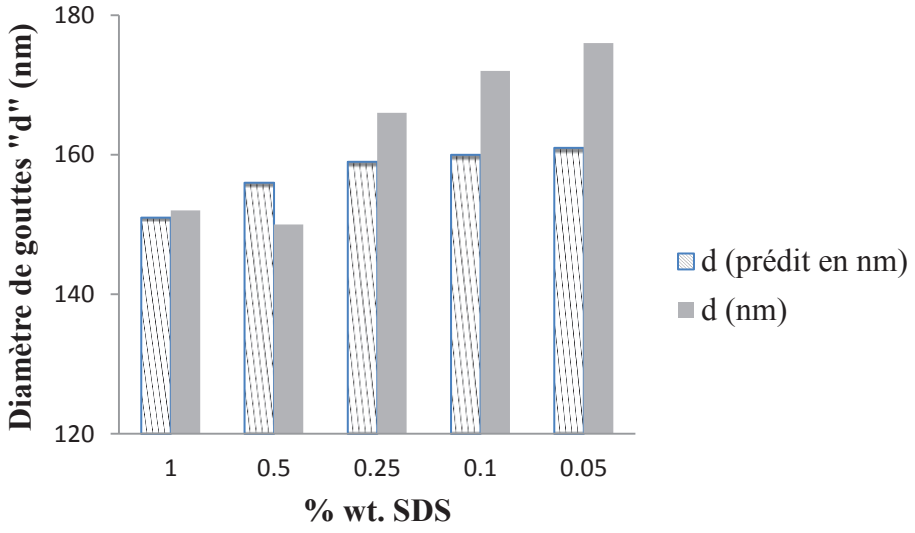

Figure III-10 : Evolution de la taille moyenne des gouttes en fonction du pourcentage massique du SDS. Comparaison des valeurs expérimentales (en gris) avec celles prédites par le modèle présenté dans le Tableau III-3 (en hachuré) pour les différentes teneurs en SDS étudiées.

Comme attendu, plus on diminue la quantité de SDS, plus la taille moyenne des gouttes augmente, et passe de 150 nm pour 1 % wt. de SDS à 175 nm pour 0.05% wt. de SDS. La monodispersité est relativement bien conservée jusqu'à 0.05 % wt. en SDS. Pour des concentrations inférieures à 0.05 % wt. les gouttes formées deviennent polydisperses.

La Figure III-10 met en évidence que la prévision de la taille moyenne des gouttes par le modèle développé est de moins en moins satisfaisante lorsque l'on diminue la quantité de SDS. L'écart entre les valeurs expérimentale et prédite par le modèle est significatif à partir de 0.25 % wt. SDS qui correspond approximativement à la $CMC_{SDS.}$ Plus la quantité de SDS est faible, plus les écarts au modèle sont importants. La corrélation entre les distributions en taille des gouttes et des nanoparticules résultantes a donc été vérifiée pour ces dernières formulations. A ces compositions de miniémulsions ont été ajoutés 0.125 % wt. de BME et 0.025 % wt. d'AMPS par rapport à la masse d'eau (Figure III-11). Lorsque la quantité de SDS diminue de 1 à 0.05% wt., la taille moyenne des gouttes augmente de 150 nm à 175 nm et les distributions restent relativement monodisperses. Comme vu précédemment, les ajouts de BME et d'AMPS ne modifient pas significativement les distributions en taille des gouttes.

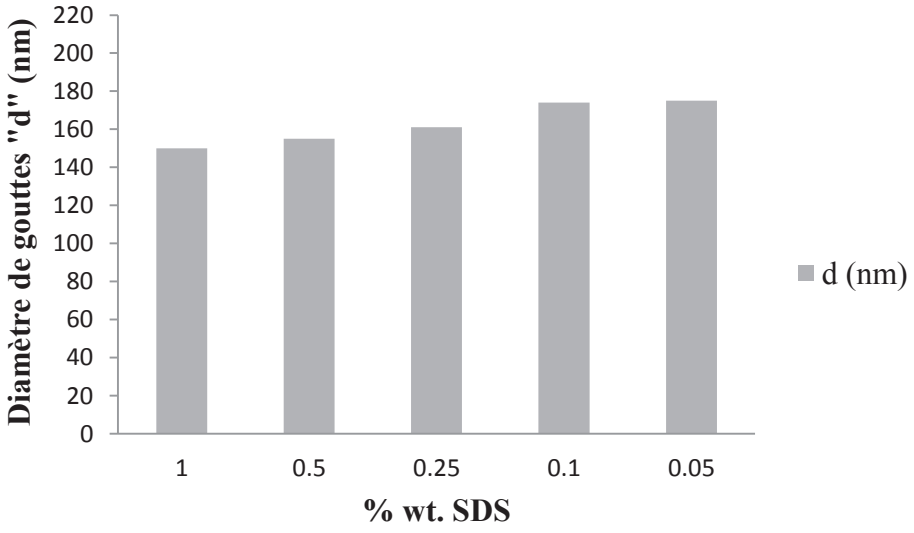

Figure III-11 : Evolution de la taille des gouttes en fonction du pourcentage massique du SDS (% wt.) après ajout d' amorceur (BME) et du monomère chargé (AMPS).

Les formulations à 0.05 % wt. et 0.1 % wt. de SDS ont des caractéristiques satisfaisantes du point de vue de notre cahier des charges : elles présentent des distributions en taille de gouttes relativement monodisperses avec un PdI_{DLS} de 0.1, et centrées sur des tailles moyennes de 170 nm (Figure III-12a). Les distributions étant similaires à celles des gouttes « mère », un processus optimal de polymérisation en miniémulsion, qui se fait essentiellement au sein des gouttelettes (et non dans les micelles, ni par nucléation homogène), a donc été obtenu dans ces conditions opératoires [18].

La miniémulsion contenant 0.1% wt. de SDS conduit à des nanoparticules dont la distribution en taille est plus resserrée, et centrée sur une taille moyenne (165 nm) plus petite que celle des nanoparticules obtenues avec 0.05 % wt. de SDS. Par ailleurs, nous avons observé une stabilité plus longue dans le temps de la miniémulsion avec 0.1 % wt. de SDS. C'est donc cette formulation qui a été retenue comme formulation d'intérêt.

Sa composition est la suivante :

Une phase aqueuse composée de 0.1 % wt. SDS (soit approximativement 0.5 CMC_{SDS}) et de 0.025 % wt. d'AMPS dans 100 g d'eau, et une phase organique comportant 5 % wt. HA, 0.35 % wt. C_{15} et 0.125 % de BME.

Cette formulation aboutit donc, après photopolymérisation, à la formation de nanoparticules monodisperses ayant un diamètre moyen de 165 nm (Figure III-12b).

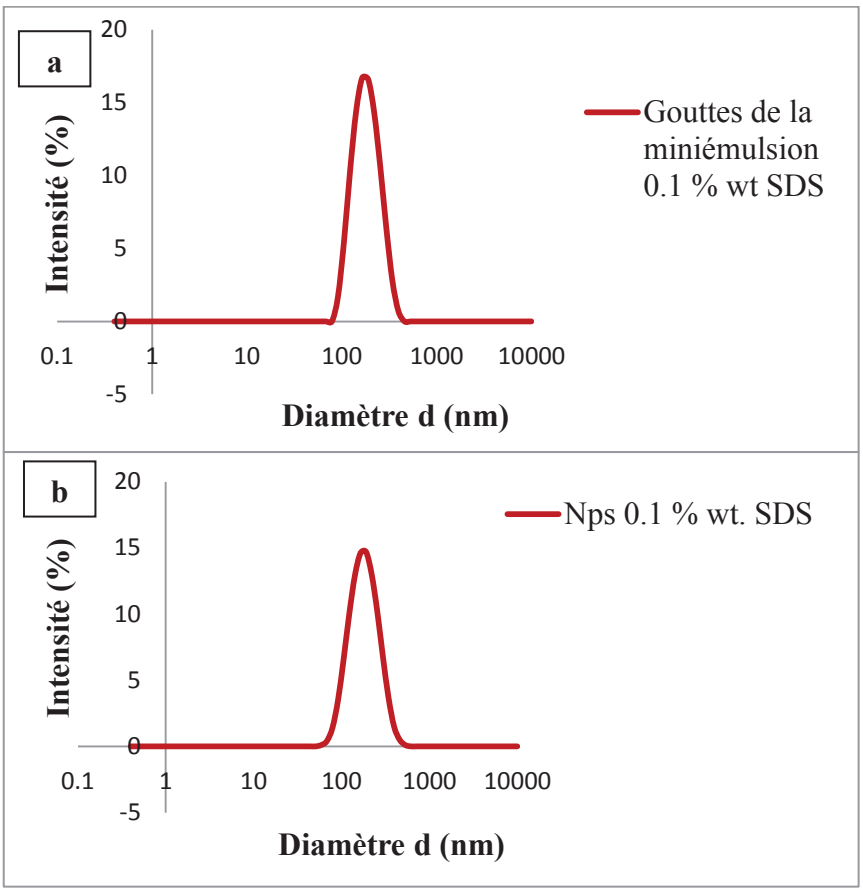

Figure III-12 : Distributions granulométriques **(a)** des gouttes de miniémulsions à 0.1 % wt. SDS et **(b)** des nanoparticules résultantes. Polymérisation de 30 min à 30°C sous une intensité d'irradiation de 2.7 mW/cm^2.

Différents paramètres opératoires peuvent influencer le procédé de photopolymérisation et donc la distribution en taille des nanoparticules résultantes, comme la température, le temps et l'intensité d'irradiation. Par conséquent, un plan d'expériences a été envisagé afin d'optimiser les conditions d'irradiation. Le domaine expérimental de l'intensité d'irradiation a été défini selon les dimensions du four UV entre 2.2 mW/cm² et 3.2 mW/cm². Le temps d'irradiation varie entre 10 min et 30 min et la température entre 30°C et 50°C, en tenant compte de la résistance thermique maximale des microsystèmes COC (Tableau III-5).

A l'issue de la photopolymérisation de la formulation d'intérêt, le taux de conversion de monomères en nanoparticules est estimé par une analyse thermogravimétrique (ATG) (Figure III-14), et la distribution en taille des nanoparticules est mesurée par diffusion

dynamique de la lumière (DLS) (Tableau III-5) pour les conditions d'irradiations suivantes :

Minimales : 30°C, 10 min et 2.2 mW/cm².

Maximales : 50°C, 30 min et 3.2 mW/cm².

Centre : 40°C, 20 min et 2.7 mW/cm².

Tableau III-5 : Influence des conditions d'irradiation sur le taux de conversion, le diamètre moyen et l'indice de polydispersité des nanoparticules obtenues.

Facteurs	Température (°C)	Temps d'irradiation (min)	Intensité d'irradiation (mW/cm²)	Taux de conversion (%)	d_p 2 h (nm)	PdI_{DLS}
Minimum	30	10	2.2	92	166	0.11
Maximum	50	30	3.2	96	171	0.11
Centre	40	20	2.7	95	166	0.11
	40	20	2.7	92	166	0.12
	40	20	2.7	95	168	0.11

Pour pouvoir interpréter les courbes thermogravimétriques dans les conditions d'irradiation testées, tous les réactifs ont d'abord été analysés individuellement. Les résultats montrent que les solvants ainsi que les réactifs qui n'ont pas réagi se sont évaporés avant 250°C (Figure III-13).

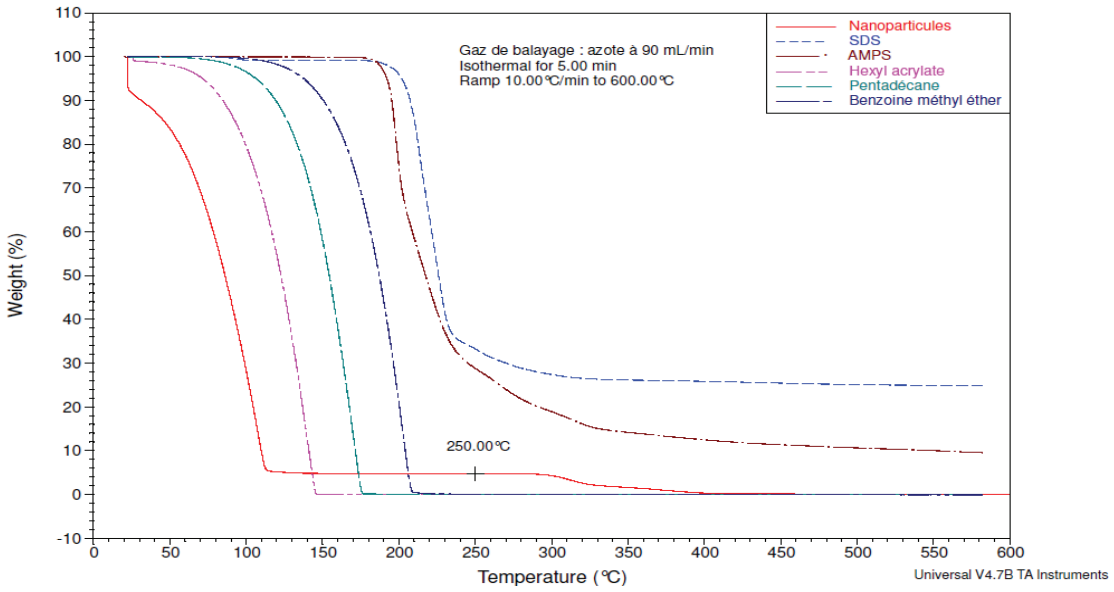

Figure III-13 : Courbes thermogravimétriques (ATG) d'un échantillon de nanoparticules et des réactifs analysés individuellement. Isotherme à 30°C pour 5 min suivi d'un gradient de température de 10°C/min jusqu'à 600°C.

Sur les profils ATG des échantillons de nanoparticules (Figure III-14), on observe bien, jusqu'à 250°C, une perte de masse liée à l'évaporation des solvants et réactifs n'ayant pas réagi. La perte en masse entre 280°C et 430°C devrait être liée à la dégradation des nanoparticules. Pour valider cette hypothèse, un rinçage des nanoparticules a été effectué avec 50/50 (v/v) ACN/Eau dans des filtres membranaires (Amicon ultra-0.5, Merck Millipore), afin d'éliminer les monomères et les polymères solubles ainsi que les polymères à courte chaine solubles dans l'ACN. L'analyse du filtrat par ATG ne montre pas de perte en masse entre 280°C et 430°C. On peut alors considérer que le pourcentage en perte de masse entre 280°C et 430°C est lié aux nanoparticules.

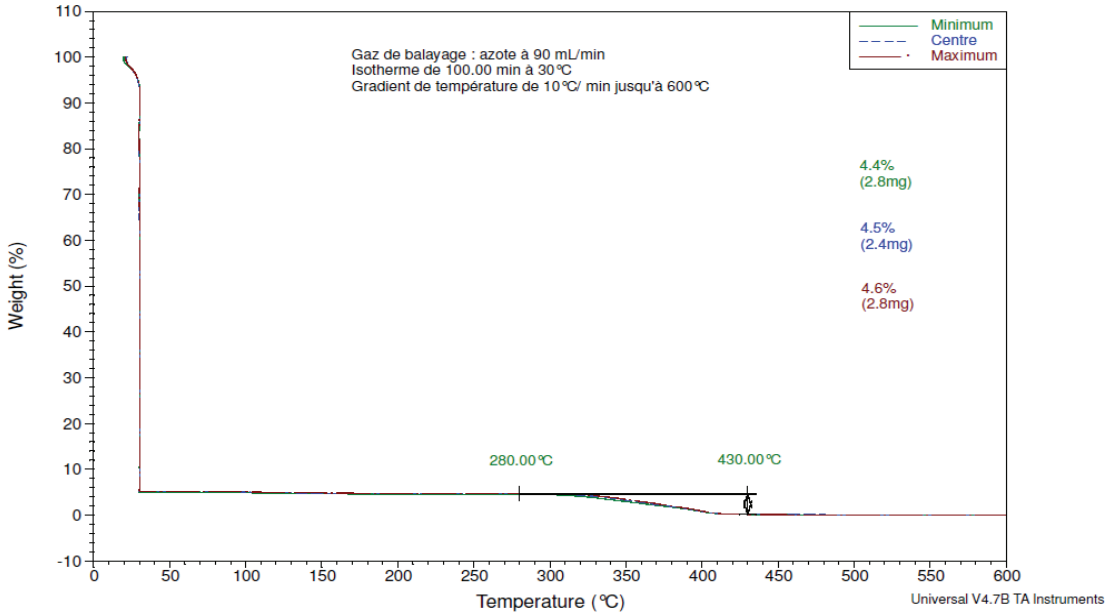

Figure III-14 : Courbes thermogravimétriques (ATG). Isotherme à 30°C pour 100 min suivi d'un gradient de température de 10°C/min jusqu'à 600°C.

L'intégration des courbes entre 280°C et 430°C indique une estimation correcte de la masse des nanoparticules présentes dans les différents échantillons, permettant de calculer le taux de conversion en pourcentage (%) à partir de l'équation suivante :

$$\text{Taux de conversion (\%)} = \frac{masse\ des\ nanoparticules}{masses\ des\ monomères\ (HA+AMPS)} \times 100 \qquad \textbf{Équation III-2}$$

Compte-tenu de l'erreur expérimentale commise et estimée à partir des répétitions au centre du domaine, le Tableau III-5 montre un taux de conversion quasi-total (> 92 %) des monomères pour les conditions d'irradiation correspondant aux extrémités et au centre du domaine expérimental. Nous en concluons que, quelles que soient les conditions d'irradiation imposées dans le domaine expérimental choisi, un taux de conversion quasi-total sera obtenu.

De plus, les conditions d'irradiation dans le domaine expérimental étudié n'ont pas d'influence significative sur la distribution en taille des nanoparticules synthétisées. Le diamètre moyen est compris entre 166 nm et 171 nm avec un PdI_{DLS} de 0.1. La reproductibilité est aussi vérifiée par les trois mesures réalisées dans les conditions du centre du domaine expérimental (Tableau III-5).

La morphologie des nanoparticules (Figure III-15) issues de la formulation optimale irradiée dans les conditions d'irradiation du centre du domaine (40°C, 20 min et 2.7 mW/cm²) montre des particules sphériques de tailles comprises entre 70 nm et 300 nm, comme prévu par les mesures de DLS.

L'indice de polydispersité PDI de ces nanoparticules, qui correspond au rapport D_w/D_n, a été estimé à 1.4 en mesurant les tailles de 100 particules par image MEB à l'aide du logiciel Image J.

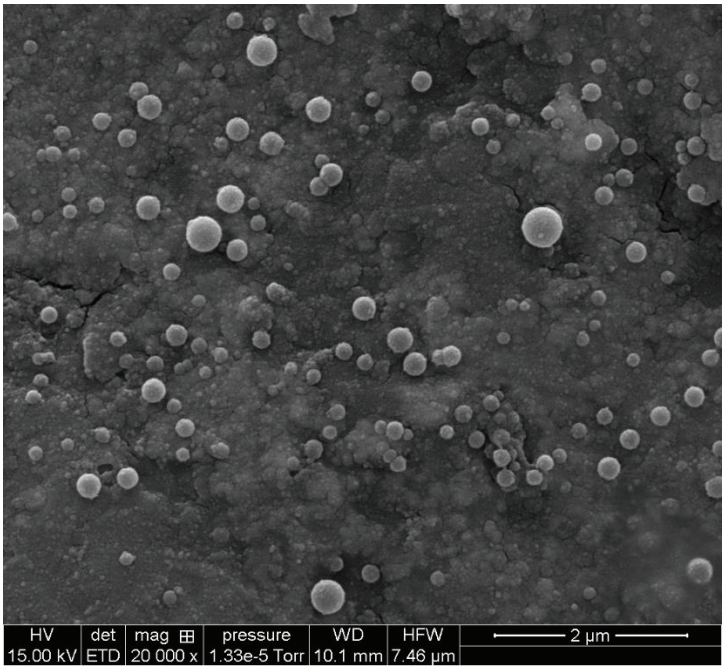

Figure III-15 : Morphologie MEB des nanoparticules issues de la miniémulsion d'intérêt.

III.4 Conclusions

Les miniémulsions sont des systèmes dispersés très intéressants pour notre application : elles nécessitent beaucoup moins de tensioactif que les microémulsions, sont constituées de gouttes de taille moyenne de quelques centaines de nm, et leurs cinétiques de déstabilisation sont lentes.

Après avoir validé la DLS comme outil de caractérisation des gouttes de miniémulsion, nous avons montré la corrélation existant entre la monodispersité des distributions en taille des gouttes et celle des nanoparticules résultantes. Nous avons donc cherché à optimiser la miniémulsion en minimisant la concentration en tensioactif de façon à obtenir une distribution en taille étroite (gouttes monodisperses) avec une taille moyenne inférieure à 200 nm. Ainsi, les nanoparticules résultantes répondraient au cahier des charges car elles seraient monodisperses et de taille moyenne inférieure ou égale à celle des gouttes « mère ».

L'étude expérimentale conduite dans ce chapitre, notamment sur la base d'un plan d'expériences, a montré que les miniémulsions composées de 5 % wt. d'HA sont peu sensibles à la quantité de SDS pour des concentrations supérieures à 0.5 % wt. (soit environ 2 fois la CMC du SDS). En-dessous, on retrouve les comportements classiques des émulsions, dont les gouttes grossissent lorsque l'on diminue la quantité de tensioactif. L'ajout d'un co-stabilisant, le pentadécane, influence la monodispersité des gouttes et leur diamètre pour des fortes concentrations, avec des tailles de plus en plus petites. Pour une concentration d'hexyl acrylate de 5 % wt., des gouttes monodisperses de faible diamètre sont obtenues pour répondre à notre cahier de charges.

Une miniémulsion d'intérêt a finalement été développée. Elle contient une teneur minimale en SDS de 0.1 % wt., 0.025 % wt. d'AMPS, 5 % wt. HA, 0.35 % wt. C_{15} et 0.125 % wt. BME par rapport à la m_{eau}.

La taille des gouttes mesurée est de 170 nm avec un PdI_{DLS} de 0.1. Les nanoparticules issues de l'irradiation UV de cette composition optimale, sont obtenues avec un taux de conversion quasi-total (> 90 %). Elles ont une taille moyenne de 165 nm et une distribution granulométrique similaire à celle de la miniémulsion mère, ce qui permet de dire que le procédé de photpolymérisation en miniémulsion est optimal avec une nucléation exclusivement au sein des gouttes.

Références bibliographiques :

1. Qi, D., Z. Cao, and U. Ziener, *Recent advances in the preparation of hybrid nanoparticles in miniemulsions.* Advances in Colloid and Interface Science, 2014. **211**(0): p. 47-62.
2. Ishimaru, A. and Y. Kuga, *Attenuation constant of a coherent field in a dense distribution of particles.* Journal of the Optical Society of America, 1982. **72**(10): p. 1317-1320.
3. Snabre, P., Mengual, O., & Meunier, G., *Optical characterization of concentrated suspensions. Colloids Surf. A*, 1999. **152**: p. 79.
4. Chemtob, A., *et al.*., *Photoinduced miniemulsion polymerization.* Colloid and Polymer Science, 2010. **288**(5): p. 579-587.
5. Hoijemberg, P.A., A. Chemtob, and C. Croutxé-Barghorn, *Two Routes Towards Photoinitiator-Free Photopolymerization in Miniemulsion: Acrylate Self-Initiation and Photoactive Surfactant.* Macromolecular Chemistry and Physics, 2011. **212**(22): p. 2417-2422.
6. Landfester, K., *Miniemulsion polymerization and the structure of polymer and hybrid nanoparticles.*
7. Jahanzad, F., *et al.*., *Hybrid polymer particles by miniemulsion polymerisation.* Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects, 2007. **302**(1–3): p. 424-429.
8. Anton, N. and T. Vandamme, *Nano-emulsions and Micro-emulsions: Clarifications of the Critical Differences.* Pharmaceutical Research, 2011. **28**(5): p. 978-985.
9. Schork, F.J., *et al.*., *Miniemulsion Polymerization*, in *Polymer Particles*, M. Okubo, Editor. 2005, Springer Berlin Heidelberg. p. 129-255.
10. Xu, X., *et al.*., *Microemulsion polymerization of methyl methacrylate initiated with BPO.* European Polymer Journal, 1999. **35**(11): p. 1975-1978.
11. Chen, J. and Z. Zhang, *Radiation-induced polymerization of methyl methacrylate in microemulsion with high monomer content.* European Polymer Journal, 2007. **43**(4): p. 1188-1194.
12. Capek, I., *Photopolymerization of alkyl(meth)acrylates and polyoxyethylene macromonomers in fine emulsions.* European Polymer Journal, 2000. **36**(2): p. 255-263.
13. Capek, I. and J.P. Fouassier, *Kinetics of photopolymerization of butyl acrylate in direct micelles.* European Polymer Journal, 1997. **33**(2): p. 173-181.
14. Peinado, C., *et al.*., *Photoinitiated polymerization in bicontinuous microemulsions: Fluorescence monitoring.* Journal of Polymer Science Part A: Polymer Chemistry, 2006. **44**(18): p. 5291-5303.
15. David, G., *et al.*., *Microemulsion photopolymerization of methacrylates stabilized with sodium dodecyl sulfate and poly(N-acetylethylenimine) macromonomers.* European Polymer Journal, 2002. **38**(1): p. 73-78.
16. Dou, J., *et al.*., *Magnetic nanoparticles encapsulated latexes prepared with photo-initiated miniemulsion polymerization.* Colloid and Polymer Science, 2010. **288**(18): p. 1751-1756.

17. Roose, P., *et al.*., *UV-nanoparticles: Photopolymerized polymer colloids from aqueous dispersions of acrylated oligomers.* Progress in Organic Coatings, 2014. **77**(10): p. 1569-1576.
18. Hecht, L.L., *et al.*., *Surfactant Concentration Regime in Miniemulsion Polymerization for the Formation of MMA Nanodroplets by High-Pressure Homogenization.* Langmuir, 2011. **27**(6): p. 2279-2285.

Chapitre IV

Fonctionnalisation de la surface COC

IV.1 Introduction

D'après les résultats des études préliminaires présentés dans le chapitre II, la fonctionnalisation de la surface COC semble être une étape indispensable pour l'ancrage des nanoparticules. A partir de cette conclusion, nous allons étudier différentes voies de modification de surface permettant à la fois l'approche des gouttelettes de miniémulsion vers la surface COC et l'ancrage covalent des polymères issus de ces gouttelettes à cette même surface. Pour cela, nous favorisons le caractère hydrophile et le nombre de points d'ancrage créés.

Le traitement de la surface COC peut se faire par une modification physique du matériau. Roy *et al.*[1] ont discuté l'influence du traitement plasma (argon ou argon-oxygène) sur le caractère hydrophile ainsi que la mouillabilité de la surface afin d'améliorer ses propriétés pour des applications en microfluidiques. Les deux traitements ont montré une amélioration de la mouillabilité et la rugosité de surface. Le caractère hydrophile augmente avec le débit des gaz argon et oxygène. Le traitement plasma argon-oxygène permet une augmentation plus importante du caractère hydrophile comparé au traitement plasma par l'argon.

D'autres méthodes ont déjà été utilisées pour la modification de microcanaux COC : l'oxydation par la lumière ultraviolette (UV) / ozone [2], le revêtement dynamique avec des polymères hydrophiles [3], la fonctionnalisation de la surface avec des sels d'aryldiazonium [4] et le photogreffage UV des polymères hydrophiles [5, 6].

Le photogreffage est une technique polyvalente de modification et de fonctionnalisation des substrats solides naturels et des polymères synthétiques [7]. Le greffage des films polymériques est utilisé pour les emballages microélectroniques, les membranes sensibles au pH et les microsystèmes [8]. Dans la littérature, plusieurs modifications chimiques de surface par voie photochimique sur différents type de substrats ont été discutées [9-11] : le verre [12], le polycarbonateuréthane (PCU) [13], le polydiméthylsiloxane (PDMS) [14-16], le polyéthylène (PE) [17-21], le polypropylène (PP) [22-26] et le copolymère d'oléfine cyclique (COC) [27-30]. Les substrats doivent être transparents aux UV dans le domaine de longueur d'onde compris entre 230 nm et 330 nm [31].

La modification de surface COC par photogreffage UV est considérée comme la meilleure méthode pour rendre la surface hydrophile, en contrôlant les liaisons greffées qui présentent une forte densité. Le traitement est facile à mettre en œuvre, pour un

faible coût et une vitesse de réaction rapide. Cette modification est superficielle, proche de la surface solide, sans altérer les propriétés intrinsèques du matériau. En outre, la fixation covalente de chaînes greffées sur une surface de polymère offre des surfaces stables, contrairement aux revêtements physiques qui peuvent être décollés [32].

Li *et al.* [5] ont réalisé une modification du COC en surface hydrophile pour pouvoir mettre en œuvre des séparations de protéines par électrophorèse sur gel. Le photogreffage du polyacrylamide à l'aide de la benzophénone comme amorceur est utilisé pour la fonctionnalisation du COC. Le caractère hydrophile augmente avec le temps d'irradiation d'une surface partiellement recouverte à une surface complètement recouverte de polyacrylamide. Pour 20 min d'irradiation, l'angle de contact atteint 12°. Le greffage du polyacrylamide rend la surface du COC hydrophile sans augmenter la mobilité électroosmotique.

Du *et al.* [33] ont réussi la fonctionnalisation du COC avec des monomères hydrophiles ayant des groupements anioniques ou neutres. Six monomères acrylates ont été sélectionnés pour réaliser différentes surfaces chargées. L'influence des conditions expérimentales sur le greffage, à savoir le temps et l'intensité d'irradiation, la concentration en monomère et la température de la réaction, a été étudiée par la mesure de l'angle de contact d'une goutte d'eau déposée à la surface. La Figure IV-1 montre une séparation de cinq acides aminés sur deux substrats modifiés par l'acide 2 - acrylamido - 2 - méthylpropane sulfonique (AMPS) et N - [3 (diméthylamino) propyl] - méthacrylamide (DPMA). En électrophorèse de zone, la migration des analytes dépend du flux électroosmotique et de leur migration électrophorétique. La migration cathodique des analytes implique un flux électroosmotique, dû aux charges négatives de la surface (migration vers la cathode), plus grand que le flux électrophorétique des analytes qui migrent vers l'anode. Dans le cas du DPMA, les analytes sortent dans l'ordre de migration inverse (Figure IV-1 (b)). Cela est dû au groupe amine du DPMA qui est responsable de l'inversion de la direction du flux électroosmotique. Dans les deux cas, les pics sont bien résolus, les deux électrophorégrammes montrent une bonne séparation des cinq acides aminés.

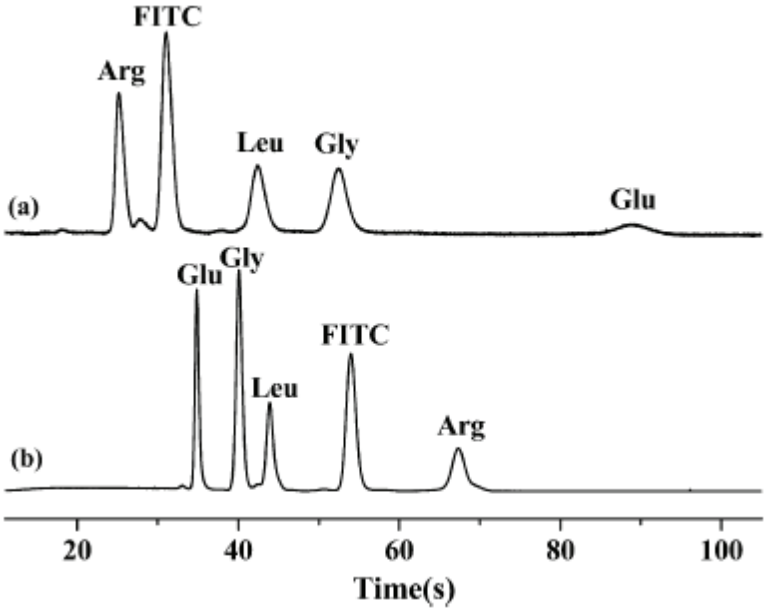

Figure IV-1: Electrophorégrammes d'une séparation de cinq acides aminés dans un microsystème COC modifié avec de (a) l'AMPS, (b) DPMA. Conditions de séparations : tampon de 10 mM de sodium borax, pH = 9.2, longueur de la séparation 3 cm [33].

Peng *et al*. [34] ont réussi le greffage des monomères hydrophiles ioniques à la surface COC photoinitié par la benzophénone. Des groupes zwitterioniques d'acide 2 - acrylamido - 2 - méthylpropane sulfonique (AMPS) / chlorure de 2 (Méthacryloyloxy) éthyltriméthyl ammonium (MATEAC), à la surface COC, génèrent un angle de contact faible qui confirme le caractère hydrophile. La Figure IV-2 montre un exemple d'application de séparation des acides aminés dans le sang. Le résultat indique que les groupes zwitterioniques sur le COC empêchent la coagulation du sang causée par des corps étrangers, ce qui est d'une importance majeure pour les implants médicaux et les capteurs in vivo.

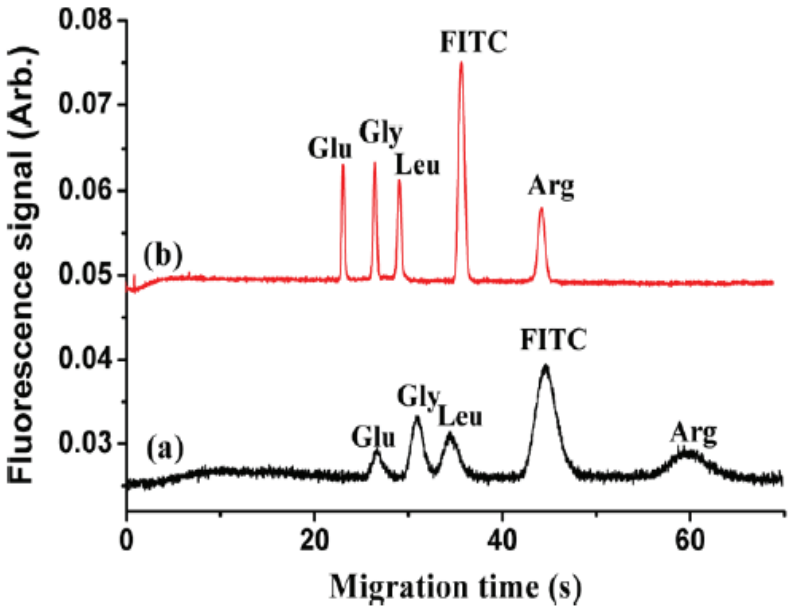

Figure IV-2 : Electrophorégrammes d'une séparation de cinq acides aminés **(a)** microsystème COC natif **(b)** microsystème COC modifié. Conditions de séparations : tampon de 10 mmol /L de borax, pH = 9.2, longueur de la séparation 3 cm, voltage de 2000 V [34].

L'objectif de ce chapitre est d'optimiser la fonctionnalisation de la surface afin d'ancrer les nanoparticules et former une phase stationnaire efficace dans des microsystèmes COC. L'optimisation du greffage polymérique à la surface est réalisée sur des plaques COC pour être ensuite transposé dans des canaux. Deux aspects ont été suivis : 1/ Caractérisation du caractère hydrophile de la surface, par mesure de l'angle de contact. 2 / Ancrage et sphéricité des nanoparticules après photopolymérisation de la miniémulsion, par microscopie électronique à balayage (MEB).

IV.2 Matériels et méthodes

IV.2.1 Réactifs

Le polyéthylène glycol diacrylate de différentes tailles (PEGDA 258, PEGDA 700), la benzoine méthyléther (BME), l'acide 2 - acrylamido - 2 - méthylpropane sulfonique (AMPS), le chlorure de 2 (Méthacryloyloxy) éthyltriméthylammonium (MATEAC), l'éthylène glycol dicyclopentenyl éther acrylate (DCP), sont fournis par Sigma Aldrich (Isle – d'Abeau, France) et utilisés tels que reçus. Les solvants utilisés pour les préparations des solutions sont l'acétone, l'isopropanol et l'eau ultra pure (Milli-Q de résistivité de 18 MΩ).

IV.2.2 Synthèse sur plaques COC

Les plaques de COC sont préalablement rincées à l'acétone et séchées à l'azote avant utilisation.

IV.2.2.1 Préparation des solutions de photogreffage et fonctionnalisation

Les produits sont pesés sur une balance de précision puis solubilités dans le mélange adéquat de solvants pendant 15 min sous agitation magnétique. Ensuite, les solutions sont dégazées 15 min à l'ultrason avant utilisation.

L'étude d'optimisation du greffage PEGDA par un plan d'expériences est réalisée pour une fonctionnalisation entre deux plaques de COC par voie photochimique. A l'aide d'une pipette pasteur, on dépose environ 500 µl du mélange réactionnel sur la plaque du bas, qu'on recouvre par une deuxième plaque COC sans entraîner de bulles d'air qui peuvent inhiber la polymérisation.

IV.2.2.2 Photopolymérisation des nanoparticules sur plaques COC

Les réactions de photopolymérisation de nanoparticules sont effectuées en deux étapes dans le système fermé déjà décrit dans le chapitre II (partie II.2.4). Le mélange de fonctionnalisation est introduit entre les plaques COC et irradié dans un four UV à 365 nm sous des conditions d'irradiation définies pour chacune des expériences conduites. Les plaques sont ensuite rincées par un mélange acétone/eau dans des proportions dépendant du monomère utilisé pour le photogreffage. Après fonctionnalisation, les plaques COC sont rincées avec de l'eau avant d'introduire la miniémulsion. La composition de la miniémulsion optimisée dans le chapitre III est la suivante : 0.1 % wt. SDS, 0.025 % wt. d'AMPS, 5 % wt. HA, 0.35 % wt. C_{15} et 0.125 % wt. BME par rapport à la masse d'eau. Cette dernière est irradiée dans des conditions d'irradiation fixées à 30°C pour 30 min sous une intensité d'irradiation de 2.7 mW/cm^2. Après synthèse photochimique, la plaque est rincée à l'eau afin d'éliminer les réactifs et les solvants qui n'ont pas réagi.

IV.2.2.3 Caractérisation par angle de contact

La modification du caractère hydrophile/hydrophobe du matériau par le monomère est suivie par une caractérisation de l'angle de contact à l'aide de l'instrument Digidrop Contact Meter (GBX, Bourg de Péage, France), à température ambiante. La mesure se fait par dépôt d'une goutte d'eau de 3.3 µL sur la surface plane du substrat, et l'angle de contact Θ, défini par la tangente à la goutte d'eau au point triple solide-liquide-gaz, est mesuré (Figure IV-3).

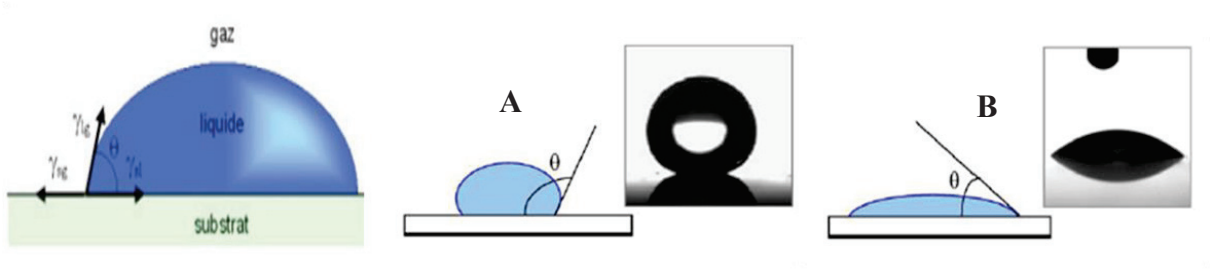

Figure IV-3 : Schéma et photographie d'une goutte d'eau déposée sur une surface hydrophobe **(A)** et sur une surface hydrophile **(B)** [35].

La mesure de l'angle de contact rend compte de l'aptitude du liquide à s'étaler sur la surface par mouillabilité. Moins la goutte a d'affinité pour le substrat, plus elle reste sphérique et plus l'angle de contact est important (surface hydrophobe, Figure IV-3A). Et plus la goutte a d'affinité pour le substrat, plus elle s'étale et forme un angle de contact faible (surface hydrophile, Figure IV-3B). Ces mesures d'angle de contact peuvent se faire également dans les canaux des microsystèmes COC. A l'aide d'une seringue, on remplit le canal d'une goutte d'eau de 1 µL. L'eau remplit partiellement le canal par capillarité. La caméra du microscope inversé Olympus (IX 71) permet de visualiser l'interface air/eau dans le canal. L'interface air/eau a la forme d'un ménisque lorsque la surface est hydrophile (Figure IV-4), alors qu'elle présente un profil plat avec un angle de contact Θ proche de 90 ° pour une surface hydrophobe.

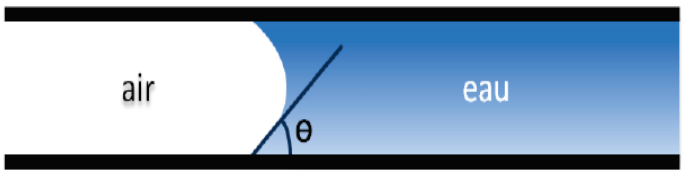

Figure IV-4 : Schéma de l'interface air/eau dans un canal [35].

IV.2.3 Optimisation du greffage PEGDA par plan d'expériences

Comme au chapitre III, le plan d'expériences utilisé est une matrice composite à faces centrées dans le but d'optimiser les conditions expérimentales pour le greffage du monomère hydrophile PEGDA (258) (monomère le plus hydrophile). On suit l'influence de trois facteurs sur l'angle de contact : la concentration de PEGDA (mol/L), la concentration de BME (exprimée en % wt. par rapport au monomère) et le temps d'irradiation (min). La mesure de l'angle de contact est une mesure moyenne de 15

points de la plaque COC du bas et celle du haut. Les valeurs sont exprimées en angle de contact ± écart-type.

IV.3 Résultats préliminaires

Afin de déterminer quel est le modificateur de surface le plus adapté, des tests préliminaires de modification chimique de surface COC ont été réalisés.

Un photogreffage d'un monomère hydrophobe crée un bras long de la surface et jouera le rôle d'un espaceur entre le COC et les nanoparticules. D'autres synthèses par monomères hydrophiles ont pour but de rendre la surface moins hydrophobe.

IV.3.1 Traitement par espaceur

L'éthylène glycol dicyclopentenyléther acrylate (DCP) est un monomère hydrophobe qui présente des caractéristiques proches du COC. C'est une molécule qui comporte un long bras avec un norbornène (Figure IV-5). L'existence des hydrogènes abstractibles fait que les nanoparticules peuvent s'ancrer en présence de la BME sur ce norbornène. Le DCP fera le pont entre la surface native du COC et les nanoparticules irradiées à partir de la formulation optimale, sans toutefois en modifier son caractère hydrophobe.

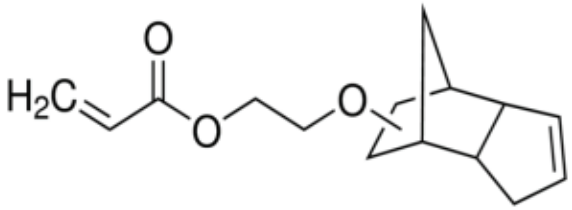

Figure IV-5 : Structure chimique de l'éthylène glycol dicyclopentenylether acrylate (DCP).

Une surface COC est tout d'abord modifiée par du DCP 0.15 M solubilisé avec 5 mM de BME dans 80/20 (v/v) acétone/eau en une première étape d'irradiation de 15 min à 45°C sous une intensité d'irradiation de 2.7 mW/cm². La photopolymérisation de la miniémulsion en particules sur cette surface COC fonctionnalisée, dans une deuxième étape, montre un nombre important de particules ancrées à la surface (Figure IV-6). Cependant, ce traitement déforme les nanoparticules avec des diamètres polydisperses variant de 60 nm pour les plus petites, à 300 nm – 400 nm.

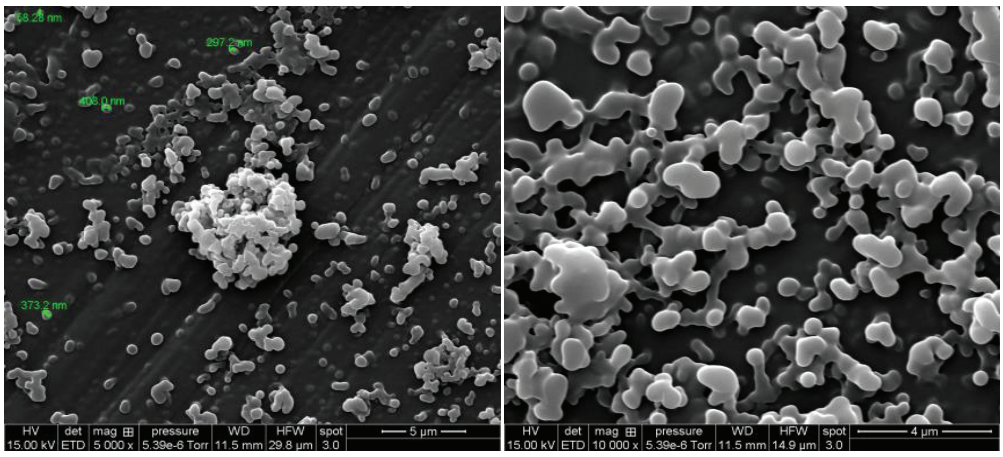

Figure IV-6 : Morphologies des nanoparticules sur une surface COC fonctionnalisée avec du DCP. 0.15 M DCP + 5 mM BME dans 80/20 (v/v) acétone/eau : 15 min, 45°C, 2.7 mW/cm². Miniémulsion optimale : 30 min, 30°C, 2.7 mW/cm². Grossissement MEB x 5000, x 10000. Tension 15 kV.

Le traitement par espaceur hydrophobe a favorisé l'ancrage des nanoparticules à la surface COC par abstraction d'hydrogène, ce qui n'était pas possible sur COC natif. Cela confirme que les gouttes d'émulsion ne s'approchaient pas correctement du COC natif. Le bras espaceur fournit des points d'ancrage éloignés du COC natif et donc plus accessibles aux gouttes de la miniémulsion. La déformation des particules peut être liée au caractère hydrophobe de la surface qui peut déstabiliser les gouttes ou le polymère hexyl acrylate en formation. Afin de surmonter ce problème, on envisage d'étudier la modification chimique de surface COC par un greffage de monomère hydrophile.

IV.3.2 Monomères hydrophiles

La modification de surface COC avec un monomère hydrophile cherche à rendre la surface moins hydrophobe ce qui pourrait être en faveur de l'ancrage ainsi que de la forme sphérique des nanoparticules. Trois types de monomères hydrophiles de charges différentes sont testés : anionique, cationique, et neutre.

IV.3.2.1 Monomère anionique

Le traitement de la surface COC avec un monomère hydrophile anionique tel l'acide 2 - acrylamido - 2 - méthylpropane sulfonique (AMPS) modifie le caractère du substrat hydrophobe qui passe à un caractère hydrophile et qui, par conséquent, influence l'angle de contact entre l'interface air/eau (Figure IV-7).

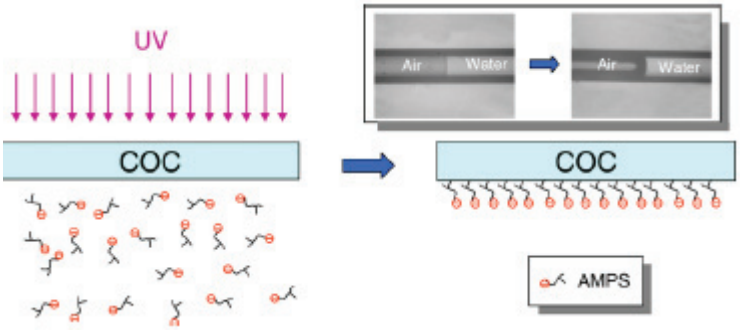

Figure IV-7 : Modification de la surface COC avec de l'AMPS par photopolymérisation. Caractérisation de l'angle de contact entre l'interface air/eau avant et après greffage [33].

Le greffage de l'AMPS à une concentration de 10% wt. avec 2.2 mM BME solubilisés dans 80/20 (v/v) acétone/eau permet un ancrage des nanoparticules qui forment un réseau très dense en nombre où l'on distingue quelques particules sphériques et d'autres fusionnées formant des agrégats (Figure IV-8).

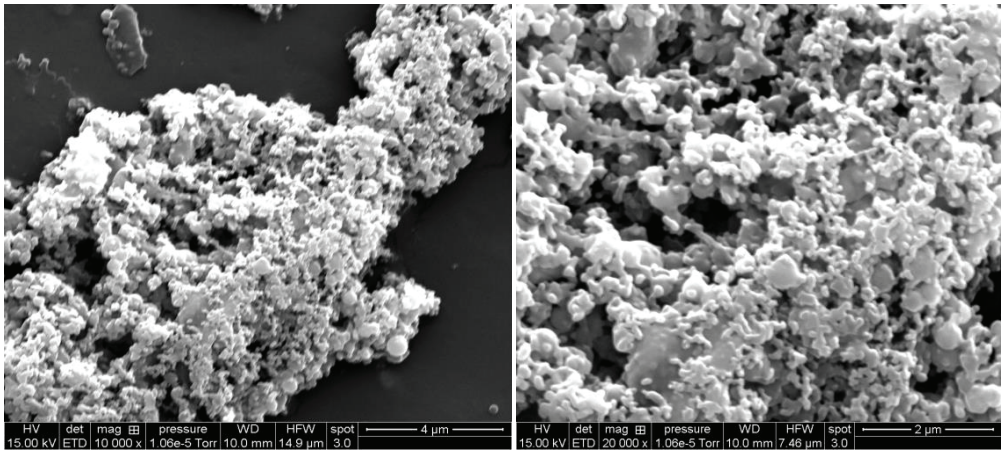

Figure IV-8 : Morphologies des nanoparticules sur une surface COC fonctionnalisée avec 10% wt. AMPS + 2.2 mM BME dans 80/20 (v/v) acétone/eau : 15 min, 45°C, 2.7 mW/cm². Photopolymérisation miniémulsion optimale : 30 min, 30°C, 2.7 mW/cm². Grossissement MEB x 10000, x 20000. Tension 15 kV.

La fonctionnalisation de la surface avec le monomère hydrophile anionique AMPS crée des points d'initiation favorisant l'ancrage sur COC. On pense que l'amorceur est transférable pour former des structures denses de multicouches de particules. Cette voie de fonctionnalisation, bien qu'elle soit en faveur de l'ancrage, altère la sphéricité et la monodispersité des nanoparticules.

IV.3.2.2 Monomère cationique

Le chlorure de 2 (Méthacryloyloxy) éthyltriméthylammonium (MATEA) est un monomère hydrophile cationique. Pour un traitement de surface à une concentration de 10 % wt. MAETA avec 2.2 mM BME solubilisés dans 80/20 (v/v) acétone/eau, la morphologie des nanoparticules résultant de la photopolymérisation de la miniémulsion optimale est représentée dans la Figure IV-9.

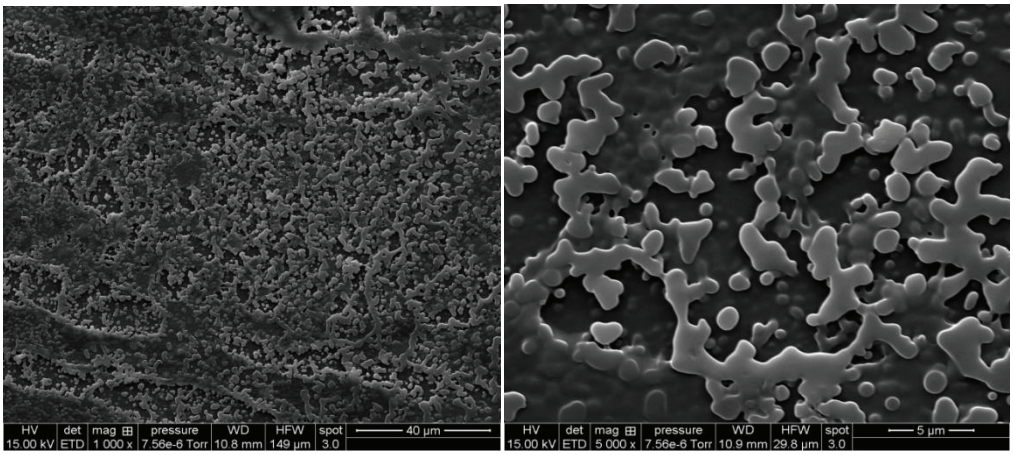

Figure IV-9 : Morphologies des nanoparticules sur un COC fonctionnalisé avec 10 % wt. MAETA + 2.2 mM BME dans 80/20 (v/v) acétone/eau : 15 min, 45°C, 2.7 mW/cm². Photopolymérisation miniémulsion optimale : 30 min, 30°C, 2.7 mW/cm². Grossissement MEB x 1000 (gauche), x 5000 (droite). Tension 15 kV.

Le greffage du MAETA sur du COC montre un très bon ancrage homogène tout au long de la surface, mais une déformation des nanoparticules plus importante que celle observée avec de l'AMPS, dans les mêmes conditions opératoires. La coalescence et la fusion des couches d'acrylates indiquent que l'émulsion (à base de tensioactifs et monomères négatifs) est très instable en présence d'une fonctionnalisation de charge positive.

IV.3.2.3 Monomère neutre

Les premiers tests de fonctionnalisation avec le polyéthylène glycol diacrylate (PEGDA 258) afin de rendre la surface du COC hydrophile ont montré un ancrage de particules (cf chapitre II). Suite à l'optimisation de la composition de la formulation dans le chapitre III, nous avons revérifié cet ancrage. La morphologie des nanoparticules synthétisées dans des microsystèmes est montrée dans la Figure IV-10 pour une surface fonctionnalisée avec une concentration de 0.1 M PEGDA + 3 mM BME

dans 50/50 (v/v) acétone/eau irradié pour 15 min à 45°C sous une intensité d'irradiation de 2.7 mW/cm².

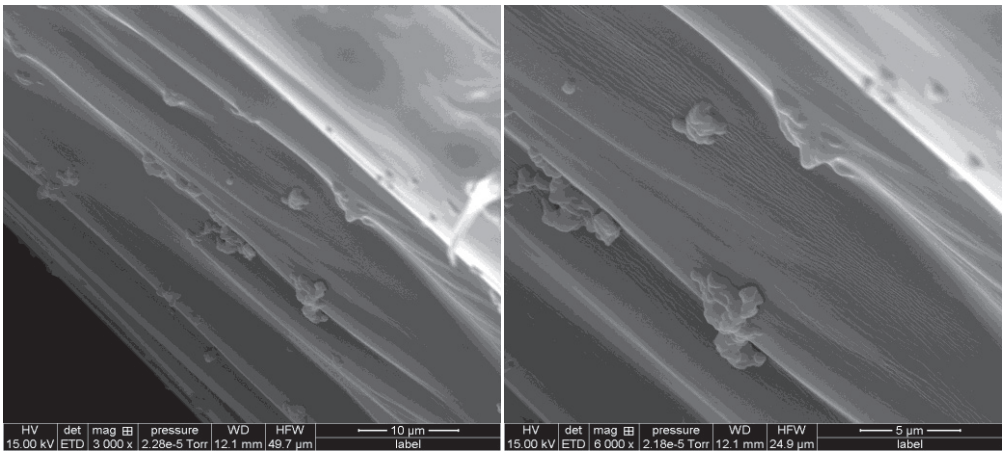

Figure IV-10 : Morphologies des nanoparticules sur un COC fonctionnalisé avec PEGDA 0.1 M PEGDA + 3 mM BME dans 50/50 (v/v) acétone/eau : 15 min, 45°C, 2.7 mW/cm². Photopolymérisation miniémulsion optimale : 30 min, 30°C, 2.7 mW/cm². Grossissement MEB x 3000, x 6000. Tension 15 kV.

La Figure IV-10 montre quelques particules sphériques ancrées sur du COC. La surface n'est pas très homogène, et cela nécessite une étude approfondie des différents facteurs qui peuvent influencer la photopolymérisation. Pour des fonctionnalisations photochimiques avec des concentrations plus élevées en monomère et en amorceur, 0.15 M PEGDA+ 5 mM BME 50/50 (v/v) acétone/eau, on observe plus de points d'ancrage comme prévu et une bonne sphéricité et monodispersité (Figure IV-11).

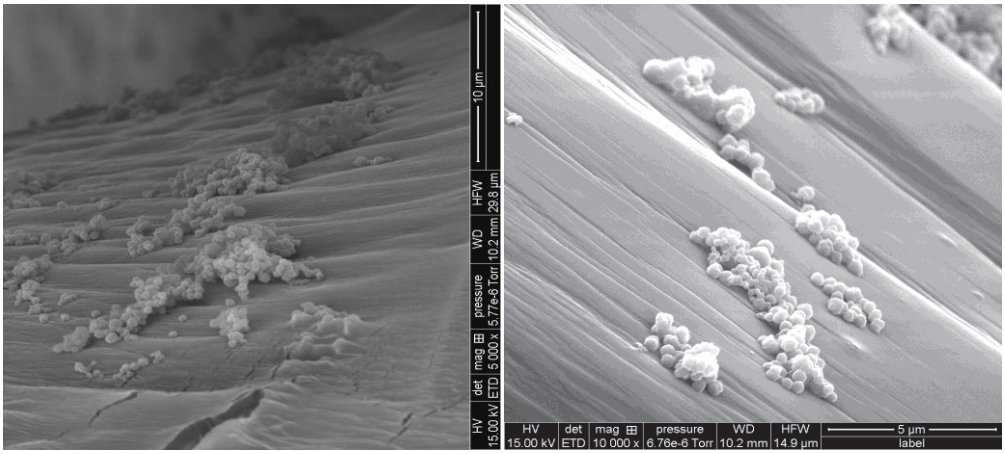

Figure IV-11 : Morphologies des nanoparticules sur un COC fonctionnalisé avec PEGDA : 0.15 M PEGDA + 5 mM BME dans 50/50 (v/v) acétone/eau : 15 min, 45°C, 2.7 mW/cm². Photopolymérisation miniémulsion optimale : 30 min, 30°C, 2.7 mW/cm². Grossissement MEB x 5000, x 10000. Tension 15 kV.

Le PEGDA (258) est un bon candidat pour l'ancrage des nanoparticules sphériques car il joue le rôle d'un espaceur et modifie également le caractère de la surface pour la rendre hydrophile. Faut-il être plus hydrophile et plus éloigné de la surface pour mieux ancrer? Un essai de synthèse a été fait avec du PEGDA (700), qui est un monomère à bras plus long et plus hydrophile. Le résultat des morphologies montre qu'il y a toujours ancrage, ce qui justifie que le caractère hydrophile permet l'approche des gouttes. Malheureusement, ce monomère plus long déforme les nanoparticules (Figure IV-12).

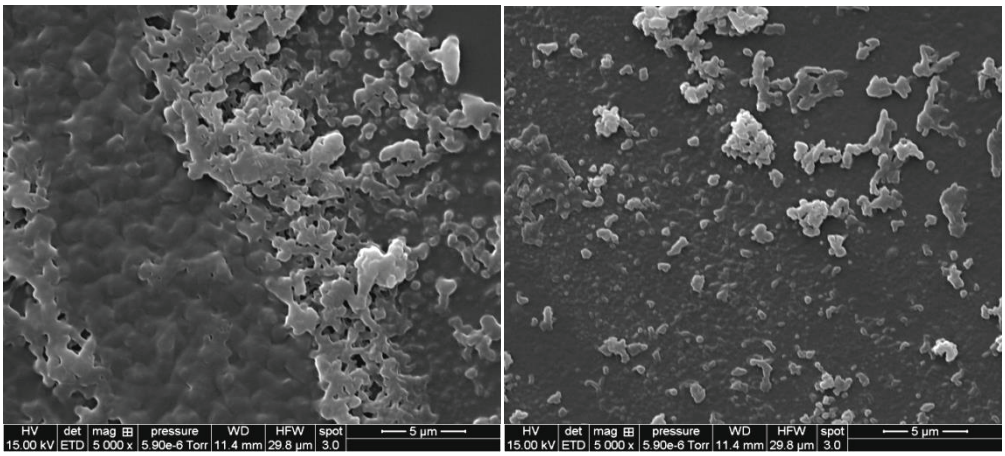

Figure IV-12 : Morphologies des nanoparticules sur un COC fonctionnalisé avec PEGDA : 0.15 M PEGDA (700) + 5 mM BME dans de l'isopropanol : 15 min, 45°C, 2.7 mW/cm². Photopolymérisation miniémulsion optimale : 30min, 30°C, 2.7 mW/cm². Grossissement MEB x 5000. Tension 15 kV.

En conclusion, nous choisissons l'espaceur hydrophile qui permet l'ancrage des nanoparticules sans impacter leur sphéricité : le PEGDA (258). Par la suite, on envisage une démarche d'optimisation du greffage PEGDA (258) par plan d'expériences sous la forme d'une matrice composite à faces centrées.

IV.4 Optimisation du greffage PEGDA

IV.4.1 Exploitation du plan d'expérience

L'utilisation du plan d'expériences nous permet de déterminer les conditions les plus adéquates pour rendre la surface la plus hydrophile possible. Les trois facteurs étudiés sont les suivants : la concentration de PEGDA (M), la concentration de BME (exprimée en % wt.. par rapport au monomère) et le temps d'irradiation (min). La réponse est la moyenne de 15 mesures d'angle de contact ± écart-type, de la surface COC du bas et celle de dessus pour 15 mesures. Le domaine expérimental varie pour la concentration de PEGDA entre 0.1 M et 0.3 M, pour la BME entre 1 % wt. et 5 % wt. par rapport au

monomère, et le temps d'irradiation entre 10 min et 20 min. D'autres facteurs ont été fixés pour simplifier l'étude. Ainsi le mélange de solubilisation a déjà été optimisé au cours d'une étude préalable tandis que la température et l'intensité d'irradiation ont été fixées à une valeur moyenne afin de minimiser les erreurs (Tableau IV-1).

Tableau IV-1: Domaine expérimental des trois facteurs variables: la concentration du PEGDA, de la BME et le temps d'irradiation et également, les valeurs des trois conditions fixes.

Facteurs	**[PEGDA] (M)**	**% wt. BME**	**Temps d'irradiation (min)**
Domaine expérimental	0.1 - 0.3	1 - 5	10 - 20
Les conditions fixes	Le mélange de solubilisation 50/50 (v/v) acétone/eau	Température 45° C	Intensité 2.7 mW/cm²

La matrice d'expériences est composé de 17 expériences : un plan factoriel complet 2^3 correspondant à toutes les combinaisons possibles pour 3 facteurs à deux niveaux codés, 6 points dits axiaux à une distance du centre du domaine alpha = 1 et l'expérience au centre répétée 3 fois pour évaluer la reproductibilité du greffage PEGDA (Tableau IV-2).

L'angle de contact évolue entre 59° et 87° selon les conditions expérimentales avec près de la moitié des essais conduisant à des valeurs comprises entre 80° et 85°. L'homogénéité du greffage est représentée par l'écart-type : celui-ci est assez variable d'un essai à l'autre et reste, de façon générale, élevé. Compte-tenu de ces considérations préalables, le modèle de prédiction ne permettra au mieux que d'indiquer la tendance de l'évolution de l'angle de contact avec les trois facteurs expérimentaux étudiés.

On considère la surface suffisamment hydrophile pour un angle de contact inférieur à 65°. Ainsi, les essais 4, 8 et 12 (marqués en bleu) répondent à ce critère d'hydrophilicité. Les écarts-type associés montrent que l'essai 12 est peu homogène sur la surface. L'essai 8 répond au cahier des charges uniquement sur une partie de la surface (65° ± 5), tandis que l'essai 4 est parfaitement satisfaisant dans sa valeur et dans son homogénéité.

Tableau IV-2 : Plan d'expériences composé de 17 essais pour l'étude de trois facteurs. L'angle de contact est la réponse.

Essai	Concentration PEGDA (M)	%wt. BME	Temps d'irradiation (min)	Angle de contact (°) ± écart-type
1	0.10	1	10	83 ± 3
				85 ± 1
2	0.30	1	10	71 ± 6
				70 ± 6
3	0.10	5	10	78 ± 4
				76 ± 4
4	0.30	5	10	59 ± 3
				59 ± 3
05	0.10	1	20	84 ± 6
				84 ± 7
6	0.30	1	20	69 ± 5
				72 ± 5
7	0.10	5	20	74 ± 9
				73 ± 5
8	0.30	5	20	65± 4
				65 ± 7
9	0.10	3	15	79 ± 5
				80 ± 3
10	0.30	3	15	78 ± 7
				81± 5
11	0.20	1	15	84 ± 2
				85 ± 1
12	0.20	5	15	61 ± 8
				67 ± 9
13	0.20	3	10	85 ± 3
				81 ± 3
14	0.20	3	20	77 ± 5
				78 ± 4
15	0.20	3	15	87 ± 2
				85 ± 3
16	0.20	3	15	81 ± 6
				84 ± 8
17	0.20	3	15	77 ± 6
				73 ± 7

La démarche utilisée pour le développement du modèle est celle décrite au chapitre III et n'est pas rappelée ici. Le modèle obtenu permet de représenter les courbes isoréponses : celles-ci indiquent que l'influence du pourcentage de BME et de la concentration PEGDA sur l'angle de contact est la même quel que soit le temps d'irradiation fixé. Par conséquent, le temps d'irradiation dans le domaine étudié n'a que peu d'influence sur le caractère hydrophile de la surface COC. La Figure IV-13 montre les surfaces de réponse pour un temps d'irradiation de 10 min.

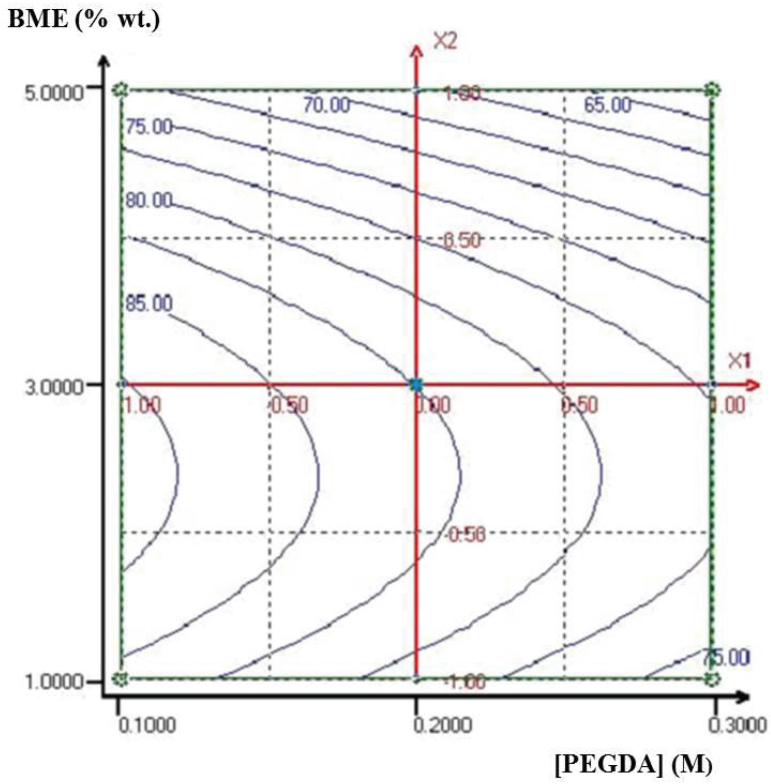

Figure IV-13 : Représentation des surfaces de réponses de l'angle de contact en fonction du pourcentage en BME et de la concentration en PEGDA pour un temps d'irradiation de 10 minutes.

Les courbes isoréponses présentent un profil parabolique avec un angle de contact qui est minimal pour des fortes concentrations en PEGDA associées à un pourcentage élevé en BME (5 % wt. par rapport à la masse en monomère). Ainsi, on se propose d'augmenter la concentration de PEGDA pour un rapport amorceur/monomère de 5 % wt. et de suivre l'évolution du caractère hydrophile du support par mesure de l'angle de contact. La morphologie des nanoparticules obtenues après photopolymérisation de la miniémulsion optimale dans ce support sera observée par MEB.

IV.4.2 Extrapolation du domaine expérimental

D'après les surfaces de réponse, une concentration plus élevée en PEGDA entraîne une diminution de l'angle de contact. Afin de vérifier cette tendance, nous avons choisi deux concentrations de PEGDA : 0.4 M et 0.5 M pour un même rapport d'amorceur, à savoir 5 % wt. BME, afin de suivre le caractère hydrophile du support.

A 0.4 M de PEGDA, le caractère hydrophile est obtenu avec des angles de contact de 56° ± 4. La fonctionnalisation n'est cependant pas répétable dans ces conditions, certaines plaques présentant des angles de contact de 73° ± 3 lors de l'étude de répétabilité. Les surfaces fonctionnalisées avec du 0.5 M PEGDA sont également hydrophiles, avec des angles de contact de 64 ± 4. Elles sont cependant peu stables.

Par la suite, les synthèses de nanoparticules sur ces substrats fonctionnalisés avec 0.4 M et 0.5 M PEGDA sont conduites et caractérisées par microscopie électronique à balayage (Figure IV-14).

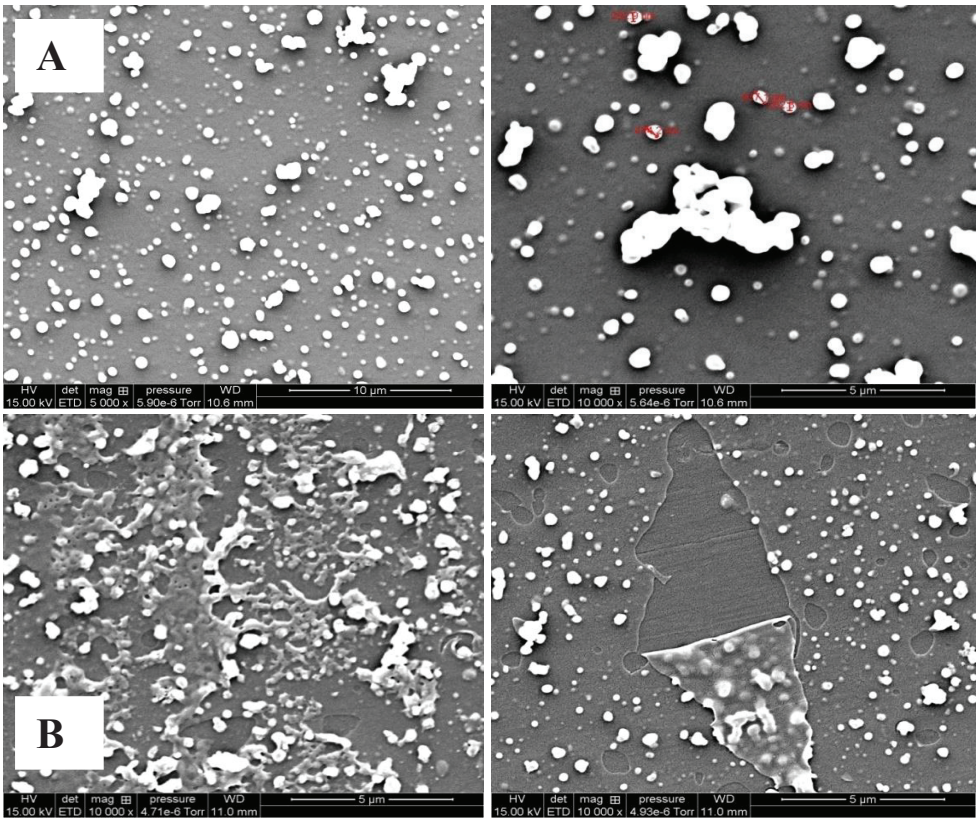

Figure IV-14 : Morphologies des nanoparticules sur un COC fonctionnalisé avec PEGDA **A :** 0.4 M PEGDA + 5 % wt. BME dans 50/50 (v/v) acétone/eau ; 10 min, 45°C, 2.7 mW/cm². **B :** 0.5 M PEGDA + 5 % wt. BME dans 50/50 (v/v) acétone/eau ; 10 min, 45°C, 2.7 mW/cm². Photopolymérisation miniémulsion : 30 min, 30°C, 2.7 mW/cm². Grossissement MEB x 5000, x 10000. Tension 15 kV.

Les morphologies MEB montrent, pour 0.4 M PEGDA, une fusion et une déformation des nanoparticules. A 0.5 M PEGDA, on observe un phénomène proche d'une filmification qui crée par endroits un décrochage de la couche superficielle. Cela pourrait être dû à des couches de PEGDA trop réticulées et donc trop épaisses qui sont physiquement instables et ne résistent pas au nettoyage des plaques par ultrasons. Afin de surmonter ces différents problèmes de déformation des nanoparticules et d'instabilité, nous fixons la concentration de PEGDA à une valeur plus faible de 0.3 M.

A 0.3 M PEGDA, et pour 5 % wt. BME, la surface est considérée hydrophile, avec un angle de contact compris entre 60° et 65°, et ce, sur plusieurs plaques, qui correspond à la valeur prédite par le plan d'expérience (Figure IV-13). Sur cette surface hydrophile, la photopolymérisation de l'émulsion est conduite et les nanoparticules se forment. La Figure IV-15 montre des nanoparticules bien sphériques, nombreuses, présentes à la surface COC fonctionnalisée avec du PEGDA. On remarque que les particules ont résisté au lavage mais semblent néanmoins peu ancrées de manière covalente (mouvement d'agrégation).

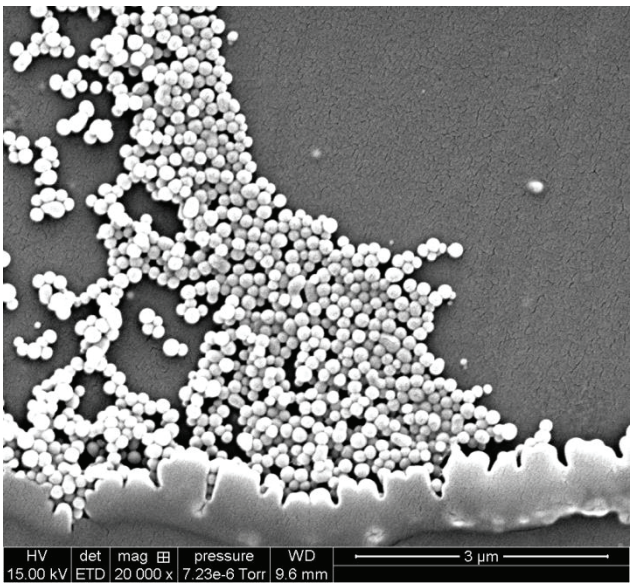

Figure IV-15 : Morphologie des nanoparticules sur un COC fonctionnalisé avec PEGDA 0.3 M PEGDA + 5 % wt. BME dans 50/50 (v/v) acétone/eau : 10 min, 45°C, 2.7 mW/cm². Photopolymérisation miniémulsion optimale : 30 min, 30°C, 2.7 mW/cm². Grossissement MEB x 20000. Tension 15 kV.

Le pourcentage de la BME (5 % wt.) par rapport au monomère PEGDA (0.3 M) est équivalent à une concentration de 17 mM de BME, concentration très élevée, qui doit avoir effet à la fois sur la réticulation du PEGDA et sur l'abstraction d'hydrogène de la

surface COC. Pour mieux observer cela, nous avons opté pour une transformation des courbes isoréponses en concentration de BME et non pas en % massique.

Les concentrations de BME sont regroupées dans le Tableau IV-3 et les courbes isoréponses de l'influence de la concentration BME et du PEGDA sur l'angle de contact sont tracées en Figure IV-16.

Tableau IV-3 : Plan d'expériences représenté en concentration de BME.

Essai	Concentration PEGDA (M)	% wt. BME	BME concentration (mM)	Temps d'irradiation (min)	Y1 : Moyenne de l'angle de contact (°)
1	0.10	1	1.14	10	84
2	0.30	1	3.42	10	71
3	0.10	5	5.70	10	76
4	0.30	5	17.10	10	59
5	0.10	1	1.14	20	84
6	0.30	1	3.42	20	71
7	0.10	5	5.70	20	73
8	0.30	5	17.10	20	65
9	0.10	3	3.42	15	79
10	0.30	3	10.26	15	80
11	0.20	1	2.28	15	84
12	0.20	5	11.40	15	64
13	0.20	3	6.84	10	83
14	0.20	3	6.84	20	78
15	0.20	3	6.84	15	86
16	0.20	3	6.84	15	82
17	0.20	3	6.84	15	75

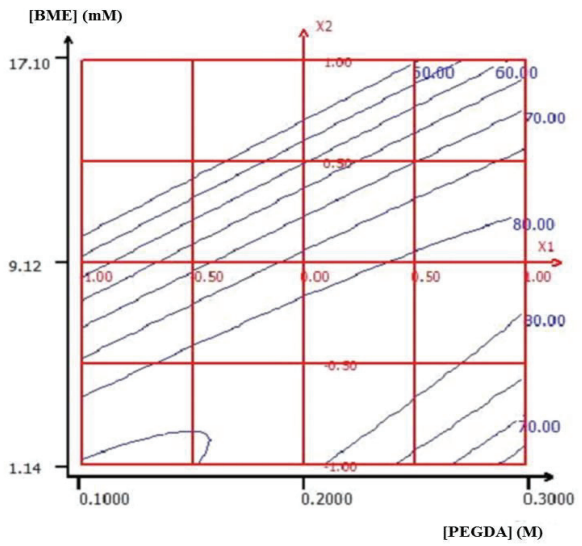

Figure IV-16 : Représentation des surfaces de réponses de l'angle de contact en fonction de la concentration en BME et de la concentration en PEGDA pour un temps d'irradiation de 10 minutes.

La Figure IV-16 montre un caractère hydrophile avec des angles de contact entre 50° et 60° pour 17 mM de BME tout au long du domaine expérimental du PEGDA (0.1 M – 0.3 M). Afin de vérifier ce caractère hydrophile, nous avons étudié la reproductibilité du greffage PEGDA par des mesures d'angle de contact pour les différentes concentrations de PEGDA à concentration fixe en BME de 17 mM (Figure IV-17).

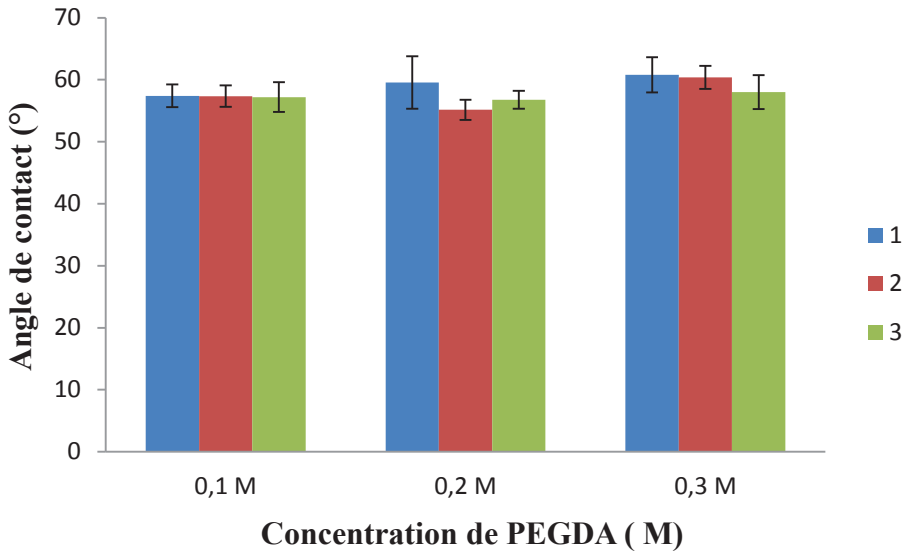

Figure IV-17 : Diagramme de reproductibilité des mesures d'angle de contact pour 3 mesures à 17 mM de BME et pour les différentes concentrations de PEGDA : 0.1 M, 0.2 M et 0.3 M. Photopolymérisation 10 min, 45°C, 2.7 mW/cm^2.

La Figure IV-17 montre une répétabilité du greffage PEGDA pour les trois synthèses réalisées dans les mêmes conditions opératoires. Il semble impossible d'atteindre une surface hydrophile avec un angle de contact inférieur à 60°.

Les différentes concentrations de PEGDA pour 17 mM de BME n'ont pas d'influence sur le caractère hydrophile de la surface COC. Une large gamme de modification de surface montre un angle de contact de 60° (hydrophile). Il est intéressant d'observer l'influence de la réticulation du PEGDA sur l'ancrage et la forme des nanoparticules lorsque la surface initiale présente un même caractère hydrophile (Figure IV-18).

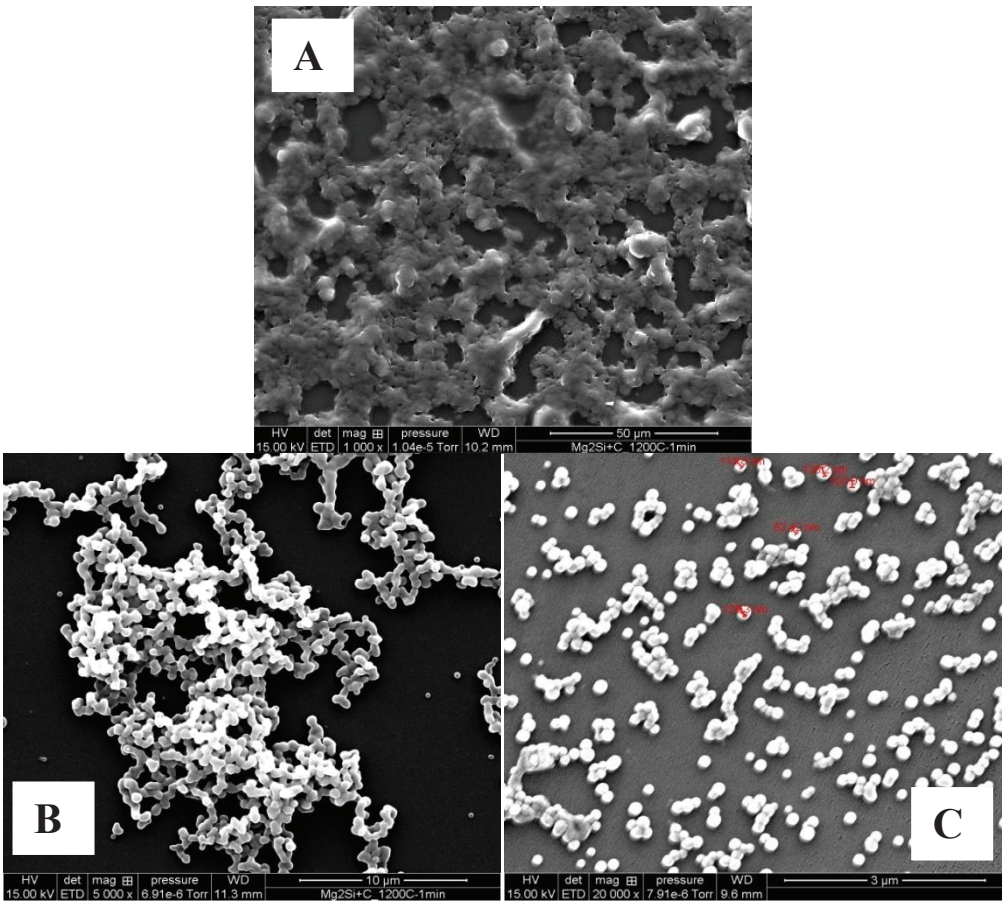

Figure IV-18 : Morphologies des nanoparticules sur un COC fonctionnalisé avec PEGDA à 17 mM BME : 10 min, 45°C, 2.7 mW/cm². Angle de contact entre 55° et 65°. **A :** 0.1 M, **B :** 0.2 M, **C :** 0.3M PEGDA. Photopolymérisation miniémulsion optimale : 30 min, 30°C, 2.7 mW/cm². Grossissement MEB x 1000, x 5000, x 20000. Tension 15 kV.

A partir des photos MEB caractérisant la morphologie des nanoparticules, il semble que la quantité du monomère PEGDA à 0.1 M n'est pas suffisante pour consommer toute la BME lors de la fonctionnalisation de la surface. Il est suggéré que, malgré les rinçages, une certaine quantité de BME résiduelle reste adsorbée à la surface du COC. Lors de l'irradiation de la miniémulsion, la BME abstrait des hydrogènes du COC et crée des radicaux libres. Ces nouveaux points d'ancrage hydrophobes semblent déstabiliser la miniémulsion, comme observé lors des essais avec DCP (section IV.3.1) (Figure IV-18A).

Les nanoparticules deviennent de plus en plus sphériques lorsque, pour une même concentration de BME, la concentration de PEGDA lors de la fonctionnalisation est plus élevée. Pour une concentration en PEGDA de 0.3 M, les nanoparticules sont bien définies visuellement avec des diamètres compris entre 80 nm et 140 nm (Figure IV-18C).

Ces résultats répondent tout à fait au cahier des charges que nous nous étions fixés pour cette thèse, à savoir des nanoparticules d'hexyl acrylate monodisperses d'un diamètre inférieur à 200 nm et ancrées à la surface du COC.

Malheureusement, pour 0.3 M PEGDA, la transposition de la synthèse vers un format microsystème COC a présenté des problèmes de bouchage ainsi que de répétabilité. Nous avons alors envisagé d'élargir le domaine entre 0.05 M et 0.2 M PEGDA pour réduire les risques de bouchage dus à une trop forte réticulation du PEGDA.

L'ancrage des nanoparticules sur des substrats COC fonctionnalisés avec du PEGDA est suivi par MEB pour trois concentrations en PEGDA, 0.05 M, 0.1 M et 0.2 M et pour trois concentrations en BME, 17 mM, 30 mM et 50 mM. L'influence de la concentration de BME permet de vérifier si plus de PEGDA est greffé pour des concentrations en amorceur de plus en plus élevées ou s'il s'agit de l'excédent de BME non impliqué dans la réticulation avec le PEGDA qui intervient sur les surfaces COC. Le diagramme montré dans la Figure IV-9 regroupe les différentes photos MEB observées pour une même photosynthèse de nanoparticules à partir de la miniémulsion optimisée, sur des surfaces ayant subi un greffage PEGDA dans différentes conditions de fonctionnalisation.

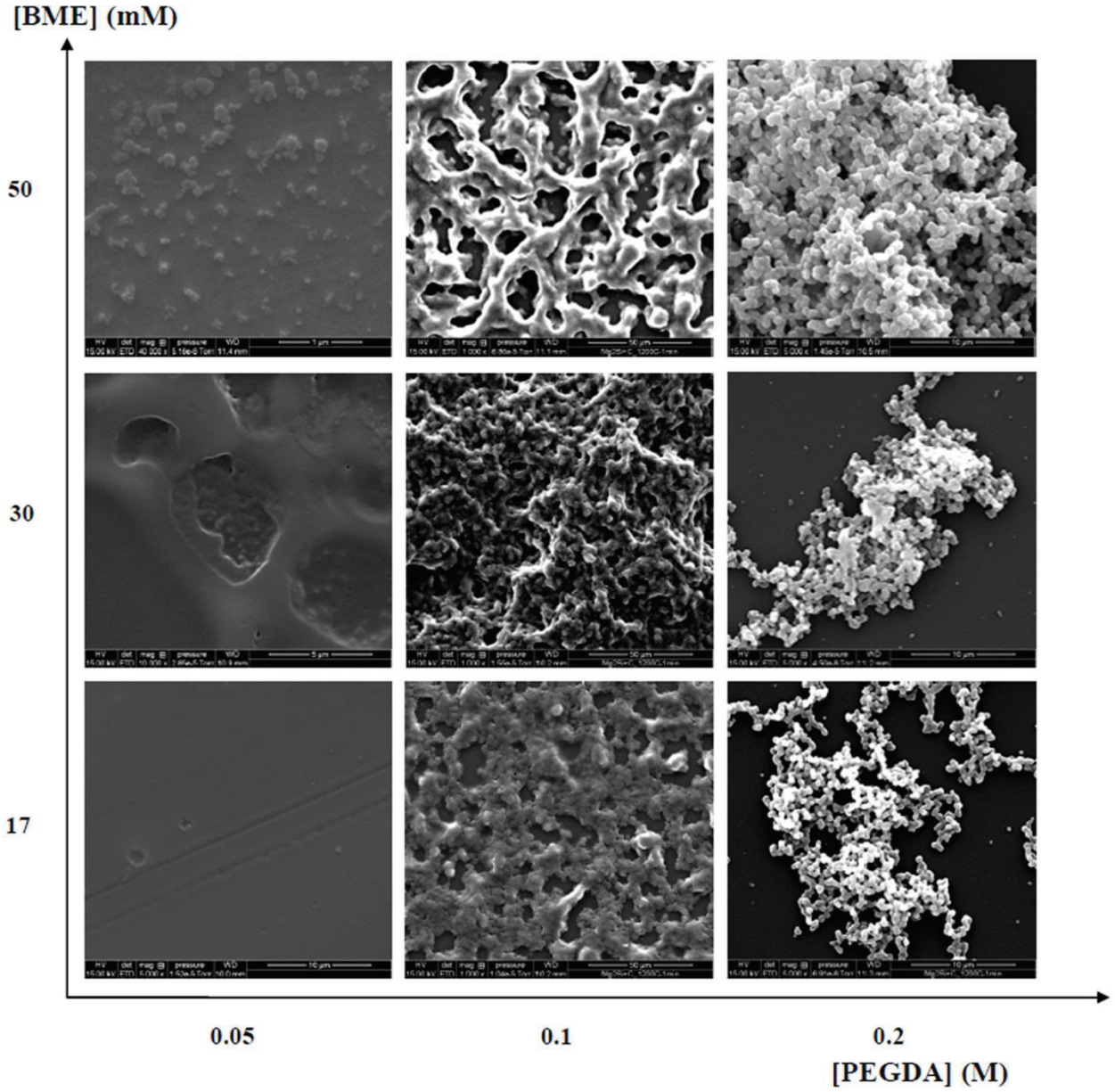

Figure IV-19 : Diagramme de photos MEB pour différentes concentrations en PEGDA et en BME. Photopolymérisation: 10 min, 45°C, 2.7 mW/cm². Photopolymérisation miniémulsion optimale : 30 min, 30°C, 2.7 mW/cm². Tension 15 kV.

Dans un premier temps, nous interprètons le diagramme en horizontal pour les concentrations de PEGDA à concentration fixe de BME. Il semble que les concentrations de 0.05 M et 0.1 M PEGDA ne sont pas suffisantes pour consommer la totalité de la BME, même pour une concentration de 17 mM. Cela entraîne par la suite une instabilité de la miniémulsion et la formation de croûte. A partir de 0.2 M PEGDA, il semble que la fonctionnalisation ne modifie pas la stabilité de la miniémulsion et on observe des structures plus sphériques.

En axe vertical (déplacement vers les fortes concentrations en BME), nous observons de plus en plus de déformation et de filmification pour les concentrations de 0.05 M et 0.1 M PEGDA, alors que pour 0.2 M, les points d'ancrage commencent à augmenter et par conséquent le nombre de particules. La formation d'un réseau tridimensionnel peut être liée à l'hypothèse que la BME ayant réagi avec le PEGDA soit transférable pour former des chapelets (théorie des groupes dormants, living polymerization).

En conclusion, le greffage du PEGDA à la surface COC influence non seulement le caractère hydrophile de la surface, mais également l'ancrage et la sphéricité des particules. Ceci dit, un compromis en concentration s'impose pour être suffisamment hydrophile sans altérer la forme des particules. Ajoutons que les optimisations ont été faites sur plaques COC et il faut penser à rester compatible avec les microsystèmes pour éviter les problèmes de bouchage des canaux.

IV.5 Conclusions et perspectives

Ce chapitre de modification de surface par optimisation du greffage PEGDA a montré la nécessité d'avoir une surface COC hydrophile pour ancrer des nanoparticules. Nous avons pu exploiter une large zone de conditions de greffage par microscopie électronique à balayage afin de visualiser les nanoparticules ancrées et leur forme. Etre hydrophile n'est cependant pas suffisant pour obtenir des particules sphériques. La fonctionnalisation par photogreffage n'est pas un acte anodin, mais va influencer le résultat de l'étape de synthèse.

Les résultats sont prometteurs et ouvrent des perspectives pour la suite du projet NanoChrom comme celle d'ancrer des nanoparticules dans des microsystèmes COC afin de former une phase stationnaire efficace en électrochromatographie.

Références bibliographiques

1. Roy, S. and C.Y. Yue, *Surface Modification of COC Microfluidic Devices: A Comparative Study of Nitrogen Plasma Treatment and its Advantages Over Argon and Oxygen Plasma Treatments.* Plasma Processes and Polymers, 2011. **8**(5): p. 432-443.
2. Tsao, C.W., *et al.*., *Low temperature bonding of PMMA and COC microfluidic substrates using UV/ozone surface treatment.* Lab on a Chip, 2007. **7**(4): p. 499-505.
3. Zhang, J., C. Das, and Z.H. Fan, *Dynamic coating for protein separation in cyclic olefin copolymer microfluidic devices.* Microfluidics and Nanofluidics, 2008. **5**(3): p. 327-335.
4. Brisset, F., *et al.*., *Surface functionalization of cyclic olefin copolymer with aryldiazonium salts: A covalent grafting method.* Applied Surface Science, 2015. **329**(0): p. 337-346.
5. Li, C., *et al.*., *Isoelectric focusing in cyclic olefin copolymer microfluidic channels coated by polyacrylamide using a UV photografting method.* Electrophoresis, 2005. **26**(9): p. 1800-6.
6. Stachowiak, T.B., *et al.*., *Hydrophilic surface modification of cyclic olefin copolymer microfluidic chips using sequential photografting.* J Sep Sci, 2007. **30**(7): p. 1088-93.
7. Deng, J., *et al.*., *Developments and new applications of UV-induced surface graft polymerizations.* Progress in Polymer Science, 2009. **34**(2): p. 156-193.
8. Rohr, T., *et al.*., *Photografting and the Control of Surface Chemistry in Three-Dimensional Porous Polymer Monoliths.* Macromolecules, 2003. **36**(5): p. 1677-1684.
9. Stachowiak, T.B., F. Svec, and J.M.J. Fréchet, *Patternable Protein Resistant Surfaces for Multifunctional Microfluidic Devices via Surface Hydrophilization of Porous Polymer Monoliths Using Photografting.* Chemistry of Materials, 2006. **18**(25): p. 5950-5957.
10. Deverell, J.A., *et al.*., *UV initiated formation of polymer monoliths in glass and polymer microreactors.* Sensors and Actuators B: Chemical, 2011. **155**(1): p. 388-396.
11. Kumlangdudsana, P., S.T. Dubas, and a.L. Dubas, *Surface Modification of Microfluidic Devices.* Journal of Metals, Materials and Minerals., 2007. **17 (2)**: p. 67-74.
12. Park, E.J., *et al.*., *Using Light to Covalently Immobilize and Pattern Nanoparticles onto Surfaces.* Langmuir, 2012. **28**(29): p. 10934-10941.
13. Feng, Y., *et al.*., *Grafting of poly(ethylene glycol) monoacrylates on polycarbonateurethane by UV initiated polymerization for improving hemocompatibility.* Journal of Materials Science: Materials in Medicine, 2013. **24**(1): p. 61-70.
14. Almutairi, Z., C.L. Ren, and L. Simon, *Evaluation of polydimethylsiloxane (PDMS) surface modification approaches for microfluidic applications.* Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects, 2012. **415**(0): p. 406-412.

15. Burke, J.M. and E. Smela, *A novel surface modification technique for forming porous polymer monoliths in poly(dimethylsiloxane)*, in *Biomicrofluidics*. 2012: United States. p. 16506-1650610.
16. Hu, S., *et al.*., *Surface-Directed, Graft Polymerization within Microfluidic Channels.* Analytical Chemistry, 2004. **76**(7): p. 1865-1870.
17. Li, G., *et al.*., *Surface photografting initiated by benzophenone in water and mixed solvents containing water and ethanol.* Journal of Applied Polymer Science, 2012. **123**(4): p. 1951-1959.
18. Zhao, C., Z. Zhang, and W. Yang, *A remote photochemical reaction for surface modification of polymeric substrate.* Journal of Polymer Science Part A: Polymer Chemistry, 2012. **50**(18): p. 3698-3702.
19. Wang, H. and H.R. Brown, *Ultraviolet grafting of methacrylic acid and acrylic acid on high-density polyethylene in different solvents and the wettability of grafted high-density polyethylene. I. Grafting.* Journal of Polymer Science Part A: Polymer Chemistry, 2004. **42**(2): p. 253-262.
20. Kholdi, O.E., *et al.*., *Modification of adhesive properties of a polyethylene film by photografting Journal of Applied Polymer Science Volume 92, Issue 5.* Journal of Applied Polymer Science, 2004. **92**(5): p. 2803-2811.
21. Yang, W. and B. Rånby, *Bulk surface photografting process and its applications. II. Principal factors affecting surface photografting.* Journal of Applied Polymer Science, 1996. **62**(3): p. 545-555.
22. He, D. and M. Ulbricht, *Surface-selective photo-grafting on porous polymer membranes via a synergist immobilization method.* Journal of Materials Chemistry, 2006. **16**(19): p. 1860-1868.
23. Decker, C. and K. Zahouily, *Surface modification of polyolefins by photografting of acrylic monomers.* Macromolecular Symposia, 1998. **129**(1): p. 99-108.
24. Wang, Y., *et al.*., *Facile Surface Superhydrophilic Modification: NVP/MBA Inverse Microemulsion Surface-Grafting Polymerization Initiated by UV Light.* Macromolecular Rapid Communications, 2005. **26**(22): p. 1788-1793.
25. Balart, J., *et al.*., *Surface modification of polypropylene substrates by UV photografting of methyl methacrylate (MMA) for improved surface wettability.* Journal of Materials Science, 2012. **47**(5): p. 2375-2383.
26. Ma, H., R.H. Davis, and C.N. Bowman, *Principal factors affecting sequential photoinduced graft polymerization.* Polymer, 2001. **42**(20): p. 8333-8338.
27. Ladner, Y., *et al.*., *New "one-step" method for the simultaneous synthesis and anchoring of organic monolith inside COC microchip channels.* Lab on a Chip, 2012. **12**(9): p. 1680-1685.
28. Stachowiak, T.B., *et al.*., *Fabrication of porous polymer monoliths covalently attached to the walls of channels in plastic microdevices.* Electrophoresis, 2003. **24**(21): p. 3689-3693.
29. Jena, R.K., C.Y. Yue, and L. Anand, *Improvement of thermal bond strength and surface properties of Cyclic Olefin Copolymer (COC) based microfluidic device using the photo-grafting technique.* Sensors and Actuators B: Chemical, 2011. **157**(2): p. 518-526.

30. Roy, S., *et al..*, *Low-temperature (below Tg) thermal bonding of COC microfluidic devices using UV photografted HEMA-modified substrates: high strength, stable hydrophilic, biocompatible surfaces.* Journal of Materials Chemistry, 2011. **21**(38): p. 15031-15040.
31. Rohr, T., *et al..*, *Surface Functionalization of Thermoplastic Polymers for the Fabrication of Microfluidic Devices by Photoinitiated Grafting.* Advanced Functional Materials, 2003. **13**(4): p. 264-270.
32. Roy, S., *et al..*, *Fabrication of smart COC chips: Advantages of N-vinylpyrrolidone (NVP) monomer over other hydrophilic monomers.* Sensors and Actuators B: Chemical, 2013. **178**(0): p. 86-95.
33. Du, G., *et al..*, *In-channel tuning of hydrophilicity and surface charge of cyclic olefin copolymer microchips by UV-induced graft polymerization and its application in lab-on-a-chip devices.* Chemical Engineering Journal, 2012. **195–196**(0): p. 132-139.
34. Peng, X., *et al..*, *Charge Tunable Zwitterionic Polyampholyte Layers Formed in Cyclic Olefin Copolymer Microchannels through Photochemical Graft Polymerization.* ACS Applied Materials & Interfaces, 2013. **5**(3): p. 1017-1023.
35. Ladner, Y., *Développement de microsystèmes électrochromatographiques en copolymère d'oléfine cyclique (COC),Thèse*. 2012, Université Claude Bernard Lyon 1.

Conclusion générale et perspectives

L'objectif de cette thèse est de synthétiser des nanoparticules pour le développement d'une nouvelle phase stationnaire dédiée à l'électrochromatographie. C'est dans cette perspective que nous avons proposé la photopolymérisation *in-situ* d'une miniémulsion en microsystème COC assurant l'ancrage covalent de nanoparticules aux parois, afin d'éviter le remplissage par fritté.

Des essais préliminaires sur le greffage des nanoparticules résultant d'une microémulsion (diamètre de l'ordre de 30 nm) sur des surfaces COC ont été réalisés. D'après les morphologies observées par microscopie électronique à balayage, la quantité de tensioactif gêne l'approche des gouttes à la surface et influence aussi la forme des nanoparticules résultantes après photopolymérisation. Par conséquent, l'utilisation d'une miniémulsion (diamètre compris entre 100 nm et 200 nm) a été l'alternative de choix pour minimiser la quantité de tensioactif. A partir de cette hypothèse, il s'est avéré que l'ancrage sur une surface COC native présentant un caractère hydrophobe n'était pas possible.

Dans un premier temps, nous avons étudié plus en détail la synthèse à partir d'une miniémulsion en commençant par la vérification de la corrélation entre les gouttes de miniémulsion et les nanoparticules obtenues après photopolymérisation. La composition de la formulation a été ensuite optimisée par plan d'expériences grâce à une matrice composite à faces centrées. Les courbes isoréponses ont montré qu'il était possible d'obtenir des tailles de gouttes similaires pour différentes compositions. Dans le but de minimiser la quantité de tensioactif sans altérer la monodispersité, nous avons réussi à extrapoler le domaine expérimental et à démontrer que les gouttes restent monodisperses et de tailles inférieure à 200 nm pour des concentrations en SDS inférieures de moitié à la concentration micellaire critique. La formulation optimale présente des tailles de gouttes et de nanoparticules monodisperses de l'ordre de 170 nm et 165 nm respectivement.

Dans un deuxième temps, nous avons étudié l'étape de fonctionnalisation préliminaire de surfaces COC par des monomères hydrophiles ou hydrophobes. La synthèse se fait en deux étapes : une première étape de fonctionnalisation du COC et une deuxième étape de polymérisation photochimique de la miniémulsion au contact de cette surface. L'optimisation de la fonctionnalisation par des monomères PEGDA a été réalisée par plan d'expériences, le caractère hydrophile ciblé étant entre 50° et 60° d'angle de

contact. La morphologie des nanoparticules a également été suivie par MEB afin d'observer la structure des particules pour différentes conditions de fonctionnalisation. Il est apparu que les conditions de fonctionnalisation et notamment la teneur en amorceur, ont de fortes conséquences sur la morphologie des nanoparticules synthétisées par la suite.

Les premiers résultats obtenus au cours de cette thèse permettent de mieux cerner les nombreux paramètres à mettre en œuvre pour développer des colonnes à base de nanoparticules greffées. La prochaine étape devra porter sur l'homogénéité de synthèses dans des canaux de microsystèmes, puis sur la mise en place d'un réseau tridimensionnel de nanoparticules.

Annexe

Colloid Polym Sci (2016) 294:27–36
DOI 10.1007/s00396-015-3778-2

ORIGINAL CONTRIBUTION

Response surface optimization of miniemulsion: application to UV synthesis of hexyl acrylate nanoparticles

Josiane Saadé[1] · Claire Bordes[1] · Guy Raffin[1] · Marie Hangouët[1] · Pedro Marote[1] · Karine Faure[1]

Received: 23 February 2015 / Revised: 30 July 2015 / Accepted: 18 September 2015 / Published online: 29 September 2015
© Springer-Verlag Berlin Heidelberg 2015

Abstract This paper presents the UV synthesis in miniemulsion of nanoparticles from hexyl acrylate monomers using radical photoinitiator type I benzoin methyl ether. The optimization of such a miniemulsion composition is studied to produce monodisperse nanoparticles with a mean size d_p inferior to 200 nm after photopolymerization of the droplets. The correlation between the size distributions of the droplets and the corresponding nanoparticles was verified. Therefore, a composite design was built as regards to the amount of the surfactant (sodium dodecyl sulfate), the co-stabilizer (pentadecane), and the monomer (hexyl acrylate) in order to model the mean size and the polydispersity of the miniemulsion droplets. A range of monodisperse droplets size between 150 and 175 nm was achieved. After UV irradiation, high monomer conversion yield (>90 %) was reached leading to nanoparticles with mean size ranging from 100 to 165 nm. These hexyl acrylate nanoparticles have been obtained after 10 min of irradiation, offering new opportunities for nanoparticles synthesis in enclosed and/or plastic vessels.

Keywords Miniemulsion · Photopolymerization · Hexyl acrylate · Monodisperse nanoparticles · Experimental design

Abbreviations

AMPS	2-Acrylamide-2-methyl propane sulfonic acid
BME	Benzoin methyl ether
d_d	Droplet diameter
HA	Hexyl acrylate
d_p	Nanoparticle diameter
PdI_{DLS}	Polydispersity index
C_{15}	Pentadecane
SDS	Sodium dodecyl sulfate

Electronic supplementary material The online version of this article (doi:10.1007/s00396-015-3778-2) contains supplementary material, which is available to authorized users.

✉ Karine Faure
Karine.FAURE@isa-lyon.fr

Josiane Saadé
Josiane.SAADE@isa-lyon.fr

Claire Bordes
Claire.BORDES@isa-lyon.fr

Guy Raffin
Guy.RAFFIN@isa-lyon.fr

Marie Hangouët
Marie.HANGOUET@isa-lyon.fr

Pedro Marote
Pedro.MAROTE@isa-lyon.fr

[1] Institut des Sciences Analytiques, Université de Lyon (UMR Université Lyon 1/ENS/CNRS 5280), 5 rue de la Doua, 69100 Villeurbanne, France

Introduction

Polymeric nanoparticles are used in a wide variety of applications such as synthetic rubber, paints, adhesives, paper coatings, and textiles. They are also used in biotechnology, biomedical engineering, and pharmaceutical applications such as diagnostic tests and drug delivery systems [1, 2]. Usually, polymer colloids are made by emulsion polymerization [3–5]. Briefly, an immiscible monomer is emulsified in a continuous phase. The polymerization process is induced by the addition of a radical initiator leading to the formation of colloidal particles with a smaller mean size than the initial droplets.

Depending on the liquids and surfactants used, oil-in-water (direct) or water-in-oil (inverse) emulsions may be generated [6, 7]. These systems are grouped under the generic term of emulsions which is often preceded by a prefix macro, mini (or nano), and micro. These emulsions differ by the droplet size and their stability. Macroemulsions are made of droplets in the micrometer size range. Mini- and microemulsion droplets size ranges from 50 to 500 nm for the first one and from 10 to 50 nm for the latest.

Compared to macroemulsions [8] and miniemulsions [9], microemulsions are thermodynamically stable systems [10] since based on structures (as micelles) induced by the surfactant self-association above critical micellization concentration (CMC). But these systems are very sensitive to dilution or temperature fluctuations while miniemulsion droplets remain stable in such conditions of stress [11].

Surfactants are used to stabilize macro- and miniemulsions by limiting coalescence between the droplets. In miniemulsions, a low molecular weight hydrophobic co-stabilizer is also added to limit the Ostwald ripening which leads to emulsion diffusional degradation: the osmotic pressure induced by the hydrophobic compound allows counteracting the Laplace pressure inducing a sharp decrease of the ripening phenomenon kinetic [9, 11, 12].

The co-stabilizer being most effective when its water solubility is low, hexadecane is widely used in miniemulsion formulation [9, 13]. The homogenization of such systems requires high energy typically using ultrasonication [14]. Miniemulsions are not thermodynamically stable systems but are considered to be metastable [15, 16]. They exhibit a very large droplet surface area that requires large amounts of adsorbed surfactant to be stabilized. Thus, after the emulsification step, little free surfactant may be available to micelle formation even at surfactant concentrations far above the CMC [17]. Ideally, during miniemulsion polymerization, no micelles or homogeneous nucleation should occur, droplet nucleation being the unique particle nucleation process so that a 1:1 copy of droplets to particles may arise [15]. Thus, an optimal miniemulsion formulation should be obtained as surfactant micelles get depleted for the stabilization of the large droplet surface area [12, 17].

A vast majority of the studies on emulsion polymerization processes focus primarily on thermally initiated polymerization [8–10]. As an example,hybrid polymer particles were obtained by miniemulsion polymerization at 70 °C and 500 rpm [9]. But thermally initiated polymerization requires hours for the production of nanoparticles. For example, nanoparticles of methyl methacrylate and butyl methacrylate copolymers were produced from microemulsion polymerization at 75 °C for 6 h [10]. An alternative approach is UV light-induced polymerization [18–27]. This process allows the polymerization in enclosed vessels like thermoplastic chip within a few minutes at room temperature and without stirring. Wang et al. [28, 29] have reported a successful emulsion photopolymerization of methyl methacrylate/1, 2-divinylbenzene (MMA/DVB) into a polymeric substrate.

Our research team works on the synthesis of new chromatographic stationary phases in microchipsmade of cyclic copolymer olefin (COC). The first stationary phases were based on the in situ photopolymerization of an acrylate monolith [30, 31]. In response to the specifications that require the synthesis of charged and monodisperse particles of controlled size for electrochromatography in thermoplastic chip, photopolymerization in miniemulsion is now suggested as a new process.

Consequently, the aim of this study consisted in the UV synthesis of monodisperse nanoparticles (with a mean size inferior to 200 nm) from hexyl acrylate miniemulsion. To achieve this goal, miniemulsions were formulated with sodium dodecyl sulfate (SDS) as surfactant and pentadecane as co-stabilizer. Miniemulsion composition was optimized by using a central composite design (CCD) in order to obtain stable and monodisperse nanodroplets.

The optimal miniemulsion was then UV-irradiated to synthesize hexyl acrylate (C_6) nanoparticles to be used as stationary phase for chromatography in thermoplastic microchip.

Experimental section

Materials

All chemicals were supplied by Sigma-Aldrich (Isle-d'Abeau, France) and used as received: SDS as surfactant, the monomers hexyl acrylate (HA) and 2-acrylamide-2-methyl propane sulfonic acid (AMPS), the photoinitiator benzoin methyl ether (BME), and pentadecane (C15) as co-stabilizer. Syntheses and analyses were performed with demineralized water of Milli-Q grade (resistivity 18 MΩ).

Miniemulsion formulation

SDS and charged monomer AMPS were dissolved in water forming the aqueous phase (φ_{aq}). The organic phase (φ_{org}) was prepared with the monomer hexyl acrylate (HA), the photoinitiator benzoin methyl ether (BME), and the co-stabilizer pentadecane (C_{15}).

Both phases were then mixed in a beaker during 10 min using a magnetic stirrer at 700 rpm leading to an oil-in-water pre-emulsion. This dispersion was then miniemulsified by ultrasonication with a sonifier (W450 DigitalBranson) at 50 % amplitude for 180 s. All amounts are expressed in weight percentage (wt.%) with respect to the water weight.

Miniemulsion photopolymerization

The illumination system used to perform photopolymerization is a Bio-Link cross-linker (VWR International, Strasbourg, France) equipped with five 8-W UV tubes, emitting at 365 nm. Miniemulsion samples were irradiated in a flask during a specific irradiation time at a stable temperature of 30 °C, unless stated otherwise, maintained by a hot plate connected to a regulator and mini-programmer (Electronic Micro Systems Ltd., UK). Irradiation intensity is controlled by the distance between UV tubes and miniemulsion and monitored using a VLX-3 W light sensor.

Methods for droplets and nanoparticles characterization

Size distribution

Droplet and particle size distributions were measured after 2 h of preparation by dynamic light scattering (DLS) using a Zetasizer nano ZS (Malvern Instruments). Cumulant analysis of the intensity autocorrelation function measured by DLS led to the determination of both the *z*-average diameter d_p and the width of the size distribution known as polydispersity index. This latter parameter, further noted PdI_{DLS}, allows describing the dispersion of the size distribution but should not be equated with the polydispersity index PDI=Dw/Dn as in polymer science (with the number Dn and weight Dw average particle diameters).

For this purpose, the dispersions were 200 times diluted (50 μL for 10 mL) in water and measurements were achieved inside a 12-mm glass cell.

PdI_{DLS} values are comprised between 0 and 1, size distributions with PdI_{DLS} values less than 0.10 being considered highly monodisperse.

Monomer conversion

The conversion of monomers into nanoparticles under UV irradiation was monitored by thermogravimetric analysis (TGA Q50—TA instruments). The platinum nacelle was loaded with nanoparticles sample maintained in an atmosphere purged inert gas (nitrogen N_2) to prevent oxidation or other undesired reactions during analysis. An isotherm was maintained at 30 °C for 100 min, and then the temperature was increased through a gradient of 10 °C/min up to 620 °C.

Optimization design

Surface response methodology (SRM) was applied to optimize the miniemulsion composition in order to obtain monodisperse droplets with a mean size d_d less than 200 nm. The experimental factors studied were the amount of pentadecane (X1), SDS (X2), and hexyl acrylate (X3). A central composite design (CCD) was built with a second-order quadratic equation to model both the mean size (Y1) and the polydispersity index (Y2) of the miniemulsion droplets as follows:

$$Y = b_0 + b_1X_1 + b_2X_2 + b_3X_3 + b_{12}X_1X_2 + b_{13}X_1X_3 + b_{23}X_2X_3 + b_{11}X_1^2 + b_{22}X_2^2 + b_{33}X_3^2 \quad (1)$$

where Y is the modeled response (Y1 or Y2), b_0 is the intercept, X_i is the coded factor, b_i is the corresponding coefficient, b_{ii} is the quadratic coefficient, and b_{ij} is the two-factor interaction coefficient.

Seventeen experiments were thus carried out determined by the 2^3 full factorial design with six axial points at a distance of α=1 from the design center and three center points. The experimental factors and their levels are given in Table 1.

Multiple linear regression, analysis of variance (ANOVA), and residual analysis were performed with NemrodW®software (LPRAI, Marseille, France).

Results and discussion

Preliminary experiments

DLS measurements are controversial for the characterization of miniemulsion droplets size since these media may be sensitive to the high dilution required by the technique. Therefore, preliminary experiments have been performed to validate the robustness of such a size analysis method for HA miniemulsion characterization.

As already shown by Landfester et al. [15], we first observed the slow time evolution of the size distribution of such a media. Therefore, the droplet size characterization by DLS was performed after 2 h of preparation. The results indicated a good reproducibility of the DLS measurements for both monodisperse and polydisperse minimemulsions allowing the validation of DLS technique for their size analysis.

Here, the objective was to synthesize monodisperse HA nanoparticles with a mean size lower than 200 nm. The monodispersity is the uniformity in size of the nano-objects and is reached for PdI_{DLS} values below 0.15. The correlation between the size distributions of miniemulsion droplets and the resulting nanoparticles was thus investigated.

Table 1 Experimental factors and their coded levels in the central composite design. The amount of C_{15}, SDS, and HA are in weight percent with respect to water weight

Level	C_{15} (wt.%)	SDS (wt.%)	HA (wt.%)
–1	0.1	1	5
0	0.35	2	10
1	0.6	3	15

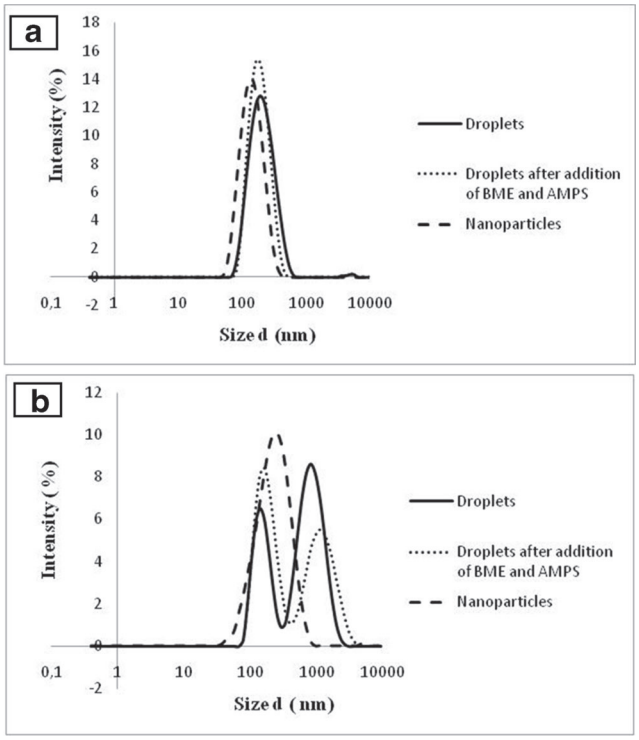

Fig. 1 Size distribution of the droplets before (*full*) and after addition of photoinitiator BME and charged monomer AMPS (*dot*). The size distribution of the corresponding nanoparticles obtained after UV irradiation (30 min, 30 °C, UV intensity 2.7 mW /cm^2) are in *dashed*. **a** From formulation: 1 g SDS+0.6 g C_{15}+ 15 g HA+0.075 g AMPS+ 0.375 g BME in 100 g water. **b** From formulation: 1 g SDS+0.1 g C_{15}+ 15 g HA+0.075 g AMPS+0.375 g BME in 100 g water

Table 3 Regression coefficients estimated for each response (with a significance level <5 %)

Coefficient	d_d	PdI_{DLS}
b_0	173.49	0.180
b_1	−42.22	−0.119
b_2	−10.51	−0.010
b_3	33.18	0.063
b_{11}	29.95	0.085
b_{22}	–	–
b_{33}	–	−0.013
b_{12}	7.18	–
b_{13}	−18.23	−0.049
b_{23}	–	–

To achieve droplet polymerization under UV irradiation, addition of 2.5 wt.% of photoinitiator BME and 0.5 wt.% charged monomer AMPS (with respect to the monomer HA weight) to the initial miniemulsion is required. Hydrophobic initiator was used to reduce secondary particle formation [17]. The size distribution of monodisperse (Fig. 1a) or polydisperse (Fig. 1b) miniemulsion was not influenced by the addition of these reagents.

The miniemulsion samples were then irradiated for 30 min at 30 °C under UV intensity of 2.7 mW/cm^2. The generated nanoparticles (Fig. 1) exhibited an average diameter size lower than the droplets average size. Moreover, the nanoparticle size distribution exhibited lower dispersity than the stock droplets (Fig. 1). Monodisperse droplets with a mean diameter d_d=175 nm led to monodisperse nanoparticles with a mean

Table 2 Three-factor central composite design with the corresponding responses: the droplet mean diameter d_d measured by DLS after 2 h and their polydispersity index PdI_{DLS}. The amount of C_{15}, SDS, and HA are in weight percent with respect to water weight

Trial	Experimental factors						Measured responses	
	X1	X2	X3	C_{15} (wt.%)	SDS (wt.%)	HA (wt.%)	d_d (2 h, nm)	PdI_{DLS}
1	−1	−1	−1	0.1	1	5	210	0.26
2	1	−1	−1	0.6	1	5	147	0.13
3	−1	1	−1	0.1	3	5	178	0.24
4	1	1	−1	0.6	3	5	140	0.11
5	−1	−1	1	0.1	1	15	325	0.50
6	1	−1	1	0.6	1	15	185	0.16
7	−1	1	1	0.1	3	15	282	0.46
8	1	1	1	0.6	3	15	175	0.14
9	−1	0	0	0.1	2	10	235	0.41
10	1	0	0	0.6	2	10	160	0.14
11	0	−1	0	0.35	1	10	182	0.18
12	0	1	0	0.35	3	10	169	0.17
13	0	0	−1	0.35	2	5	150	0.12
14	0	0	1	0.35	2	15	189	0.23
15	0	0	0	0.35	2	10	180	0.16
16	0	0	0	0.35	2	10	171	0.19
17	0	0	0	0.35	2	10	174	0.17

diameter d_p=130 nm which is quite satisfying considering our objectives (Fig. 1a). This also indicates that nanoparticles were formed within micelles or by homogeneous nucleation, monomer droplets acting as reservoirs instead of nucleation *loci* during the polymerization process. The hydrophobic nature of the photoinitiator promotes this phenomenon.

These preliminary experiments still allowed (i) the validation of DLS measurements for miniemulsion HA droplet characterization and (ii) observing the high correlation of size

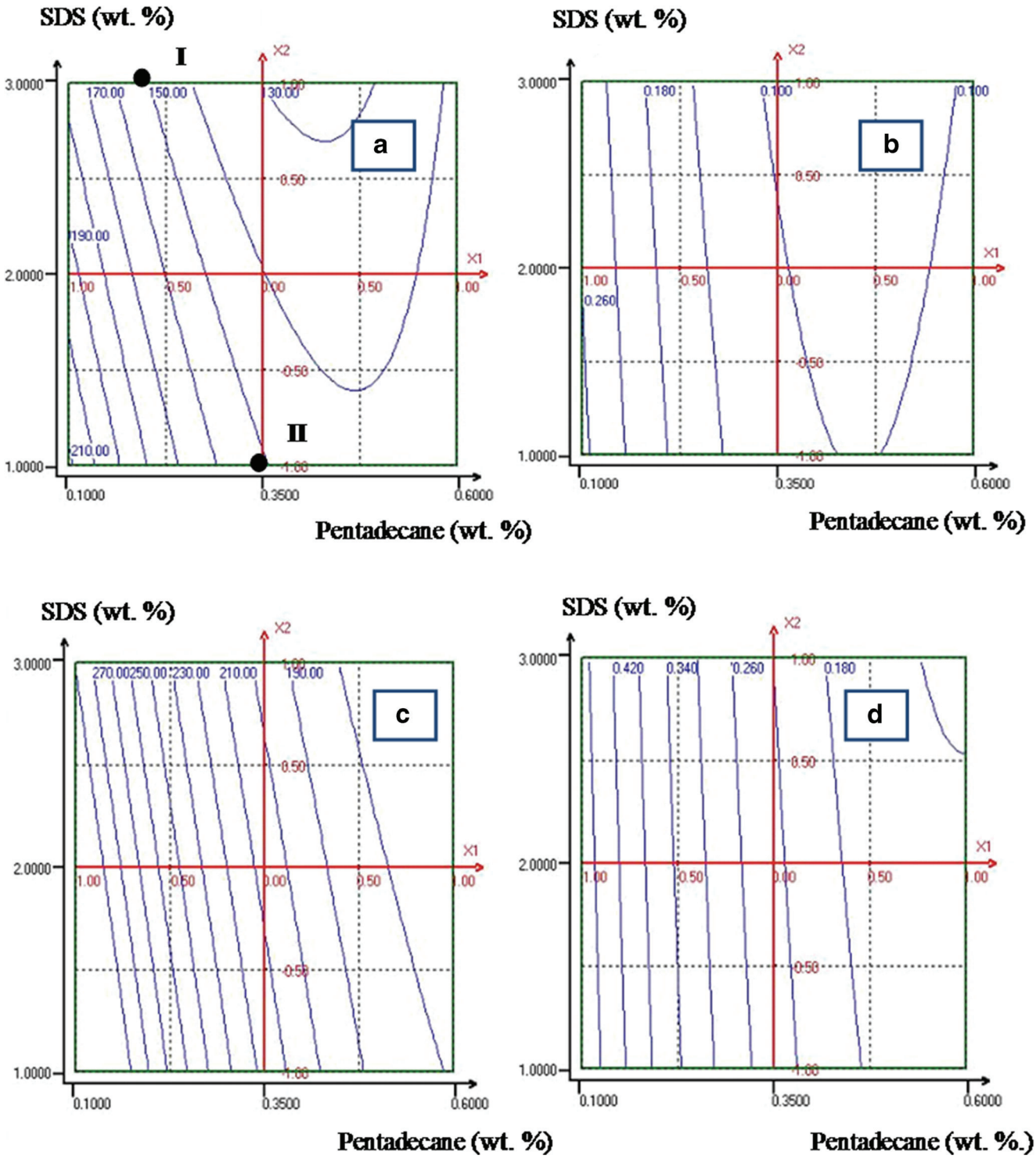

Fig. 2 Contour plot of the response surface for HA=5 wt.% (**a** droplet diameter d_d and **b** PdI_{DLS}) (formulation compositions: I, φ_{aq} 3 g SDS in 100 g water+φ_{org} 5 g HA+0.2 g C_{15}; II φ_{aq} 1 g SDS in 100 g water+φ_{org} 5 g HA+0.35 g C_{15}) and for HA=15 wt.% (**c** droplet diameter d_d and **d** PdI_{DLS})

distribution monodispersity before and after droplet polymerization, the generated nanoparticles being smaller than the initial droplets.

Therefore, the optimization of the miniemulsion formulation was studied by surface response methodology considering the amount of the surfactant (SDS), the costabilizer (C_{15}), and the monomer (HA) and looking for monodisperse droplets with a mean size d_d inferior to 200 nm. This optimized formulation should lead to equal or smaller monodisperse nanoparticles suitable for electrochromatography applications.

Central composite design

In the literature dedicated to miniemulsion, surfactant concentration ranges between 0.1 up to 50 % (wt% relative to monomer) often leading to concentrations above CMC. Here, surfactant concentration was expressed in weight percent relative to water in order to make the experimental factors studied as independent variables for the central composite design.

The experimental domain ranged from 1 to 3 wt.% SDS (approx. between 5 and 15 times the CMC_{SDS}, which is 0.2 wt.% relative to water weight), from 5 to 15 wt.% HA and from 0.1 to 0.6 wt.% C_{15} (wt.% with respect to the water weight). The amounts of C_{15} corresponds to 2–4 wt.% with respect to the monomer (HA) weight as suggested in the literature [26, 27]. The experimental range for each reagent is presented in Table 1. Table 2 presents the 17 experiments defined by the central composite design and the resulting responses. The droplets mean size ranged from 140 nm up to 325 nm and the polydispersity index PdI_{DLS} from 0.1 to 0.5.

All 17 experiments were used for the estimation of the regression model coefficients in Eq. 1. Only the regression coefficients significant at the 5 % level were kept in the models (Table 3). The ANOVA results indicated the high significance of the model for both d_d and PdI_{DLS}: the model F values were 78.8 and 183.7 for d_d and PdI_{DLS} models, respectively, which corresponds to less than 0.01 % probability that this model F values are due to noise.

The regression models can be statistically evaluated by comparing the experimental standard deviation (SD_{exp}) (estimated from the center points) with the residual standard deviation (SD_{res}). Similar values of SD_{exp} and SD_{res} were obtained indicating that d_d and PdI_{DLS} were satisfactorily modeled (see supplementary data for detail, S1).

The determination coefficients (R^2 and R^2-adjusted) close to 1 also proved the satisfactory adequacy of the developed models. The residual error value of each experiment was calculated as the difference between the experimental response and the response predicted by the model. These residual errors being almost all contained within the range of $3*SD_{exp}$, we can conclude that each response is sufficiently explained by the regression model (see supplementary data for detail, S2).

Once validated, each model was used to visualize the surface responses as a bi-dimensional plot of two factors (X1 and X2), while keeping the third one (X3) constant. Figure 2 shows the contour plot of the response surface for both d_d and PdI_{DLS} at HA=5 wt.% (Fig. 2a, b) and HA=15 wt.% (Fig. 2c, d). For the amount of HA at 5 wt.%, the droplet mean size (d_d) could reach 130 to 210 nm with PdI_{DLS} variation among 0.1 and 0.2 while for 15 wt.% HA, d_d ranged from 175 to 300 nm and PdI_{DLS} from 0.14 to 0.46. The more HA the miniemulsion contained, the larger the droplets were, with a higher PdI_{DLS}. Moreover, C_{15} concentration highly influenced the droplet size distribution: for 5 wt.% HA (Fig. 2a, b), as C_{15} concentration increased from 0.1 to 0.35 wt.%, d_d decreased from 210 to 150 nm, and the PdI_{DLS} from 0.26 to 0.1.

For 15 wt.% HA (Fig. 2c, d), the same C_{15} evolution led to a d_d decrease from 270 to 210 nm while the PdI_{DLS} sharply declined from 0.42 to 0.26. The amount of SDS in the experimental domain studied had no or a slight effect on the droplet size distribution, especially at high HA concentration. At low HA concentration, SDS percentage may influence droplets characteristics for higher pentadecane concentrations (above 0.35 wt.%).

The developed regression equations allowed us to locate optimal operating conditions. The smallest monodisperse droplets exhibited a mean diameter around 130 nm and were formulated with the lowest HA concentration 5 wt.%.

It should be noted that specific droplets mean diameter may be obtained from different compositions of miniemulsions as indicated by the developed models and the corresponding response surfaces. This advantage allows a large choice of compositions suitable to a sought application.

In order to experimentally observe the slight influence of SDS percentage on the size distribution of small monodisperse droplets, we have chosen to prepare two formulations (I and II, see caption Fig. 2 for full composition) for which the developed models predicted a similar droplet mean size of

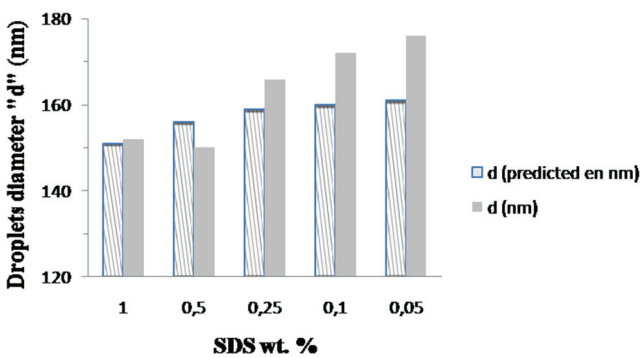

Fig. 3 Evolution of droplets mean size with the SDS wt.%. Comparison between the predicted (*dashed*) and the experimental (*full*) diameters

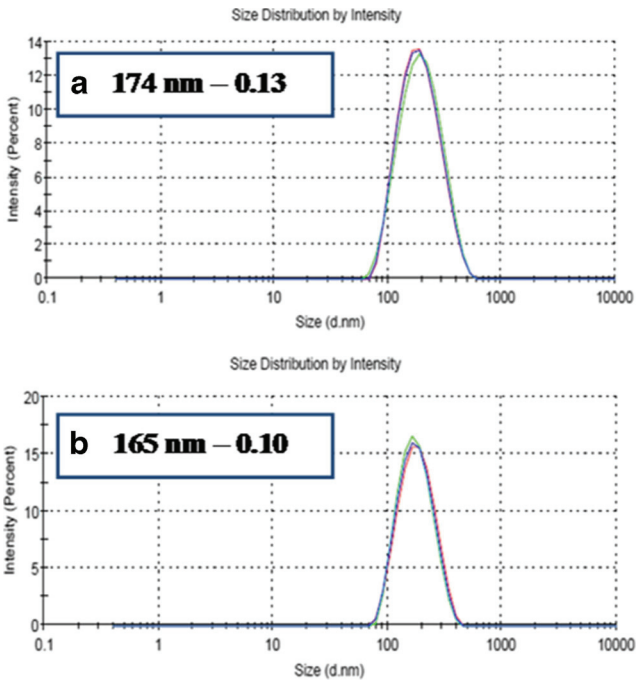

Fig. 4 Size distribution of the nanoparticles made with **a** 0.05 wt.% SDS and **b** 0.1 wt.% SDS. Polymerization: 30 min at 30 °C under UV intensity of 2.7 mW/cm^2

150 nm with a PdI_{DLS} about 0.1 as indicated in Fig. 2a, b. The difference between these formulations was the amount of SDS which is maximum (3 wt.%) for miniemulsion I and minimum (1 wt.%) for miniemulsion II. The amount of C_{15} was relatively similar in these two formulations, respectively, 0.2 wt.% (I) and 0.35 wt.% (II).

As expected, the experimental droplet size distributions (I d_d=155 nm and PdI_{DLS}=0.11, II d_d=152 nm and PdI_{DLS}=0.12) measured by DLS were close to the results predicted by the model (d_d=150 nm and PdI_{DLS}=0.1). These results confirmed the high predictive power of the models developed in the studied experimental domain.

Considering that the predicted mean diameter did not evolve significantly with the SDS amount between 1 and 3 wt.% (formulations I and II), we tried to further reduce the amount of SDS in the formulations although no validation of the models were made below 1 wt.% SDS. A lower amount of surfactant would indeed benefit to the implementation of the nanoparticles in the chromatographic column and their subsequent use.

Reducing the amount of surfactant (SDS)

The percentage of SDS was thus varied between 1 and 0.01 wt.%. The organic phase was maintained constant at 5 wt.% HA+0.35 wt.% C_{15} (with respect to water weight).

As expected, a decrease of SDS quantity resulted in an increase of the droplets diameter from 150 to 180 nm (Fig. 3). These droplets remained monodisperse (0.1< PdI_{DLS}<0.13) until 0.05 wt.% SDS while below this concentration, polydisperse droplets were obtained.

Figure 3 shows a significant deviation from the model starting from 0.25 wt.% SDS which corresponds to approx. CMC $_{SDS}$. The SDS amount may be insufficient to stabilize the formulation, especially for an amount inferior to 0.05 wt.%. The lower the amount of SDS is, the most deviation from the model is observed. Because of this situation, it was necessary to check the correlation between the droplets and nanoparticles again.

Previously, the photoinitiator BME (2.5 wt.%) and AMPS (0.5 wt.%) were added to these miniemulsions and the resulting droplets distributions were measured. In the studied range, the droplet mean size increased from 150 to 175 nm with the decrease of SDS amount (see supplementary data for details, S3) and their monodispersity was maintained. As previously observed, the addition of photoinitiator BME and charged monomer did not affect the monodispersity and contributed to the same evolution of droplets diameter.

Two formulations with percentages of SDS 0.05 and 0.1 wt.% meet the specifications (d_d=174 nm, PdI_{DLS}=0.1). Therefore, the size distributions of the resulting nanoparticles were compared (Fig. 4) after UV irradiation of 30 min at 30 °C under UV intensity of 2.7 mW/cm^2. Similar size distributions were observed before and after polymerization, indicating an optimal polymerization process based on droplet nucleation, as described by Hecht et al. [17].

The miniemulsion with 0.1 wt.% SDS exhibited a sharper size distribution. Moreover, its stability was proven longer than when using only 0.05 wt.% SDS (results not shown),

Table 4 Influence of the irradiation conditions on the monomer conversion yield, the nanoparticle mean diameter and PdI_{DLS} from the miniemulsion formulation made with φ_{aq} 0.1 wt.% SDS+0.5 wt.% AMPS in 100 g water and φ_{org} 5 wt.% HA+0.35 wt.% C_{15}+2.5 wt.% BME

Factors	Intensity of irradiation (mW/cm^2)	Irradiation time (min)	Temperature (°C)	Conversion yield (%)	d_p 2 h (nm)	PdI_{DLS}
Minimum	2.2	10	30	92	166	0.11
Maximum	3.2	30	50	96	171	0.11
Center	2.7	20	40	95	166	0.11
	2.7	20	40	92	166	0.12
	2.7	20	40	95	168	0.11

with distribution centered on the smallest diameter (d_p= 165 nm).

Therefore, the final composition of the miniemulsion was fixed at 0.1 wt.% SDS (approx. 0.5×CMC $_{SDS}$) and 0.5 wt.% AMPS in the aqueous phase mixed to the organic phase constituted of 5 wt.% HA, 0.35 wt.% C_{15}, and 2.5 wt.% BME.

Miniemulsion photopolymerization

Different factors could influence the polymerization process and hence the nanoparticles diameter and their monodispersity such as temperature, time, and intensity of irradiation. As for the miniemulsion optimization, we planned the use of an experimental design to optimize the conditions of irradiation. The experimental domain of the irradiation intensity was fixed by the UV oven dimensions and ranged between 2.2 and 3.2 mW/cm^2. The irradiation time was varied between 10 and 30 min and the temperature was set between 30 and 50 °C considering the resistance of the plastic chip where we intend to later transfer this process on. Table 4 summarizes the experimental factors levels.

First, we studied the influence of these factors on the conversion yield of monomers into nanoparticles by thermogravimetric analysis (TGA). All chemicals were first analyzed separately and evaporated till 250 °C. The descending TGA thermal curves for nanoparticles samples (Fig. 5) first exhibited a weight loss of solvents and unreacted reagents till 250 °C as expected, while the weight loss between 280 and 430 °C should be due to the degradation of acrylate nanoparticles. To make sure that TGA signal between 280 and 430 °C was only representative of nanoparticles weight loss, the nanoparticle batch was solubilized in 50/50 (*v*/*v*) ACN/H_2O and a membrane filtration (Amicon ultra-0.5, Merck Millipore) was performed to recover the water soluble monomers and polymers as well as some ACN soluble short-chain polymers. The TGA thermal curves of these filtrates did not exhibit any weight loss between 280 and 430 °C (results not shown). We therefore considered that the percentage of weight loss between 280 and 430 °C is related to nanoparticles. Based on that observation, we found that the proportion of short-chain hexyl acrylate polymers is negligible or at least below TGA detection limits.

Integration of the curve between 280 and 430 °C hence indicated a fair estimation of the mass of nanoparticles found in the different samples, allowing conversion yield calculation. The results are shown in Table 4, with more than 92 % of monomers converted into polymers for the operating conditions corresponding to the high coded levels, the low coded levels, and at the center point. We then expect that a near total

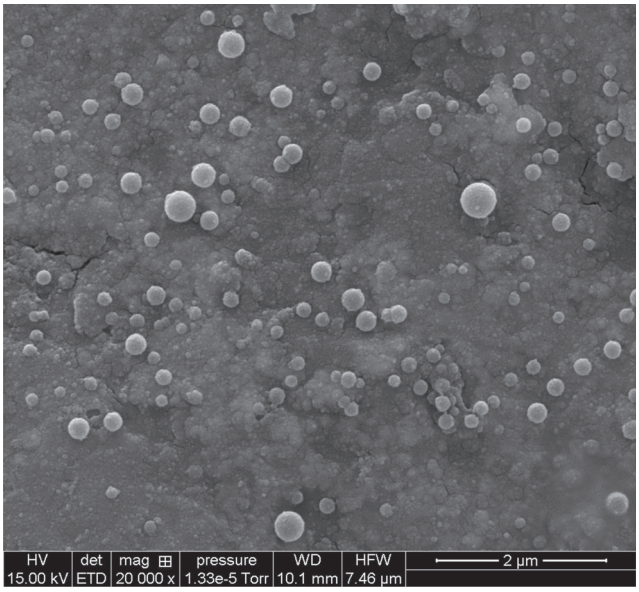

Fig. 6 SEM pictures of optimal nanoparticles

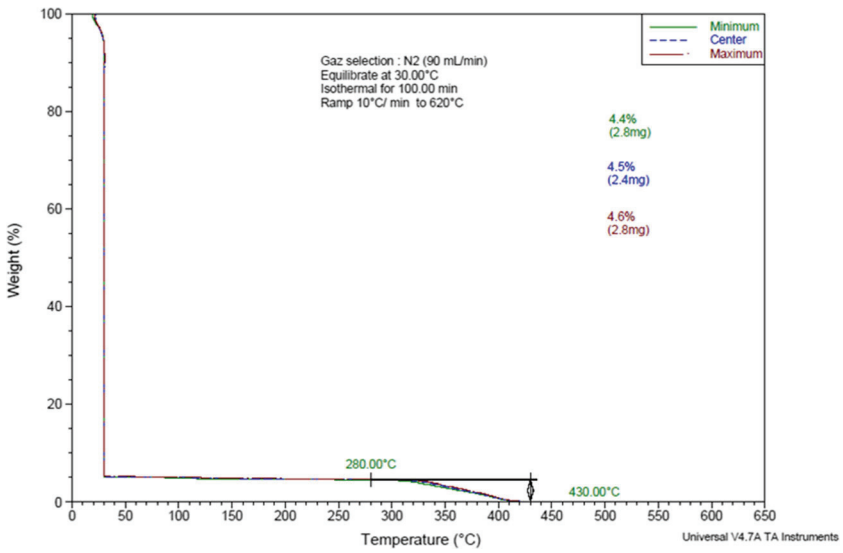

Fig. 5 TGA thermal curves for different conditions of irradiation TGA conditions: isotherm at 30 °C for 100 min then a gradient of 10 °C/min up to 620 °C

conversion yield is achieved for the different irradiation conditions in the design area studied.

Additionally, it was found that these irradiation conditions have no significant influence on the nanoparticle size distribution (Table 4), the mean size being comprised between 166 and 171 nm with a PdI_{DLS} of 0.1.

The reproducibility of such an irradiation process was also proved by the results obtained for the triplicate experiment at the center point (Table 4).

Scanning electronic microscopy (Fig. 6) illustrated that the size of the resulting spherical nanoparticles varied in the range 70–300 nm, as expected from DLS measurements. It also allowed the calculation of polydispersity index PDI=Dw/Dn through the sizing about 100 particles, with a value of 1.4.

Conclusion

This study showed that a hexyl acrylate miniemulsion polymerization can be successfully performed via a photochemical way. The size distribution of the miniemulsion droplets has been investigated by using response surface methodology as regards to the amounts of hexyl acrylate monomer, SDS, and pentadecane. Droplet mean size varied from 150 to 175 nm and led to monodisperse C_6 nanoparticles from 100 to 170 nm after UV irradiation. The correlation between the size monodispersity of droplets and nanoparticles was verified. In response to the specifications, the optimal miniemulsion with minimum surfactant amount was fixed at 0.1 wt.% SDS and 0.5 wt.% AMPS in the aqueous phase mixed to the organic phase constituted of 5 wt.% HA, 0.35 wt.% C_{15} and 2.5 wt.% BME. The observed droplet mean diameter was 175 nm. The resulting monodisperse nanoparticles exhibited a 165-nm mean diameter and were obtained with high monomer conversion yields (>90 %).

This is the first example of a synthesis of hexyl acrylate nanoparticles obtained by a 10-min photopolymerization of a miniemulsion, with a controlled size range between 100 and 200 nm. This new development will allow in the future the implementation of nanoparticles in transparent enclosed vessels such as plastic microchips.

Acknowledgments The authors acknowledge financial support by French National Research Agency (ANR) through Nanochrom project (11-JS09-017-01).

References

1. Claus B et al (2010) Micro- and Nanopatterning of Surfaces Employing Self Assembly of Nanoparticles and Its Application in Biotechnology and Biomedical Engineering. Lithography, Book edited by: Mickael Wang. ISBN: 978-953-307-064-3
2. Asua JM (2002) Miniemulsion polymerization. Prog Polym Sci 27(7):1283–1346
3. Larpent C, Tadros TF (1991) Preparation of microlatex dispersions using oil-in-water microemulsions. Colloid Polym Sci 269(11): 1171–1183
4. Capek I (2001) On the role of oil-soluble initiators in the radical polymerization of micellar systems. Adv Colloid Interf Sci 91(2): 295–334
5. Antonietti M, Landfester K (2002) Polyreactions in miniemulsions. Prog Polym Sci 27(4):689–757
6. Li T et al (2011) Study of emulsion polymerization stabilized by amphiphilic polymer nanoparticles. Colloid Polym Sci 289(14): 1543–1551
7. Qi D, Cao Z, Ziener U (2014) Recent advances in the preparation of hybrid nanoparticles in miniemulsions. Adv Colloid Interf Sci 211: 47–62
8. Kundu P et al (2013) Stability of oil-in-water macro-emulsion with anionic surfactant: Effect of electrolytes and temperature. Chem Eng Sci 102:176–185
9. Jahanzad F et al (2007) Hybrid polymer particles by miniemulsion polymerisation. Colloids Surf A Physicochem Eng Asp 302(1–3): 424–429
10. Babaç C et al (2004) Production of nanoparticles of methyl methacrylate and butyl methacrylate copolymers by microemulsion polymerization in the presence of maleic acid terminated poly(N-acetylethylenimine) macromonomers as cosurfactant. Eur Polym J 40(8):1947–1952
11. Anton N, Vandamme T (2011) Nano-emulsions and micro-emulsions: clarifications of the critical differences. Pharm Res 28(5): 978–985
12. Schork FJ et al (2005) Miniemulsion polymerization. Adv Polym Sci 175:129–255
13. Fontenot K, Schork FJ (1993) Batch polymerization of methyl methacrylate in mini/macroemulsions. J Appl Polym Sci 49(4): 633–655
14. Landfester K (2009) Miniemulsion polymerization and the structure of polymer and hybrid nanoparticles. Angewante Chemie-International Edition, 48(25): p.4488-4507
15. Landfester K et al (1999) Formulation and stability mechanisms of polymerizable miniemulsions. Macromolecules 32(16):5222–5228
16. Landfester K (2000) Recent developments in miniemulsions—formation and stability mechanisms. Macromol Symp 150(1):171–178
17. Hecht L et al (2011) Surfactant concentration regime in miniemulsion polymerization for the formation of MMA nanodroplets by high-pressure homogenization. Langmuir 27: 2279–2285
18. Xu X et al (1999) Microemulsion polymerization of methyl methacrylate initiated with BPO. Eur Polym J 35(11):1975–1978
19. Chen J, Zhang Z (2007) Radiation-induced polymerization of methyl methacrylate in microemulsion with high monomer content. Eur Polym J 43(4):1188–1194
20. Capek I (2000) Photopolymerization of alkyl(meth)acrylates and polyoxyethylene macromonomers in fine emulsions. Eur Polym J 36(2):255–263
21. Capek I, Fouassier JP (1997) Kinetics of photopolymerization of butyl acrylate in direct micelles. Eur Polym J 33(2):173–181
22. Peinado C et al (2006) Photoinitiated polymerization in bicontinuous microemulsions: fluorescence monitoring. J Polym Sci A Polym Chem 44(18):5291–5303
23. David G et al (2002) Microemulsion photopolymerization of methacrylates stabilized with sodium dodecyl sulfate and poly(N-acetylethylenimine) macromonomers. Eur Polym J 38(1):73–78
24. Dou J et al (2010) Magnetic nanoparticles encapsulated latexes prepared with photo-initiated miniemulsion polymerization. Colloid Polym Sci 288(18):1751–1756

25. Roose P et al (2014) UV-nanoparticles: photopolymerized polymer colloids from aqueous dispersions of acrylated oligomers. Prog Org Coat 77(10):1569–1576
26. Chemtob A et al (2010) Photoinduced miniemulsion polymerization. Colloid Polym Sci 288(5):579–587
27. Hoijemberg PA, Chemtob A, Croutxé-Barghorn C (2011) Two routes towards photoinitiator-free photopolymerization in miniemulsion: acrylate self-initiation and photoactive surfactant. Macromol Chem Phys 212(22):2417–2422
28. Wang Y, Yang W (2004) MMA/DVB emulsion surface graft polymerization initiated by UV light. Langmuir 20(15):6225–6231
29. Wang Y et al (2005) Directly fabricating monolayer nanoparticles on a polymer surface by UV-induced MMA/DVB microemulsion graft polymerizationmacromolecular rapid communications 26(2). Macromol Rapid Commun 26(2):87–92
30. Ladner Y et al (2012) New "one-step" method for the simultaneous synthesis and anchoring of organic monolith inside COC microchip channels. Lab Chip 12(9):1680–1685
31. Ladner Y, Crétier G, Faure K (2012) Electrochromatography on acrylate-based monolith in cyclic olefin copolymer microchip: a cost-effective and easy-to-use technology. Electrophoresis 33(19-20):3087–3094